

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Preventivní medicína



MUDr. Adéla Roubíčková

**Dlouhodobá odolnost okrajového
uzávěru kompozitních výplní v prostředí
se zvýšeným korozním rizikem**

**Long-term durability of composite
restoration margins in environments
with increased corrosion risk**

Disertační práce

Školitel: RNDr. Pavel Bradna, CSc.

Praha, 2013

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 25.7.2013

MUDr. Adéla Roubíčková

Identifikační záznam

ROUBÍČKOVÁ, Adéla. *Dlouhodobá odolnost okrajového uzávěru kompozitních výplní v prostředí se zvýšeným korozním rizikem. [Long-term durability of composite restoration margins in environments with increased corrosion risk]*. Praha, 2013. Disertační práce (Ph.d.). Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav klinické a experimentální stomatologie. Školitel Bradna, Pavel, RNDr. CSc.

Poděkování

Jsem velmi zavázána přednostce Ústavu klinické a experimentální stomatologie 1. LF UK a VFN v Praze, **prof. MUDr. Janě Duškové, DrSc., MBA**, za vytvoření optimálních pracovních podmínek k mé disertační práci a za všestrannou podporu při jejím zpracování.

Moje velké díky patří mému školiteli **RNDr. Pavlu Bradnovi, CSc.**, za pomoc při výběru tématu disertační práce, soustavnou podporu a pomoc v průběhu celého postgraduálního studia. Chtěla bych mu poděkovat též za ojedinělý lidský přístup, který mi byl velkou inspirací.

Dále bych chtěla poděkovat **Ing. Vlastě Fialové, CSc. a prof. MUDr. Zdeňku Broukalovi, CSc.**, za podnětné návrhy, připomínky a korektury textů, které v průběhu mé práce vznikaly.

Závěrem bych ráda poděkovala celé své rodině, zejména manželovi, svým dvěma dcerám i jejich prarodičům, jejichž podpory a pomoci si velmi vážím.

Adéla Roubíčková

Obsah

1. Úvod	6
1.1 Tvrdé zubní tkáně a jejich složení	7
1.1.1 Sklovina	7
1.1.2 Dentin	9
1.2 Kompozitní materiály	9
1.2.1 Složení kompozitních materiálů	9
1.2.2 Iniciátory a aktivátory polymerace	11
1.2.3 Vlastnosti kompozitních materiálů	12
1.3 Adhezivní systémy	13
1.3.1 Typy adhezivních systémů	13
1.3.1.1 Etch-and-rinse adhezivní systémy (dále jen ER adheziva)	14
1.3.1.2 Self-etch adhezivní systémy (dále jen SE adheziva)	15
1.4 Odolnost adhezivního spoje	17
1.4.1 Degradace adhezivního spoje ve vodě	18
1.4.2 Odolnost adhezivního spoje v různých prostředích	22
1.4.2.1 Vliv peroxidových bělicích přípravků na odolnost adhezivního spoje	23
1.5 Metody hodnocení odolnosti adhezivního spoje	26
1.5.1 Měření pevnosti vazby	26
1.5.2 Metody hodnocení okrajového uzávěru	27
1.5.2.1 Penetrační metody sledování mikronetěsnosti	27
1.5.2.2 Metody založené na hodnocení velikosti okrajové spáry	29
1.5.2.3 Stručné zhodnocení metod	29
2. Hypotézy a cíle práce	31
2.1 Souhrn dosavadních poznatků o odolnosti a degradaci adhezivního spoje v různých prostředích	31
2.2 Pracovní hypotézy	32
2.3 Cíle práce	33
3. Materiály a metodika	35
3.1 Výběr materiálů a zkušebních prostředí	35
3.1.1 Materiály	35
3.1.1.1 Adhezivní systémy	35
3.1.1.2 Výplňový materiál	37
3.1.2 Příprava zkušebních vzorků	37
3.1.3 Zkušební prostředí	39
3.1.3.1 Peroxidový bělicí gel	39
3.1.3.2 Ústní voda s chlorhexidinem	40
3.1.3.3 Ústní voda s fluoridy	40
3.1.3.4 Kontrolní skupiny exponované v destilované vodě	41
3.2 Hodnocení mikronetěsnosti	41
3.3 Statistické hodnocení	43
3.4 SEM analýza povrchů	44

4.	<i>Výsledky</i>	46
4.1	Hodnocení mikronetěsnosti	46
4.2	Vliv prostředí na mikronetěsnost	47
4.2.1	Destilovaná voda	47
4.2.2	Peroxidový bělicí gel.....	50
4.2.3	Ústní voda s chlorhexidinem (Corsodyl).....	53
4.2.4	Ústní voda s fluoridy (Elmex).....	57
4.3	SEM analýza	61
4.3.1	Hodnocení leptacích schopností adheziv	62
4.3.2	Penetrační vlastnosti adheziv.....	62
4.3.3	Morfologie debondovaných povrchů.....	65
5.	<i>Diskuse</i>	69
6.	<i>Závěry</i>	79
7.	<i>Literatura</i>	82
8.	<i>Souhrn</i>	94
9.	<i>Summary</i>	96
10.	<i>Seznam publikací a prezentací doktoranda</i>	98
10.1	Odborné publikace k tématu disertační práce	98
10.2	Ostatní publikace široce související s tématem	98
10.3	Prezentace na odborných kongresech	99
11.	<i>Seznam použitých zkratk</i>	100

1. Úvod

V posledních letech došlo v oblasti zachovné stomatologie k výraznému rozvoji adhezivních technologií, umožňujících estetickou rekonstrukci anatomického a funkčního tvaru kazem poškozených zubů s omezením ireverzibilních ztrát tvrdých zubních tkání. Dřívější princip extenze pro prevenci byl díky adhezivním technologiím nahrazen minimálně intervenčními postupy, při nichž jsou preparací odstraňovány pouze infikované tvrdé zubní tkáně. Důraz na minimalizaci ztrát zdravých zubních tkání je v době prodlužujícího se věku, aktivního životního stylu, avšak i výraznějšího opotřebení tvrdých zubních tkání nevhodnými dietními návyky, významný zejména pro svůj preventivní akcent. Adhezivní technologie jsou mimořádně přitažlivé i pro estetickou korekci chrupu, kdy lze minimálně intervenčními postupy docílit vynikajících výsledků.

Mezi nejčastěji používané materiály při realizaci adhezivních technologií patří kompozitní materiály. Zejména pro své vynikající estetické vlastnosti, akceptovatelnou biologickou snášenlivost a odolnost v prostředí ústní dutiny se řadí k nejpoužívanějším materiálům v zachovné stomatologii. Kromě možnosti nastavení individuálního barevného odstínu a translucence, snadné zpracovatelnosti, nízké sorpce vody, tepelné roztažnosti a elasticity blízké tvrdým zubním tkáním mají však kompozitní materiály i některé negativní vlastnosti. Především nekompatibilita s hydrofilními zubními tkáněmi, zejména s dentinem, značná viskozita, která omezuje průnik kompozitního materiálu do struktury zubních tkání a polymerační smrštění vedou k riziku vzniku mikrospáry mezi kompozitním materiálem a zubními tkáněmi. V ní se mohou nejen zachycovat pigmenty, které zhoršují estetický výsledek rekonstrukce, ale mikrospára umožňuje i průnik mikroorganismů podél rekonstrukce k nechráněným zubním tkáním, jehož důsledkem je vznik sekundárního kazu. Pro zajištění hermetického spojení mezi zubními tkáněmi a kompozitními materiály je proto nutné používat adhezivní systémy, které mají za úkol vytvořit pevné a dlouhodobě stabilní propojení těchto odlišných materiálů.

Adhezivní systémy prošly rozsáhlým vývojem. Zprvu bylo jejich použití omezeno pouze na sklovinu, jejíž povrch byl upraven leptáním kyselinou fosforečnou a aplikaci jednoduchých adhezivních systémů. Nové poznatky o struktuře preparovaného dentinu, objasnění role hybridní vrstvy při tvorbě vazby mezi adhezivním systémem a dentinem, a zejména možnost leptání dentinu kyselinou fosforečnou umožnily zavedení univerzálních sklovinných a

dentinových adhezivních systémů. I přes tyto výsledky je zhotovení kompozitní rekonstrukce stále náročné. Zejména složitost tvorby adhezního spojení, spočívající často v několika ne zcela přesně definovaných a reprodukovatelných krocích, má za následek náchylnost adhezního spoje k selhání s dopadem na životnost rekonstrukce.

Kromě materiálově zaměřeného výzkumu lze v současné záchovné stomatologii pozorovat několik dalších trendů. Stále se zvyšující tlak na dokonalou estetiku chrupu vede k aplikaci bělicích prostředků s obsahem velmi reaktivních peroxidů. Odlišným trendem je prevence zubního kazu, vznikajícího působením kyselin produkovaných fermentací sacharidů bakteriemi, které jsou přítomny v ústní dutině. Poznání bakteriálního původu zubního kazu a role kyselin v jeho rozvoji se promítla i do preventivních opatření, zaměřených především na aplikaci fluoridových přípravků, které zvyšují odolnost tvrdých zubních tkání, a to i proti eroznímu poškození, způsobenému konzumací potravin bohatých na kyseliny. Mikrobiální původ zubního kazu, onemocnění parodontu a jiná onemocnění ústní dutiny vedou k používání antibakteriálních přípravků, snižujících populaci bakterií. Častá aplikace těchto přípravků však vyvolává otázky, týkající se jejich možného degradačního vlivu na kompozitní materiály, ale i a na adhezní spoj mezi kompozitními materiály a tvrdými zubními tkáněmi. Cílem předkládané disertační práce bylo hledání odpovědí na některé z položených otázek, neboť interakce těchto přípravků s adhezním spojem může významným způsobem ovlivňovat životnost kompozitních rekonstrukcí.

1.1 Tvrdé zubní tkáně a jejich složení

1.1.1 Sklovina

Chemické složení skloviny

Sklovina, jejíž tvrdost podle metodiky Knoop dosahuje 250-440 jednotek (Meredith, Sherriff et al. 1996), je nejtvrdší tkání lidského těla. Její složení je značně individuální (Weatherell, Robinson et al. 1974). Anorganické složky tvoří z 93-98 hmotn. % hydroxyapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ s příměsí zejména hořčíku a uhličitanů (Leventouri, Antonakos et al. 2009), s nestechiometrickým molárním poměrem vápníku a fosforu $1,48 \pm 0,09$ (Lu, Campbell et al. 2000). Mezi další základní prvky skloviny patří hořčík a sodík. Kromě nich bylo ve sklovině

nalezeno přes 40 dalších prvků (Derise and Ritchey 1974). V závislosti na látkách přítomných v nejbližším okolí dochází ve sklovině k tvorbě různě substituovaných hydroxyapatitů, které se liší i svou stabilitou. V důsledku substituce hydroxylových skupin v jeho struktuře fluoridovými ionty vzniká fluoridovaný hydroxyapatit - fluorohydroxyapatit, příp. fluoroapatit, který je v kyselém prostředí nejstabilnější. Mezi méně odolné patří hydroxyapatity, v jejichž krystalové mřížce je fosfátový ion nahrazen uhličitanovým, vápník nahrazen hořčíkem. Nejvyšší zastoupení těchto substituentů je v povrchových vrstvách, směrem k dentino-sklovinné hranici se jejich obsah výrazně snižuje (Weatherell, Robinson et al. 1974). Druhou hlavní složkou skloviny je voda, která tvoří 1,5-4 % její hmotnosti. Nachází se jednak ve formě tzv. hydratačního obalu, vázaná na krystaly hydroxyapatitu, jednak vázaná na organickou hmotu. Voda vázaná na organickou složku skloviny se snáze odpařuje a tím se v závislosti na okolním prostředí mění i zastoupení vody ve sklovině.

Zbylá část skloviny, přibližně 1 hmotn. %, je tvořena organickými sloučeninami, zejména matrixovými proteiny, lipidy a sacharidy. Tato organická matrix je formována v průběhu amelogeneze. Podílí se na ní proteiny amelogenin, ameloblastin, enamelin či tuftelin. V poslední době se hovoří i o důležité roli dentinového sialofosfoproteinu, dříve specificky uváděného pouze pro dentin. Svou roli při vývoji skloviny hrají i některé proteinázy. Ve sklovině byla detekována matrixová metaloproteináza MMP-20 a serinová proteáza kallikrein. Všechny typy proteinů po dokončení maturace skloviny podléhají ve větší či menší míře degradaci.

Histologická struktura skloviny

Základní stavební strukturu skloviny tvoří šestihranné hydroxyapatitové nanokrystaly, uspořádané do sklovinných prizmat. Mezi jednotlivými prizmaty se nachází interprizmatická substance s odlišnou orientací hydroxyapatitových krystalů. Tloušťka nanokrystalů hydroxyapatitu je přibližně 25-39 nm, šířka 45-90 nm a jejich délka až 160 nm. V okolí jednotlivých nanokrystalů je hydratovaná proteinová matrix enamelin. Na povrchu skloviny se nachází specifická tzv. aprizmatická sklovina bez typického prizmatického uspořádání, vznikající v poslední fázi amelogeneze. Bezprostředně po erupci její tloušťka dosahuje až 100 μm u dočasných a 70 μm u stálých zubů. Tato vrstva obsahuje více fluoridových iontů a je tudíž odolnější vůči působení kyselin, než sklovina prizmatická.

1.1.2 Dentin

Chemické složení dentinu

Dentin je na rozdíl od skloviny mineralizován méně, má nižší tvrdost, přibližně 40-50 jednotek Knoop (Meredith, Sherriff et al. 1996) a i menší mechanickou odolnost. Na rozdíl od skloviny je živou tkání, s menším podílem minerálních složek, přibližně 70 hmotn. %, a větším podílem složky organické, přibližně 20 hmotn. %. Zbylých přibližně 10 hmotn. % tvoří voda. Anorganickou složku tvoří hydroxyapatit, organizovaný do malých destičkovitých krystalů. Organická složka je tvořena kolagenem typu I, III a malým množstvím lipidů a nekolagenních proteinů, které vyplňují prostor mezi kolagenními vlákny a jsou soustředěny na periferii dentinových tubulů. Patří sem zejména fosfoprotein fosforin, sialoprotein, matrix protein osteonektin, osteokalcin, osteopontin, proteoglykany, některé sérové a kyselinové proteiny a růstové faktory (Goldberg, Kulkarni et al. 2011, Bertassoni, Stankoska et al. 2012).

Histologická struktura dentinu

Na řezu dentinu lze pozorovat dentinové tubuly s výběžky odontoblastů, vycházejícími z pulpy. Průběh tubulů není zcela rovný, v korunkové části jsou esovitě prohnuté, v kořenové části jsou téměř přímočaré. Průměr tubulů a jejich počet klesá se vzdáleností od dřeňové dutiny. Vnitřní strana tubulů je pokryta silněji mineralizovaným peritubulárním dentinem s vyšším obsahem hydroxyapatitu. Prostor mezi tubuly je vyplněn méně mineralizovaným intertubulárním dentinem, obsahujícím větší množství kolagenních vláken, než dentin peritubulární (Bertassoni, Stankoska et al. 2012). Dalšími typy dentinu jsou nemineralizovaný predentin, tvořený organickou matrix, nacházející se v bezprostřední blízkosti odontoblastů, dále interdentin na přechodu mezi predentinem a mineralizovaným dentinem a interglobulární dentin, vyskytující se na povrchu dentinu (Nedorost 2009).

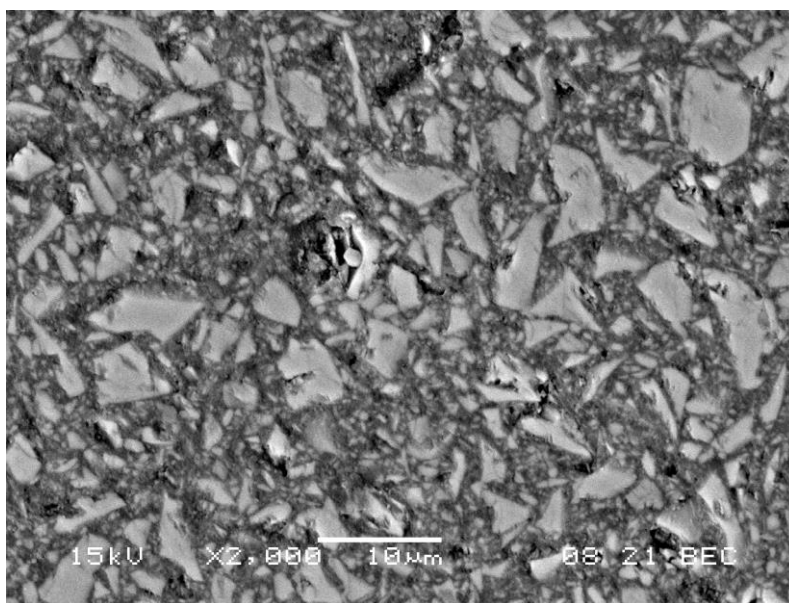
1.2 Kompozitní materiály

1.2.1 Složení kompozitních materiálů

Pojmem kompozitní materiály (kompozity) se ve stomatologii označují tvárné, pastovité materiály, tvořené směsí monomerů a dispergovaného plniva. Kompozitní materiály ve

fyzikálním smyslu, tedy pevné a odolné hmoty sestávající z polymerní matrix a plniva, vznikají teprve po jejich polymeraci. Základem jejich matrix jsou nejčastěji dvoufunkční dimetakryláty nebo diakryláty, polymerované radikálovým mechanismem. Směs monomerů obsahuje složky iniciačního systému, který je tvořen iniciátory a aktivátory polymerace a inhibitory samovolné polymerace. Matrix kompozitního materiálu udržuje požadovaný tvar kompozitu, fixuje částice plniva a přenáší na ně mechanická zatížení, působící na kompozit. Významnou funkcí je i ochrana plniva před škodlivými vnějšími vlivy, především vodou.

K nejčastěji používaným monomerům v dentálních kompozitních materiálech patří bisfenol A diglycidylmetakrylát (Bis-GMA), uretandimetakrylát (UDMA) a reaktivní nízkoviskózní trietylenglykoldimetakrylát (TEGDMA). Tyto monomery obsahují dvojně vazby, které umožňují jejich radikálovou polymeraci. Jako plniva se v kompozitech používají povrchově upravené částice skla s obsahem baria, stroncia, či zirkonia, organická plniva nebo keramické částice se střední velikostí přibližně od 0,4-10 μm (obr. 1).



Obr. 1 Struktura mikrohybridního kompozitu Charisma, skenovací elektronový mikroskop, zvětšeno 2000 x

Další minerální složkou je pyrogenní oxid křemičitý (SiO_2), jehož nanočástice o velikosti přibližně 50-100 nm vytvářejí slabé fyzikální sítě, čímž zabraňují sedimentaci plniva v průběhu skladování kompozitního materiálu a zajišťují jeho kondenzovatelnost a tixotropii. Pyrogenní SiO_2 je obvykle přítomen jen v nízkých koncentracích okolo 1-3 hmotn. %. Nejrozšířenější mikrohybridní kompozity obsahují oba typy plniv, tedy skleněné plnivo i

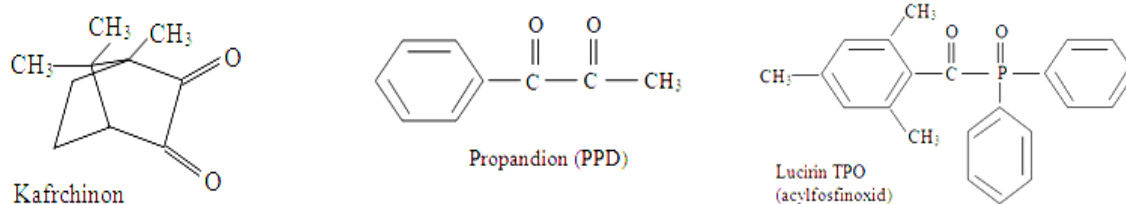
pyrogenní SiO₂. V poslední době zaváděné nanohybridní kompozitní materiály mají kromě standardních částic skla o střední velikosti řádu mikrometrů i vyšší koncentrace izolovaných nanočástic a případně i aglomeráty nanočástic rozměrů mikrometrů.

1.2.2 Iniciátory a aktivátory polymerace

Významnou složku kompozitních materiálů představuje iniciační systém. Pro světlem polymerující kompozity se obvykle používá směs kafrechinu a aminu, ve které kafrechin působí jako senzibilizátor. Systém funguje tak, že absorpcí světelného kvanta je kafrechin na dobu několika milisekund aktivován do silně reaktivního stavu, kdy je schopen odtrhnout jeden elektron z molekuly aminu za vzniku dvou radikálů - kafrechinového a aminového. Aminový radikál je podstatně reaktivnější a zahajuje vlastní polymeraci (Jakubiak, Allonas et al. 2003).

Tato okolnost se může významně projevit i u některých adhezivních systémů, které polymerují radikálovým mechanismem. U „self-etching“ adheziv může přítomnost kyselých složek deaktivovat aminový aktivátor a tím snižovat účinnost polymerace. K tomu může docházet i na rozhraní adhezivního systému a kompozitního materiálu, kdy difuzí kyselých složek adheziva do kompozitního materiálu je deaktivován aminový radikál s následným snížením stupně konverze kompozitu a adheziva. Výsledkem může být snížená odolnost takového rozhraní.

Tyto nevýhody kafrechinového systému vedly výrobce světlem tuhoucích materiálů k použití jiných typů fotoiniciátorů, mezi něž patří 1-fenyl-1,2-propandion (PPD) a skupina acylfosfinoxidů, např. Lucirin TPO (obr. 2). Tyto fotoiniciátory jsou většinou bezbarvé, v případě PPD a acylfosfinoxidů nevyžadují přítomnost aminu. Deriváty acylfosfinoxidů lze použít i pro polymeraci vodných „self-etch“ adheziv (Stansbury 2000).



Obr. 2 Strukturální vzorce fotoinicátorů: kafirchinon, propandion a acylfosfinoxid

1.2.3 Vlastnosti kompozitních materiálů

Objemové smrštění je základní vlastností téměř všech materiálů tuhneoucích polymerační reakcí. Jeho příčinou je postupné spojování jednotlivých molekul monomerů do polymerních řetězců, čímž se snižuje jejich pohyblivost a tedy i objem systému. Přestože ve snaze o snížení polymeračního smrštění jsou vyvíjeny nové, málo kontrahující monomery (Moszner and Hirt 2012), je základním postupem jeho omezení co nejvyšší obsah plniva v kompozitním materiálu. V řadě současných kompozitních materiálů je při obsahu plniva 70 - 75 hmotn. % polymerační smrštění sníženo na 2,0-4,8 obj. % (Kleverlaan and Feilzer 2005).

Nejnovější typy výplňových kompozitních materiálů mají polymerační smrštění často i pod úrovní 2,0 obj. % a v případě kompozitů na bázi epoxidů se blíží 1,0 obj. % (Weinmann, Thalacker et al. 2005). Polymerační smrštění spolu s modulem elasticity kompozitního materiálu rozhoduje o polymeračním pnutí, které působí na rozhraní kavity a k ní adhezujícího kompozitního materiálu (Davidson, de Gee et al. 1984, Marchesi, Breschi et al. 2010). Ačkoliv se předpokládá, že v průběhu polymerace je tokem kompozitního materiálu do bodu gelace polymerační pnutí snižováno (Feilzer, De Gee et al. 1987) (Stansbury, Trujillo-Lemon et al. 2005), tento relaxační efekt není u světlem polymerovaných kompozitních materiálů podstatný.

Polymerační pnutí závisí na objemu kavity a zejména na jejím tvaru. V odborné literatuře se k odhadu míry tohoto pnutí uvádí poměr počtu vázaných ku počtu volných povrchů výplně, označovaný jako C-faktor (Feilzer, De Gee et al. 1987). Čím vyšší je C-faktor, tím větší

polymerační pnutí působí na rozhraní mezi tvrdými zubními tkáněmi a kompozitním materiálem.

1.3 Adhezivní systémy

Adheze je fyzikálně definována jako síla spojující dva odlišné materiály v těsném kontaktu (Anusavice, dos Santos et al. 2003). Dentální adhezivní systémy musí mít tudíž schopnost vazby k tvrdým zubním tkáním a současně se chemicky vázat s monomery kompozitních materiálů. Oblast zahrnující tato dvě odlišná rozhraní a vrstvu adheziva vytváří adhezivní spoj.

Zatímco vazba mezi adhezivním systémem a kompozitním materiálem je díky vzájemné difuzi a kopolymeraci monomerů inhibované vrstvy adheziva a monomerů kompozitního materiálu dostatečná, zásadním problémem dlouhodobé odolnosti adhezivního spoje je stabilita vazby mezi adhezivem a tvrdými zubními tkáněmi, zejména dentinem.

Předpokládá se, že tato vazba vzniká dvěma mechanismy (Roulet and Degrange 2000):

1. Zatečením složek adheziva do povrchových nerovností preparovaných zubních tkání a polymerací v nich vzniká mikromechanická vazba („micromechanical interlocking“). Nepravidelnosti povrchu, jeho větší drsnost či porozita jsou spojeny s větší kontaktní plochou, výraznějším příspěvkem kapilárních sil, které mohou usnadňovat průnik adheziva do struktury zubních tkání a tím zvyšovat tuto vazbu.
2. Fyzikálními či chemickými interakcemi mezi povrchovými molekulami složek tvrdých zubních tkání a složkami adhezivních systémů. Fyzikálními interakcemi jsou především přitažlivé elektrostatické síly, slabé Van der Waalsovy a dipólové interakce, či silnější vazba vodíkovými můstky. Chemická interakce může zahrnovat kovalentní či iontovou vazbu, prokázanou pouze u několika typů monomerů.

1.3.1 Typy adhezivních systémů

Dlouhodobý výzkum ukázal, že na adhezi mezi tvrdými zubními tkáněmi a adhezivem se podílí především mikromechanická vazba. Postupy vedoucí k jejímu vytvoření obecně zahrnují tři kroky: leptání, priming a bonding. Cílem leptání preparovaného povrchu skloviny

a dentinu kyselinou fosforečnou nebo adukty kyseliny fosforečné s akryláty či metakryláty, nebo leptání organickými kyselinami s metakrylátovými či akrylátovými skupinami je odstranění nebo částečná demineralizace málo soudržné vrstvy preparační drtě („smear layer“), tvořené zbytky prizmat, krystalků hydroxyapatitu a bílkovin preparovaných tkání, sliny a bakterií (Eick, Wilko et al. 1970). „Smear layer“ pokrývá v tloušťce 0,5-3,0 μm preparovaný povrch (Oliveira, Marshall et al. 2004) a zabraňuje průniku vazebných monomerů do struktury skloviny a dentinu.

Selektivním rozpouštěním hydroxyapatitu podpovrchové intaktní skloviny a dentinu se na jejich povrchu vytváří mikroretenční reliéf a zvyšuje se jejich povrchová energie. Následující priming demineralizovaného povrchu amfifilními monomery, které smáčejí hydrofilní povrchy, vytvoří podmínky pro nanesení třetí složky adhezivních systémů, tj. vlastního bondu, obsahujícího hydrofobní monomery. Vývoj prakticky použitelných adhezivních systémů vedl ke dvěma řadám adhezivních systémů: „total-etch“ označovaných nově „etch-and-rinse“ a „self-etch“ adheziv.

1.3.1.1 Etch-and-rinse adhezivní systémy (dále jen ER adheziva)

U těchto systémů se odstranění smear layer a demineralizace povrchů skloviny a dentinu provádí pomocí leptacího gelu obvykle 35% kyseliny fosforečné. U skloviny dochází k selektivnímu rozpouštění různě orientovaných nanokrystalů hydroxyapatitu do hloubky okolo 10-20 μm a vytvoření mikroporézní struktury skloviny (Obr. 1). Zatečením monomerů adhezivního systému do struktury mikroporozit a jejich polymerací vzniká interdifuzní zóna na rozhraní skloviny a adheziva, nebo též hybridní vrstva, tvořená pryskyřičnou matrix a částmi sklovinných prizmat (Gwinnett and Matsui 1967).

V případě dentinu jsou povrchové změny po leptání kyselinou komplikovanější. Leptáním povrchu dentinu dochází k úplnému odstranění „smear layer“ z povrchu i z ústí dentinových tubulů. Rozpuštěním hydroxyapatitu na povrchu intaktního dentinu dochází k odhalení kolagenních vláken intertubulárního a peritubulárního dentinu a k vytvoření vrstvy kolagenních vláken o tloušťce několika mikrometrů na povrchu dentinu (Nakabayashi, Kojima et al. 1982).

Kritickým krokem ER adheziv je sušení demineralizovaného povrchu dentinu, při kterém může docházet ke kolapsu kolagenních vláken v důsledku jejich vzájemného přibližování při odpařování vody. Silná vrstva zkolabovaných kolagenních vláken vytváří na povrchu dentinu

bariéru, zabraňující průniku primeru, dokonalé infiltraci a impregnaci kolagenních vláken monomery bondu a jeho průniku do struktury dentinových tubulů (Van Meerbeek, Inokoshi et al. 1992, Sano, Shono et al. 1994) a vzniku homogenní hybridní vrstvy (Nakabayashi, Kojima et al. 1982), která zásadním způsobem přispívá k adhezi těchto systémů (Pashley, Ciucchi et al. 1995). Oblasti kolagenních vláken nechráněných monomery adhezivního systému jsou častým místem průniku vody (Sano, Shono et al. 1994) a bakteriálního útoku. Primery obsahují především hydrofilní monomery, nejčastěji 2-hydroxyethylmetakrylát (HEMA) či jiné monomery s funkčními skupinami, rozpuštěné v etanolu či acetonu (Van Landuyt, Snauwaert et al. 2007). Třetí složka systému - bondy obsahují hydrofobní monomery typu Bis-GMA (Van Landuyt, Snauwaert et al. 2007).

Složitost tohoto tříkrokového postupu vedla ke zjednodušení pracovního postupu spojením primingu a bondingu do jednoho kroku (2-kroková ER adheziva) (tab. 1). Problém nedokonale chráněných kolagenních vláken, která jsou místem prvotní degradace adhezivního spoje, nebyl uspokojivě vyřešen ani bondováním na vlhký povrch dentinu adhezivy s rozpouštědly acetonového typu, umožňující odpaření vody (Tay, Gwinnett et al. 1996).

Tab.1. Klasifikace „etch-and-rinse“ adhezivních systémů podle počtu aplikačních kroků

ER adheziva -počet kroků	Pracovní postup		
3-krokové	leptání	priming	bonding
2-krokové	leptání	priming + bonding	

1.3.1.2 Self-etch adhezivní systémy (dále jen SE adheziva)

U SE adheziv je leptání spojeno s primingem do jednoho kroku. Toho je dosaženo použitím aduktů akrylátových monomerů a kyseliny fosforečné nebo použitím organických kyselin s polymerizovatelnou dvojnou vazbou. Aplikace těchto systémů teoreticky zaručuje, že hloubka demineralizace zubních tkání odpovídá i hloubce průniku akrylátových monomerů, což by mělo zajistit dokonalou impregnaci demineralizovaných povrchů skloviny a zejména dentinu.

Výhodou je nejen odstranění rizika kolapsu kolagenních vláken, nižší pooperační citlivost, ale i menší citlivost těchto systémů k dodržení pracovního postupu (Van Meerbeek, Yoshihara et al. 2011). Ani SE adheziva však nejsou bez problémů. Protože často obsahují hydrofilní

monomery, může voda pronikat do hybridní vrstvy a vrstvy adheziva (Tay, Frankenberger et al. 2004, Carvalho, Chersoni et al. 2005).

Menší kyselost některých typů SE primerů a jejich náchylnost k hydrolyze snižuje rozsah demineralizace „smear layer“ a podpovrchových tkání zejména skloviny, což zhoršuje její impregnaci složkami adheziv (Tay and Pashley 2001, Carvalho, Chersoni et al. 2005, Mine, De Munck et al. 2010). V důsledku hydrolyzy kyselých primerů na bázi esterů kyseliny fosforečné a hydrolyzy metakrylátů v kyselém prostředí (Salz, Zimmermann et al. 2005) dochází ke změně vlastností těchto adheziv v průběhu skladování a tím k podstatnému poklesu pevnosti jejich adheze k zubním tkáním (Sadr, Ghasemi et al. 2007). Stejně tak vyšší obsah vody v těchto systémech, nezbytný pro disociaci kyselých skupin, někdy vede k nižší konverzi monomerů v hybridní vrstvě (Wang and Spencer 2005) a negativně ovlivňuje pevnost vazby.

Četné studie ukázaly, že i u těchto systémů, podobně jako u ER adheziv, je nutné pečlivě dodržovat pracovní postup a úspěšnost ošetření závisí i na individuálních znalostech a schopnostech operátora (Luca, Daniele Scaminaci et al. 2008)(Sano, Kanemura et al. 1998, Unlu, Gunal et al. 2012).

Klasifikace SE adheziv

„Self-etch“ adhezivní systémy lze rozdělit obdobně jako ER adheziva podle počtu aplikačních kroků (tab. 2), a dále podle hodnoty pH, které má zásadní vliv na jejich demineralizační a adhezivní vlastnosti.

Tab. 2 Klasifikace „self-etch“ adhezivních systémů podle počtu aplikačních kroků.

SE adheziva – počet kroků	Pracovní postup	
2-krokové (dvoulahvičkové)	priming	bonding
1-krokové (dvoulahvičkové)	smíchání primeru a bondu	priming + bonding
1-krokové „all-in-one“ (jednolahvičkové)	priming + bonding	

Podle hodnoty pH a hloubky demineralizace dentinu lze SE adhezivní systémy rozdělit na (Van Meerbeek, De Munck et al. 2003, De Munck, Vargas et al. 2005, Koshiro, Sidhu et al. 2006, Sarr, Kane et al. 2010, Van Meerbeek, Yoshihara et al. 2011):

1. Velmi kyselá „self-etch“ adheziva („strong SE adhesives“), jejichž pH je menší než 1. Jejich aplikací je „smear layer“ na povrchu dentinu i skloviny, včetně „smear layer“ v ústí dentinových tubulů („smear plugs“), kompletně rozpuštěna, podobně jako při demineralizaci kyselinou fosforečnou. Rovněž hloubkou demineralizace 3-4 μm jsou blízké demineralizačním vlastnostem ER adheziv.
2. Středně kyselá „self-etch“ adheziva („intermediately strong SE adhesives“) s hodnotou pH okolo 1,5 a tloušťkou hybridní vrstvy 1-2 μm . Jejich významnou schopností, nezbytnou pro dosažení dobrých adhezních vlastností, je zachování části hydroxyapatitu v hybridní vrstvě.
3. Mírně kyselá „self-etch“ adheziva („mild SE adhesives“), jejichž pH dosahuje hodnot přibližně 2. Tyto systémy jsou charakteristické tím, že část „smear layer“ na povrchu i v ústí dentinových tubulů zůstává zachována a inkorporována do hybridní vrstvy tloušťky 0,5-1 μm .
4. Velmi mírně kyselá „self-etch“ adheziva („ultra-mild SE adhesives“), jejichž pH často převyšuje hodnotu 2,5. Tyto systémy nemají schopnost odstranit smear layer. Interagují se „smear layer“ na dentinu do hloubky pouze několika stovek nanometrů. Jelikož jejich interakce s intaktním dentinem i se sklovinou je velmi omezená, záleží účinnost adheze velmi silně na způsobu preparace obou tkání (Mine, De Munck et al. 2010, Van Meerbeek, Yoshihara et al. 2011). Obecně platí, že čím hrubší je preparační diamantovaný vrtáček, tím silnější a kompaktnější je „smear layer“ (Tani and Finger 2002, Sattabanasuk, Vachiramon et al. 2007) a tím slabší je adhezní vazba.

1.4 Odolnost adhezního spoje

Adhezní spoj v ústní dutině je trvale zatížen cyklickým namáháním žvýkacími silami, polymeračním pnutím a silami, které vznikají v důsledku rozdílné tepelné roztažnosti zubních tkání a kompozitních materiálů. Kromě mechanického zatížení působí na adhezní spoj i řada chemických látek, zejména voda, složky potravin a jejich fermentační produkty, enzymy, prostředky ústní hygieny či kosmetické prostředky, které mohou svým účinkem iniciovat a urychlovat jeho degradaci. V případě selhání adhezního spoje dochází ke vzniku

mikronetěsnosti, která se zprvu projevuje jako klinicky nedetekovatelná spára, s následným vznikem pozorovatelné okrajové spáry.

Klinicky lze zaznamenat zvýšenou postoperační senzitivitu, dyskoloraci okrajové spáry, až po vznik sekundárního kazu, spojeného s bakteriálním atakem a se ztrátou tvrdých zubních tkání. V horším případě pak defekt může vést až k nevratnému poškození pulpy, následně spojené s potřebou dalších léčebných výkonů. Na selhání adhezivního spoje se podílí řada faktorů, zejména vlastnosti použitého výplňového materiálu, polymerační smrštění kompozitního materiálu, typ a objem preparované kavity, preparační technika, postup zhotovení výplně a především odolnost adhezivního systému vůči mechanickému, chemickému a bakteriálnímu zatížení.

1.4.1 Degradace adhezivního spoje ve vodě

Většina prací s tematikou dlouhodobé stability adhezivního spoje se orientuje především na jeho degradaci ve vodě. Výsledky těchto studií ukazují na dostatečnou odolnost adhezivního spoje mezi sklovinou a kompozitním materiálem, vytvořeného ER adhezivy (De Munck, Van Landuyt et al. 2005, Garcia-Godoy, Krämer et al. 2010, Pashley, Tay et al. 2011). Naproti tomu adhezivní chování SE systémů na sklovině je komplikovanější, především v důsledku jejich snížené schopnosti demineralizovat „smear layer“ a podpovrchové vrstvy skloviny.

Zatímco demineralizační vlastnosti silně kyselých SE adheziv jsou téměř srovnatelné s účinkem kyseliny fosforečné, demineralizace skloviny mírně kyselými SE adhezivy je výrazně menší, většinou pouze povrchová. Rozsah demineralizace u těchto adheziv proto významně závisí na kompaktnosti a tloušťce „smear layer“, použitým preparačním postupem a nástroji (Mine, De Munck et al. 2010, Van Meerbeek, Yoshihara et al. 2011). Výsledkem je snížení okamžité, ale i dlouhodobé pevnosti vazby mnoha SE adheziv ke sklovině (Van Meerbeek, Yoshihara et al. 2011), (Mine, De Munck et al. 2009).

Oproti sklovině vazba mezi kompozitními materiály a dentinem ve vodném prostředí dlouhodobě stabilní není (Burrow, Satoh et al. 1996, Sano, Yoshikawa et al. 1999, Hashimoto, Ohno et al. 2000, Armstrong, Keller et al. 2001, Armstrong, Vargas et al. 2003, De Munck, Van Meerbeek et al. 2003, Hashimoto, Ohno et al. 2003, Hashimoto, Ohno et al. 2003, Koshiro, Inoue et al. 2004, Hashimoto, Nagano et al. 2011, Pashley, Tay et al. 2011, Van Meerbeek, Yoshihara et al. 2011). Modelové „in-vitro“ experimenty spolu

s fraktografickou analýzou lomových ploch jasně ukazují, že již po několika měsících klesá pevnost vazby k dentinu. Kritickou oblastí, nejvíce náchylnou k degradaci, je oblast hybridní vrstvy. Předpokládá se, že zde dochází k hydrolýze kolagenních vláken, hydrolýze polymerní matrix adheziva a vymývání nezpolymerovaných monomerů z této oblasti. Tyto procesy pravděpodobně probíhají současně a vzájemně se ovlivňují. Štěpení kolagenních vláken může probíhat rovněž enzymaticky - působením bakterií i autodegradačně působením enzymů aktivovaných demineralizací dentinu a vázaných v dentinové matrix.

Mechanismus degradace hybridní vrstvy

A. Hydrolýza kolagenních vláken a polymerní matrix adheziva

Studiem struktury hybridní vrstvy metodou „nanoleakage“, která je založena na sledování průniku a depozici iontů stříbra v hybridní vrstvě (Sano, Shono et al. 1994), bylo u ER adheziv zjištěno, že degradační změny adhezního spoje mezi dentinem a kompozitním materiálem se koncentrují především do oblasti nedokonale impregnovaných odhalených kolagenních vláken na spodině hybridní vrstvy (Sano, Takatsu et al. 1995, Sano, Yoshiyama et al. 1995).

Průnik vody podél hybridní vrstvy a následná hydrolýza vláken kolagenu hybridní vrstvy a polymerní matrix adheziva (Spencer and Swafford 1999, Hashimoto, Ohno et al. 2000, Hashimoto, Ohno et al. 2003, Hashimoto, Tay et al. 2003, Pashley, Tay et al. 2011, Van Meerbeek, Yoshihara et al. 2011) jsou jednou z hlavních příčin degradace adhezního spoje na dentinu. Náchylnost odhalených, polymerní matrix nedokonale chráněných vláken kolagenu v hybridní vrstvě, vytvořené ER adhezivy, k degradaci potvrdila i jejich velmi rychlá hydrolýza proteolytickým účinkem roztoků NaOCl (Spencer and Swafford 1999, Yamauti, Hashimoto et al. 2003, Yoshida, Hashimoto et al. 2004, Hariri, Shimada et al. 2012).

Tyto práce jasně ukazují, že hlavní příčinou omezené životnosti adhezivně fixovaných kompozitních materiálů je selhání adhezního spoje v oblasti hybridní vrstvy, spojené se štěpením kolagenních vláken, nedokonale chráněných polymerními složkami. Štěpení vláken kolagenu bylo prokázáno i v případě SE adheziv. Hlavní příčinou jejich degradace je podobně jako u 2-krokových ER adheziv hydrofilní charakter těchto adheziv a přítomnost vody. Voda je u těchto systémů potřebná pro disociaci kyselých skupin, které zajišťují demineralizaci hydroxyapatitu.

Obsah vody dosahuje 30-40 % (Salz, Zimmermann et al. 2005, Ito, Hoshino et al. 2010, Van Meerbeek, Yoshihara et al. 2011). Vodu, ale i zbytková rozpouštědla z povrchu ošetřených zubních tkání však nelze v průběhu aplikace zcela odstranit (Yiu, Pashley et al. 2005). V důsledku toho klesá stupeň konverze monomerů (Jacobsen and Soderholm 1995), stupeň zesíťování polymerů adhezivní vrstvy s dopadem na mechanické vlastnosti adhezivního spoje a zvýšení náchylnosti adhezivního spoje na průnik vody (Jacobsen and Soderholm 1995, Tay, Frankenberger et al. 2004, Ferracane 2006, Ito, Hoshino et al. 2010). Průnik vody podporuje i častý vysoký obsah hydrofilních monomerů typu HEMA, používaných jako reaktivní rozpouštědla, umožňující mísitelnost a vznik homogenního roztoku vody a hydrofobních vícefunkčních monomerů adheziv (Moszner, Salz et al. 2005, Van Landuyt, Snauwaert et al. 2007). U SE adheziv mohou hydrofilní zvyšovat i soli v adhezivním spoji, které vznikají rozpouštěním „smear layer“ a nejsou odstraněny opláchnutím vodou (Van Meerbeek, Yoshihara et al. 2011).

Zbytková voda a její průnik do adhezivního spoje se u těchto adheziv projevují výrazným a charakteristickým morfologickým obrazem při testu nanoleakage. V oblasti hybridní vrstvy vytváří pronikající voda ve struktuře adhezivního spoje typické kanálky („water trees“), zasahující však i do vrstvy adheziva, zatímco izolovaná zrna stříbra představují domény vody vázané na hydrofilní monomery adheziva a další složky přítomné v hybridní vrstvě a adhezivu (Tay, Pashley et al. 2002, Tay, Hashimoto et al. 2003). Agresivní účinek vody se může rovněž projevovat změkčováním a zhoršováním mechanických vlastností vrstvy adheziva (Carrilho, Tay et al. 2005, Yiu, King et al. 2006), vymýváním monomerních nezpolymerovaných složek adheziv (Sano, Yoshikawa et al. 1999, Santerre, Shajii et al. 2001, Carrilho, Tay et al. 2005, Hashimoto, Nagano et al. 2011) či hydrolýzou polymerních řetězců adheziva v hybridní vrstvě, spojenou s následnou elucí jejich hydrolytických produktů (Hashimoto, Ohno et al. 2002, Hashimoto, Ohno et al. 2003). Výsledkem těchto procesů je pokles pevnosti vazby (Hashimoto 2010)

Nedokonale odstraněná voda ve vrstvě adheziva může vést u některých systémů k separaci hydrofobních monomerů z vodného prostředí, provázené vznikem částic s odlišným složením v adhezivním spoji. Separaci hydrofobních monomerů v podobě drobných kapiček ve vrstvě adheziva (Tay, Gwinnett et al. 1996, Van Landuyt, De Munck et al. 2005) či v hybridní vrstvě (Tay, Gwinnett et al. 1996) (Spencer and Wang 2002) dochází ke koncentraci většiny

hydrofilních monomerů ve zbývající části adheziva, čímž klesá odolnost adhezního spoje proti průniku vody.

Jiným typem defektů v adhezním spoji jsou blistry, které vznikají průnikem vody z dentinu do adhezní vrstvy v důsledku rozdílů osmotických tlaků mezi dentinem a vrstvou adheziva, obsahujícího hydrofilní monomery a soli po rozpuštění minerálních částí smear layer a dentinu (Van Landuyt, Snauwaert et al. 2007). Adhezivní systémy nanášené v jednom kroku, podobně jako zjednodušená ER adheziva, jsou obzvláště náchylná k sorpci vody v celém svém objemu, což dále snižuje jejich odolnost vůči hydrolýze.

B. Štěpení kolagenních vláken proteolytickými enzymy

Detailní výzkum degradace nedokonale infiltrovaných kolagenních vláken v hybridní vrstvě ukázal i na možnost jejich štěpení nebakteriálními proteolytickými enzymy, zejména ze skupiny metaloproteináz (MMP). Tyto enzymy jsou obsaženy ve slině, ale i v dentinu, z něhož se uvolňují a aktivují během demineralizace dentinu kyselinami nebo kyselými primery (Pashley, Tay et al. 2004).

MMP patří do skupiny proteolytických endopeptidáz, vázaných na kationty Ca^{2+} a Zn^{2+} . Účastní se tkáňové remodelace, degradace extracelulární matrix a podílejí se i na mineralizaci (Fanchon, Bourd et al. 2004).

Většina známých metaloproteináz se uvolňuje v poškozené tkáni. Hrají důležitou roli při kardiovaskulárních onemocněních, u nádorových metastáz a onemocnění parodontu, kde svým účinkem zhoršují zánětlivý průběh (Moon, Weaver et al. 2010). Uvolňování MMP bylo identifikováno i v průběhu kariogenního procesu. Významnou roli při aktivaci MMP mají SE adheziva a jejich méně kyselé „self-etching“ primery (Pashley, Tay et al. 2004, Breschi, Mazzoni et al. 2008, Niu, Zhang et al. 2011) (Tjäderhane, Nascimento et al. 2013). Naopak aktivita MMP při demineralizaci dentinu kyselinou fosforečnou je méně významná, neboť koncentrovaná kyselina fosforečná zčásti inhibuje jejich účinek (Breschi, Mazzoni et al. 2010, Pashley, Tay et al. 2011). Slabší organické kyseliny nebo méně kyselé adukty kyseliny fosforečné a metakrylátových monomerů, jež jsou součástí „self-etching“ primerů, nebo kyseliny produkované kariogenními bakteriemi, tak hrají jednu z klíčových rolí při aktivaci MMP a degradaci adhezního spoje k dentinu.

Objev negativního účinku MMP na stabilitu adhezního spoje stimuloval v posledních letech výzkum zaměřený na vyhledávání a mapování inhibitorů MMP. Jedním ze známých inhibitorů MMP je chlorhexidin, který v případě dentálních adheziv může příznivě ovlivňovat dlouhodobou stabilitu hybridní vrstvy a následně snižovat riziko selhání adhezního spoje (Pashley, Tay et al. 2011, Tjäderhane, Nascimento et al. 2013). Chlorhexidin, nejčastěji ve formě diglukonátu, inhibuje aktivitu MMP již při velmi malých koncentracích (Gendron, Grenier et al. 1999).

Použití chlorhexidinu při aplikaci dentálních adheziv sleduje dva cíle. Prvním je dezinfekce kavity ve zdravém, ale i kariézním dentinu po leptání dentinu primární i trvalé dentice roztoky chlorhexidin diglukonátu o koncentraci do 2 % (Hebling, Pashley et al. 2005, Carrilho, Carvalho et al. 2007, Breschi, Mazzoni et al. 2010, Moon, Weaver et al. 2010, Sanabe, Costa et al. 2011). Druhým je inkorporace chlorhexidinu do adhezivního systému (Zhou, Tan et al. 2009) (Yiu, Hiraishi et al. 2012).

Tento postup zvláště u SE adheziv však vzbuzuje obavy z interakce chlorhexidinu se složkami adheziv, čímž by došlo jak ke snížení jeho dezinfekčního účinku, tak i pevnosti vazby. Zatímco v dlouhodobém efektu dosavadní práce poukazují na stabilizaci pevnosti vazby v čase, u některých adheziv byl pozorován pokles úrovně adheze po jeho aplikaci (Zhou, Tan et al. 2010).

Nejasná je rovněž optimální koncentrace chlorhexidinu v adhezivu. Zhou a kol. (Zhou, Tan et al. 2011) sledovali vliv koncentrace chlorhexidinu v SE primeru Clearfil SE Bond a jeho vliv na vazbu k dentinu. Optimální se jevila koncentrace chlorhexidin diglukonátu v rozmezí 0,1-1,0 %. Palmer a kol. (Palmer, Jones et al. 2004) sledovali vlastnosti skloionomerního cementu s obsahem chlorhexidinu. Ačkoliv byla pozorována schopnost postupného uvolňování chlorhexidinu, byť ve velmi nízkých koncentracích, konečné negativní dopady především na snížení pevnosti vazby řadí tyto snahy spíše do oblasti experimentů.

1.4.2 Odolnost adhezního spoje v různých prostředích

Na rozdíl od rozsáhlého zkoumání degradace adhezního spoje ve vodě degradačnímu působení jiných látek větší pozornost dosud věnována nebyla. V publikovaných pracích je zmiňován především vliv vodných roztoků etanolu (Lee, Greener et al. 1994, Hobson,

McCabe et al. 2000), kyseliny mléčné a kukuřičného oleje (Hobson, McCabe et al. 2000) na adhezní spoj.

Výsledky obou prací shodně potvrdily významný pokles pevnosti vazby po 30denní a 12týdenní expozici zředěnému etanolu, svědčící o urychlení degradačních procesů v jeho přítomnosti. Mezi další látky, které mohou působit na adhezní spoj, se řadí i různé složky prostředků ústní hygieny a kosmetické prostředky. Z této široké škály látek byl podrobněji zkoumán pouze vliv peroxidových bělicích gelů (Dudek, Roubickova et al. 2012).

1.4.2.1 Vliv peroxidových bělicích přípravků na odolnost adhezního spoje

Přestože bělení zubů peroxidovými bělicími prostředky patří v současnosti k častým estetickým zákrokům v ordinaci zubního lékaře, výraznější pozornost jejich vlivu na adhezi výplňových materiálů k zubním tkáním věnována nebyla.

První zmínky o bělení zubů pocházejí již z dob starého Egypta, kdy byly k bělení používány směsi rozemleté pemzy a vinného octa. Z 18. století je známo bělení čpavkem nebo kyselinou dusičnou, která byla aplikována na zuby izolované kovovou páskou. V odborné literatuře se první studie o bělení zubů objevily v 19. století. Bělení bylo prováděno nejrůznějšími sloučeninami: od chloridů, chlornanu sodného přes perborát sodný až k peroxidu vodíku a karbamid peroxidu, používanému ve stomatologii od 60. let minulého století (Haywood and Heymann 1989, Haywood and Heymann 1991).

V současné době jsou pro bělení vitálních zubů za nejvhodnější považovány systémy s peroxidy, které nejlépe vyhovují požadavku na mísitelnost s vodou, rychlý a regulovatelný účinek, nízkou toxicitu a v neposlední řadě i rozpad na jednoduché nebarevné produkty. Tyto systémy patří do skupiny kosmetických prostředků a musí splňovat požadavky evropské směrnice (Směrnice rady 2011/84/EU), která určuje bezpečný obsah peroxidů nejvýše do ekvivalentu 6 hmotn. % peroxidu vodíku.

Mechanismus účinku peroxidových systémů

Ačkoliv mechanismus bělení tvrdých zubních tkání peroxidovými sloučeninami není zcela objasněn, předpokládá se, že aktivní kyslík, reaktivní hydroxylové radikály OH^\cdot nebo perhydroxylové anionty HOO^- , uvolňované tepelným nebo světelným rozpadem peroxidů, reagují s chromoforními skupinami organických látek (cyklické nenasyčené struktury) a

anorganickými pigmenty. Jelikož jsou v organických látkách atakovány především dvojně vazby, které jsou nositeli barevnosti, dochází ke změně jejich chemické struktury, což je spojeno s posunem absorpčního spektra světelného záření (Dahl and Pallesen 2003, Joiner 2004, Joiner 2006).

Výsledkem těchto oxidačních procesů je zesvětlení zubních tkání. Rychlost bělení je závislá na typu substrátu, koncentraci peroxidu, pH prostředí, teplotě, světlu, přítomnosti iontů ze skupiny přechodných kovů typu Ti, Mn, Fe a dalších, které působí jako katalyzátory, urychlující rozpad peroxidů (Kashima-Tanaka, Tsujimoto et al. 2003, Joiner 2006).

Obdobným účinkem jako peroxid vodíku působí i karbamid peroxid, který se ve vodném prostředí rozkládá na peroxid vodíku a močovinu. Močovina a případně amoniak, vznikající jejím rozpadem, zvyšují pH do alkalické oblasti, ve které se peroxid vodíku rozkládá za vzniku perhydroxylového aniontu HOO^- . Jelikož je k této reakci zapotřebí nižší energie než v kyselém prostředí, je rozpad karbamid peroxidu rychlejší (Cotton and Wilkinson 1966). Reaktivní složky rozpadu peroxidů působí nejen na chromoforní skupiny, ale i na tvrdé zubní tkáň, výplňový materiál a adhezni spoj. Malé molekuly radikálů mohou pronikat strukturou skloviny a dentinu až do oblasti pulpální dutiny (Cooper, Bokmeyer et al. 1992, Gokay, Mujdeci et al. 2005) (Thitinanthapan, Satamanont et al. 1999) a vyvolávat degradaci zubních tkání v důsledku štěpení polypeptidového řetězce kolagenu hydroxylovými radikály v místech aminokyselin prolinu a alaninu (Kawamoto and Tsujimoto 2004).

Působením peroxidových systémů byl opakovaně prokázán pokles povrchové tvrdosti skloviny a dentinu, často doprovázený jejími morfologickými změnami (Hegedus, Bistey et al. 1999, Basting, Rodrigues Jr et al. 2003, de Oliveira, Paes Leme et al. 2005, Zantner, Beheim-Schwarzbach et al. 2007), snížení pevnosti v tahu skloviny (da Silva, de Oliveira et al. 2005), snížení pevnosti v ohybu dentinu (Tam, Abdool et al. 2005) a náchylnost k jeho křehkému porušení (Tam and Noroozi 2007). Předpokládá se, že dochází k napadení nejenom peptidických složek skloviny, ale i k demineralizaci skloviny (Perdigao, Francci et al. 1998, Tezel, Ertas et al. 2007). Avšak existují i práce, kde snížení mikrotvrdosti a změny morfologie skloviny pozorovány nebyly (Lopes, Bonisconi et al. 2002), anebo došlo k obnovení původních vlastností zubních tkání po aplikaci fluoridových přípravků (Lewinstein, Fuhrer et al. 2004). Rozporuplné výsledky byly nalezeny rovněž po expozici výplňových materiálů peroxidovým bělicím systémům. Pozorován byl pokles tvrdosti, vznik povrchové porozity a změna zbarvení povrchu (Attin, Hannig et al. 2004, Gurgan and Yalcin 2007, Zantner,

Beheim-Schwarzbach et al. 2007), přičemž intenzita těchto změn, zasahujících až do hloubky 2 mm (Hannig, Duong et al. 2007), stoupala se zvyšující se koncentrací peroxidů.

Odlíšné výsledky však byly nalezeny při expozici „in situ“ u skloionomerních cementů, kompozitních materiálů a amalgámů, u nichž nedocházelo k výraznějším změnám povrchové drsnosti (de A Silva, Davies et al. 2006). Nevýznamné změny povrchové morfologie byly rovněž zjištěny při „in vitro“ expozici hybridního kompozitu, ale i amalgámu a živcové keramiky střídavě bělicímu systému a umělé slině (Schemehorn, Gonzalez-Cabezas et al. 2004).

Nedostatečně zmapován je vliv peroxidových bělicích systémů na adhezi výplňových materiálů k zubním tkáním a na stabilitu okrajového uzávěru, jehož odolnost významně ovlivňuje životnost kompozitních výplní, ale i jiných adhezivně fixovaných náhrad. Většina dosud publikovaných studií se zabývá především vlivem preoperativní aplikace bělicího gelu na pevnost vazby. Uváděn je reverzibilní pokles pevnosti vazby mezi bělenou sklovinou a adhezivním systémem a to v rozmezí 1-3 týdnů po bělení (Torneck, Titley et al. 1991, McGuckin, Thurmond et al. 1992, Sundfeld, Briso et al. 2005). Jednou z příčin dočasného poklesu pevnosti vazby může být inhibice radikálové polymerace kyslíkem, který je uvolňován rozpadem peroxidů (Dishman, Covey et al. 1994) a následné snížení počtu a délky pryskyřičných tagů (Titley, Torneck et al. 1991, Dishman, Covey et al. 1994).

Opomíjenou otázkou zůstává postoperační vliv bělicích systémů na stabilitu adhezního spoje mezi kompozitními materiály a tvrdými zubními tkáněmi. V dostupné literatuře Cavalli (Cavalli, de Carvalho et al. 2005) zmiňuje negativní vliv bělicího systému s 10 % karbamid peroxidu na pevnost vazby self-etching adhezivních systémů ke sklovině. Podobné výsledky byly pozorovány při hodnocení stability okrajového uzávěru mezi kompozitním materiálem a sklovinou u kavit V. třídy po aplikaci bělicího systému s 10 % karbamid peroxidu testem mikronetěsnosti (Ulukapi, Benderli et al. 2003), kdy byla zjištěna významně vyšší náchylnost okrajového uzávěru ke vzniku mikrospáry.

1.5 Metody hodnocení odolnosti adhezního spoje

Nedílnou součástí výzkumu problematiky adhezního chování kompozitních materiálů a odolnosti adhezního spoje je volba vhodné metody hodnocení. Ačkoliv existuje řada způsobů měření adheze, převzatých často z průmyslových aplikací, jejich implementace do oblasti stomatologie přináší množství problémů. Mezi hlavní patří proměnná struktura, složení a vlastnosti tvrdých zubních tkání, různě definovaný a proměnlivý tvar spojovaných materiálů, obtížně definovaná tloušťka adheziva a v neposlední řadě neobvykle malý rozměr vzorků. Problémem přenosu výsledků do klinické praxe je i nemožnost postihnout v laboratorních podmínkách všechny faktory, které ovlivňují adhezní spoj.

Sílicí tlak a potřeba preklinického zkoušení adhezivních systémů proto vyvolává požadavek na vývoj zkušebních metod, které by umožnily předejít možným komplikacím v klinické praxi. Ty vyplývají často z překotného zavádění nových typů adheziv, včetně nedostatečně ověřených aplikačních postupů a technik. Potřebu sjednotit zkušební metody a postupy reflektuje mezinárodně uznávaný standard ISO/TS 11405:2003, který definuje základní požadavky na přípravu vzorků, uspořádání zkoušek a vyhodnocení výsledků. Mezi doporučené a nejčastěji používané metody hodnocení adheze patří měření pevnosti vazby ve smyku nebo tahu, mikrotahu, mikrosmyku a dále metody založené na hodnocení odolnosti okrajového uzávěru výplní. Každá z těchto metod má své výhody a nevýhody.

1.5.1 Měření pevnosti vazby

Při měření pevnosti vazby se základním problémem jeví především skutečnost, že měření a expozice danému prostředí probíhá při nízkém C-faktoru a tedy při nízkém trvale působícím polymeračním napětí.

Ačkoliv tuto skutečnost zčásti lze kompenzovat například cyklickým zatěžováním adhezního spoje nebo zkouškou mikrotahu na vzorcích připravených z výplní, u nichž byl adhezní spoj polymeračním pnutím zatížen, toto omezení u nich stále přetrvává. Problémem bývá i častý výskyt kohezních lomů mimo adhezní spoj a nerovnoměrné rozložení napětí v adhezním spoji při některých experimentálních uspořádáních těchto zkoušek.

Ačkoliv tuto obtíž řeší zmenšení kontaktní plochy až na úroveň 0,5-1,0 mm² při zkoušce v mikrotahu, přítomnost okrajových defektů, spojených s přípravou těchto malých vzorků a

jejich vliv na výsledek zkoušky přetrvává. Naproti tomu metody testování adheze na modelových výplních umožňují přiblížit se reálným podmínkám adhezního spoje, který je trvale zatížený jak tahovými silami v důsledku polymeračního smrštění, tak vnějším prostředím.

1.5.2 Metody hodnocení okrajového uzávěru

Mezi metody hodnocení adhezivních systémů se řadí zkoušky zaměřené na hodnocení spáry nebo mikrospáry, která vzniká v důsledku selhání adhezního spoje mezi kompozitním materiálem a tvrdými zubními tkáněmi. Tato netěsnost může být způsobena nedostatečnými adhezivními vlastnostmi zvoleného systému, jeho degradací v průběhu expozice zkušebnímu prostředí, či selháním adhezního spoje trvale zatíženého polymeračním smrštěním, silami vznikajícími v důsledku rozdílných koeficientů tepelné roztažnosti kompozitního materiálu a tvrdých zubních tkání či kombinací více proměnných faktorů.

K těmto zkouškám patří měření šířky a délky okrajové spáry v okolí modelových výplní a metoda mikronetěsnosti („microleakage“). Mikronetěsnost je v zubním lékařství definována jako klinicky nezjistitelný (nedetekovatelný) průnik bakterií, tekutin, molekul nebo iontů mezi stěnou kavity a výplňovým materiálem (Kidd 1976, Raskin, D'Hoore et al. 2001). Každá z těchto metod má své výhody a nevýhody. U metody měření okrajové spáry se jako zásadní nevýhoda uvádí dvojrozměrný charakter výsledků, kdy není možné určit hloubku porušení okrajového uzávěru. Při hodnocení mikronetěsnosti se posledních pracích uvádí její malý vztah k výsledkům klinických studií (Heintze 2007).

1.5.2.1 Penetrační metody sledování mikronetěsnosti

Nejčastěji používanými metodami sledování vzniku a rozsahu mikrospáry mezi zubními tkáněmi a kompozitními materiály patří penetrace barviva nebo radioaktivně značených roztoků (Raskin, D'Hoore et al. 2001, Kaš'áková and Halačková 2002). Společným rysem metod založených na indikaci mikrospáry průnikem barviva je jejich poměrně jednoduchý, finančně dostupný pracovní postup, nenáročný na vybavení laboratoře.

Na druhé straně tato metoda poskytuje pouze semikvantitativní výsledky, jejichž spolehlivost a klinický význam je v poslední době předmětem diskusí (Heintze 2007). K detekci se používají různé fyzikální, především optické a spektrometrické postupy hodnocení rozsahu průniku barviva adhezivním spojením.

Předpokladem jejich použití je výběr vhodného indikačního barviva, které by mělo velikostí molekuly odpovídat velikosti bakterií a být větší než průměr dentinových tubulů 1-4 μm (Taylor and Lynch 1992, Raskin, D'Hoore et al. 2001, Heintze 2007).

Nejčastěji používaná barviva:

- a) **Metylénová modř (MM)** - 3,7-bis(dimethylamino)-feno-thiazin-5-ium-chlorid, $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}\text{Cl}$, je thiazinový derivát s bazickou povahou. Tmavě zelený krystalický prášek tvoří s vodou intenzivně modrý roztok. Je známo, že v důsledku nízkého pH jsou roztoky MM schopny demineralizovat dentin, proto je důležité udržovat pH roztoků MM blízko neutralitě, aby tento nepříznivý účinek byl minimalizován. Rovněž její použití není doporučováno v silně alkalickém prostředí, kde se hydrolyzuje a odbarvuje (Wu and Wesselink 1993). Pro indikaci porušení adhezního spoje je využívána díky své velmi dobré rozpustnosti a optimální velikosti molekuly, která dovoluje MM pronikat do spár obsahujících vodu, bez případného rizika průniku do oblasti dentinové matrix či krystalů hydroxyapatitu (Amarante de Camargo, Sinhoreti et al. 2006). Nejčastěji se používá ve formě 0,5-2% vodného roztoku.
- b) **Bazický fuchsin** $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{ClN}_3$ - je zelený krystalický prášek patřící mezi trifenylmetanová barviva. Je tvořen směsí rosanilinu, pararosanilinu nového fuchsinu a magenty II. Spolu s MM patří mezi nepoužívanější detekční barviva nejčastěji o koncentraci 0,5 % ve vodě. Někteří autoři preferují toto barvivo z důvodu lepšího kontrastu při pozorování v optickém mikroskopu (Raskin, D'Hoore et al. 2001, Heintze, Forjanic et al. 2008).
- c) **Dusičnan stříbrný** AgNO_3 - i když je spolu s organickými barvivy na předních místech při volbě indikačního barviva, jeho hlavní použití v současné době spočívá ve sledování průniku vody zejména do hybridní vrstvy adhezního spoje metodou nanoleakage. V důsledku menších rozměrů atomů stříbra proniká i neporušeným rozhraním difuzí. Podstata metody spočívá v expozici adhezního spoje amoniakálnímu roztoku AgNO_3 s následnou redukcí iontů stříbra fotografickou vývojkou (Sano, Yoshiyama et al. 1995, Hashimoto, De Munck et al. 2004).

Penetrace organických barviv je nejčastěji sledována pomocí optické mikroskopie, v případě AgNO_3 pomocí rastrovacího nebo transmisního elektronového mikroskopu.

1.5.2.2 Metody založené na hodnocení velikosti okrajové spáry

Ke zjišťování přítomnosti a šířky okrajové spáry se využívá buď přímé pozorování, nebo přesnější metodika vytvoření replik spáry hydrofilní otiskovací hmotou a následné odlití reprodukčně spolehlivým materiálem, například epoxidovou pryskyřicí (ISO 2003, Heintze 2007). Zhotovená replika okraje výplně je pozorována elektronovým mikroskopem. Mezi výhody této metody patří jednodušší pracovní postup a nízké náklady. Naopak nevýhodou je především skutečnost, že je vyhodnocován pouze dvojrozměrný obraz šířky spáry a nikoliv její hloubka. Kromě toho při zhotovování replik může docházet ke vzniku artefaktů a z toho plynoucích nepřesností.

Velký vliv na konečný výsledek mají i hodnotitelé. Některé studie uvádějí, že i přes provedenou kalibraci se jejich výsledky mohou lišit až o 20 %. Heintze a kol. (Heintze, Forjanic et al. 2005) tuto metodu upravili a zautomatizovali tak, že replika je analyzována optickým senzorem. V případě, že je přítomna spára, dojde automaticky k zaznamenání její šířky i hloubky.

1.5.2.3 Stručné zhodnocení metod

Pro charakterizaci dentálních adheziv v podmínkách „in-vitro“ převažuje v současné době měření pevnosti vazby. Avšak se zlepšováním jejich adhezních vlastností se klasická a jednoduchá metoda měření pevnosti ve smyku ukázala jako nevhodná, neboť vysoký počet kohezních lomů kompozitním materiálem nebo zubní tkání je mimo vlastní adhezní spoj. Významnou otázkou při interpretaci výsledků těchto testů je nerovnoměrné rozložení napětí v kontaktní ploše, které v některých místech může výrazně převýšit vypočtenou nominální hodnotu pevnosti vazby při lomu vzorku.

Odstranění některých z těchto problémů přineslo až uspořádání zkoušky v mikrotahu, či mikrosmyku, kdy je adhezní plocha zmenšena na přibližně 0,5-1 mm². Tím byl sice odstraněn problém vysokého počtu kohezních lomů, avšak častý výskyt vzorků poškozených během jejich přípravy vedl k dosud nevyřešené otázce, zda tyto vzorky zahrnout s nulovou hodnotou, jinou nízkou hodnotou či je zcela vyloučit ze statistického zpracování.

Výsledky detailní fraktografické analýzy ukázaly, že o porušení vzorku rozhoduje spíše přítomnost náhodných defektů na rozhraní adhezní plochy, které vznikají při jejich zhotovování nebo při zhotovování adhezního spoje (Scherrer, Cesar et al. 2010). Tyto defekty

mohou iniciovat lomový proces a výsledná hodnota pevnosti vazby pak spíše odráží distribuci defektů, než přitažlivé síly, působící mezi zubními tkáněmi a adhezními systémy.

Naproti tomu hodnocení adheziv metodami založenými na sledování odolnosti okrajového uzávěru výplní více odpovídá klinické situaci. Měření délky neporušeného okrajového uzávěru však neposkytuje údaje o hloubce spáry a metoda mikronetěsnosti je spíše semikvantitativní. Jelikož adheze není materiálovou konstantou, výsledky všech uváděných metod do značné míry závisí na konkrétním uspořádání experimentu, což vede k častým problémům při jejich vzájemném porovnávání.

Při výběru metodiky je vhodné vycházet z metaanalytických studií, ve kterých je popsán vliv zásadních experimentálních proměnných na úspěšnost vybrané metody. U metody mikronetěsnosti mezi nejdůležitější faktory patří zejména konfigurace kavity, typ výplňového materiálu, počet řezů či počet a kalibrace hodnotitelů (Raskin, D'Hoore et al. 2001, Heintze 2007).

2. Hypotézy a cíle práce

2.1 Souhrn dosavadních poznatků o odolnosti a degradaci adhezního spoje v různých prostředích

Současný trend při rekonstrukci poškozených tvrdých zubních tkání je zaměřen na používání kompozitních materiálů, spojovaných s tvrdými zubními tkáněmi pomocí adhezivních technik. Kromě vynikajících estetických vlastností a akceptovatelných biologických parametrů je nespornou výhodou těchto technologií minimálně invazivní přístup, spojený s redukcí ireverzibilních ztrát tvrdých zubních tkání.

Na druhou stranu nekompatibilita kompozitních materiálů se zubními tkáněmi vyžaduje použití speciálních adhezivních systémů pro jejich vzájemné spojení. Vytvořený adhezní spoj především na dentinu představuje nejslabší článek těchto rekonstrukcí, zabraňující dosažení jejich dlouhodobé životnosti, srovnatelné s klasickými typy materiálů. Detailní výzkum degradace adhezního spoje jednoznačně ukazuje, že k degradaci je nejvíce náchylná hybridní vrstva na povrchu dentinu, vznikající průnikem vazebných monomerů adheziv do jeho struktury.

Kromě vody je adhezní spoj vystaven i působení potravin, nápojů, jejich fermentačních produktů, ale v rostoucí míře i přípravků ústní hygieny a kosmetických prostředků. Ačkoliv tyto přípravky jsou často používány, jejich vliv na odolnost adhezního spoje není v řadě případů vůbec znám nebo dobře prozkoumán. Častou příčinou rozporupných výsledků je i použití různých metod, experimentální uspořádání a nesystémový výběr adheziv, nežádka podmíněný spíše komerčními zájmy výrobce. Z hlediska objasnění vlivu prostředí na stabilitu adhezního spoje je proto důležitý systematický výběr adhezivních systémů, zaměřený na jejich reprezentativní typy a zkoumání degradačních jevů několika různými metodami za stejných podmínek. Lze předpokládat, že takto pojatý výzkum dovolí i lépe předvídat chování adhezivních rekonstrukcí v klinické praxi. Znalosti tohoto typu mohou přispět ke zvýšení životnosti kompozitních rekonstrukcí, které stále nedosahují životnosti amalgámových či keramických náhrad.

Na adhezní spoj mohou kromě vody působit negativně především peroxidové bělicí přípravky, jejichž oxidační vliv na tvrdé zubní tkáně, kompozitní materiály a adhezní spoj

není dosud zcela jasný. Časté a v řadě případů obtížně kontrolovatelné aplikace těchto bělicích přípravků pak vyvolávají otázku nejenom rizika poškození měkkých a tvrdých zubních tkání kyslíkovými radikály, ale i otázku odolnosti adhezního spoje v tomto prostředí. Přípravky ústní hygieny zahrnují účinné látky s antibakteriálními vlastnostmi nebo podporující remineralizaci tvrdých zubních tkání, které díky těmto vlastnostem mohou přispívat k vyšší odolnosti adhezního spoje. Na druhou stranu vysoký obsah různých chemických látek v těchto prostředcích, přítomnost povrchově aktivních látek pro zlepšení smáčivosti tvrdých zubních tkání a tím zvýšení jejich účinku, může naopak procesy degradace adhezního spoje urychlovat.

2.2 Pracovní hypotézy

Adhezní spoj mezi zubními tkáněmi a kompozitními materiály je v ústní dutině vystaven různým mechanickým, biologickým a chemickým vlivům. Jedním z významných chemických agens, které na adhezní spoj působí, jsou peroxidové bělicí gely, používané pro zesvětlení zubů. Tento kosmetický zákrok je dnes ve stomatologické praxi velmi rozšířen. Účinnou látkou bělicích gelů je peroxid vodíku či jeho prekurzory, které při svém rozkladu uvolňují kyslíkové radikály. Volné radikály však reagují nespécificky, tj. nejenom s chromoforními skupinami látek, které zbarvují zubní tkáň, ale i s tvrdými zubními tkáněmi, rekonstrukčními materiály a materiály vytvářejícími adhezní spoj. Problematice odolnosti adhezního spoje v prostředí peroxidových bělicích přípravků však bylo věnováno pouze několik studií a jejich výsledky nejsou jednoznačné.

Mezi dezinfekční látky s antibakteriálním účinkem proti širokému spektru bakterií, plísni a některých virů se řadí přípravky s chlorhexidinem, dodávané nejčastěji ve formě ústních vod. Odborné publikace z poslední doby dokazují pozitivní vliv preoperativně aplikovaného chlorhexidinu na odolnost adhezního spoje, a to díky jeho schopnosti inhibovat matrixové metaloproteinázy, které se podílejí na štěpení kolagenních vláken hybridní vrstvy. Žádné informace se však nepodařilo nalézt o vlivu postoperačně aplikovaných chlorhexidinových přípravků na dlouhodobou odolnost adhezního spoje. Lze předpokládat, že schopnost chlorhexidinu vázat se na anionty by mohla urychlovat hydrolýzu složek adheziv a tím snižovat dlouhodobou odolnost adhezního spoje.

K preventivním přípravkům se řadí i ústní vody s fluoridy. Mechanismus lokálního působení fluoridů je dobře znám (Fejerskov 2004). Spočívá jednak v jejich schopnosti vytvářet depa fluoridových iontů, vázaných ve formě fluoridu vápenatého na povrchu skloviny. Postupně uvolňované fluoridové ionty mají schopnost zabudovávat se do krystalové mřížky hydroxyapatitu za vzniku fluoroapatitu, případně fluorohydroxyapatitu, který je v kyselém prostředí stabilnější, než hydroxyapatit. Saturovány jsou především povrchové a podpovrchové oblasti skloviny. Zatímco o kompozitních materiálech je známo, že v přítomnosti fluoridů mohou podléhat povrchové degradaci (Kula, McKinney et al. 1997), údaje o dlouhodobé odolnosti adhezního spoje v přítomnosti fluoridů chybí.

Z uvedeného přehledu je patrné, že problematika odolnosti adhezního spoje a mechanismu jeho degradace je nejvíce rozpracována pro vodné prostředí. Jiná prostředí s potenciálně korozním účinkem na adhezní spoj byla zkoumána jen okrajově, nebo zkoumána dosud nebyla. Experimentální část práce byla soustředěna na ověření otázky, zda chemické látky obsažené v některých přípravcích pro použití v dutině ústní mohou urychlovat degradaci adhezního spoje mezi kompozitními rekonstrukcemi a tvrdými zubními tkáněmi.

2.3 Cíle práce

Cílem experimentální části předkládané práce bylo metodou mikronetěsnosti objasnit vliv peroxidových bělicích přípravků a prostředků ústní hygieny s obsahem chlorhexidinu a fluoridů na odolnost adhezního spoje, vytvořeného několika různými adhezivními systémy.

Schéma uspořádání předložené studie vycházelo z nulové hypotézy, že tyto přípravky neovlivňují vazbu mezi tvrdými zubními tkáněmi a kompozitními materiály.

Experimentální část práce byla rozdělena do několika dílčích etap s následujícími cíli:

1. Metodou mikronetěsnosti proměřit odolnost adhezního spoje výplní V. třídy s okrajem na sklovině a dentinu, připravených se čtyřmi různými adhezivními systémy, reprezentujícími současný stav jejich vývoje, po dlouhodobé expozici peroxidovému bělicímu gelu, prostředí chlorhexidinového prostředku a prostředku s obsahem fluoridů.

2. Metodou elektronové mikroskopie charakterizovat a zhodnotit morfologii povrchů skloviny a dentinu po preparaci a po aplikaci zvolených adhezivních systémů.
3. Pomocí elektronové mikroskopie vyhodnotit schopnost vybraných adhezivních systémů pronikat do struktury zubních tkání a vytvářet pevnou a dlouhodobě odolnou vazbu.
4. Metodou fraktografické analýzy zjistit oblast adhezního spoje, kde dochází k jeho porušení.

Na základě získaných poznatků odhadnout míru rizika selhání adhezního spoje v prostředí výše uvedených přípravků a formulovat zásady pro výběr adhezivních systémů, které by vykazovaly vysokou odolnost vůči různým prostředím, běžně se vyskytujícím v klinické praxi.

3. Materiály a metodika

K ověření pracovní hypotézy byl navržen výzkumný program tak, aby umožnil získat původní výsledky pro cíleně vybrané adhezivní systémy, reprezentující současný stav jejich vývoje. Záměrem bylo realizovat „in-vitro“ výzkum za podmínek blízkých reálně zhotovovaným výplním v zubní ordinaci. Zvoleny byly kavity V. třídy na cemento-sklovinném rozhraní s vysokým C-faktorem, u kterých je adhezni spoj nejvíce zatěžován polymeračním pnutím. Poškození adhezniho spoje bylo indikováno metodou mikronetěsnosti penetrací barviva. Pro každý adhezivní systém a prostředí bylo připraveno nejméně deset výplní, které byly exponovány danému prostředí po dobu dvou a šesti měsíců.

V případě aplikace peroxidového bělicího gelu byly výchozí podmínky nastaveny tak, aby dovolily přímé porovnání s výsledky paralelní studie, provedené na stejném pracovišti za identických podmínek, avšak měřením pevnosti vazby (Dudek, Roubickova et al. 2012). Uspořádání studie respektovalo požadavky mezinárodního standardu pro zkoušky adheze, uvedené v technické normě ISO/TS 11405:2003.

3.1 Výběr materiálů a zkušebních prostředí

3.1.1 Materiály

3.1.1.1 Adhezivní systémy

První fáze této práce byla zaměřena na výběr vhodných typů adhezivních systémů. Bylo žádoucí zvolit typické adhezivní systémy, reprezentující současný stav jejich vývoje a současně dovolující vytvořit adhezni spoj s dobrou reprodukovatelností. Na základě předběžných výsledků, získaných měřením pevnosti vazby ve smyku (Bradna, Vrbova et al. 2008), byl jako zástupce ER adheziv zvolen systém Gluma Comfort Bond (Heraeus Kulzer, Německo) ve spojení s doporučeným leptacím gelem téhož výrobce. SE adheziva byla zastoupena 2-krokovým Clearfil SE Bond (Kuraray, Japonsko), skupina 1-krokových SE adheziv dvoulahvičkovým Adper Prompt (3M ESPE, Německo) a 1-kroková jednolahvičková „all-in-one“ adheziva reprezentoval iBond (Heraeus Kulzer,

Německo). Chemické složení těchto adheziv, získané z dostupné firemní a odborné literatury a aplikační protokoly shrnuje tabulka 3. Adheziva byla aplikována na povrch zubních tkání v souladu s pokyny výrobce.

Tab. 3 Materiály a aplikační protokoly

Materiál (označení)	Výrobce	Chemické složení	Protokol *
Adhezivní systémy			
Gluma Comfort Bond (GLU)	Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Německo	<i>Leptací gel:</i> Gluma Etch 20 Gel (20 % kys. fosforečné) <i>Bond:</i> HEMA, 4-META, polykyselina, etanol, fotoiniciátory, kys. polyakrylová	e (20 s), r, d (1-2 s), 3x b (15 s), w (15 s), d, c (20 s)
Clearfil SE Bond (CLF)	Kuraray Medical Inc., Okayama, Japonsko	<i>Primer:</i> 10-MDP, HEMA, hydrofilní dimetakrylát, kafrchinon, N,N-dietanol-p-toluidin, voda <i>Bond:</i> 10-MDP, bis-GMA, HEMA, hydrofobní dimetakrylát, kafrchinon, N,N-dietanol-p-toluidin, silanizovaný koloidní SiO ₂	p (20 s), d, b, d, c (10 s)
Adper Prompt (ADP)	3M ESPE AG, Seefeld, Německo	<i>tekutina A:</i> metakrylestery kyseliny fosforečné, bis-GMA, iniciátory tuhnutí na bázi kafrchinonu, stabilizátory <i>tekutina B:</i> voda, HEMA, kys. polyalkenoátová, stabilizátor	m (A+B), a (15 s), d, a, d, c (10 s)
iBond (IBO)	Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Německo	4-META, UDMA, glutaraldehyd, aceton, voda, fotoiniciátory, stabilizátory	3x a, w (30 s), d, c (20 s)
Kompozitní materiál			
Charisma	Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Německo	bis-GMA, TEGDMA, UDMA, barium fluoridové sklo, SiO ₂ , iniciátory, stabilizátory, pigmenty	c (20 s)
<p>bis-GMA: bisphenol A diglycidyl metakrylát; HEMA: 2-hydroxyetyl metakrylát; 10-MDP: 10-metakryloyloxydecyl dihydrogenfosfát; 4-META: anhydrid 4-metakryloyetyl trimellitové kyseliny; TEGDMA: trietylglykol dimetakrylát; UDMA: uretan dimetakrylát.</p> <p>* Pracovní protokol: (a) aplikace; (b) bonding; (c) polymerace; (d) osušení /rozfouknutí; (e) leptání; (m) míchání; (p) priming; (r) oplachování; (w) prodleva</p>			

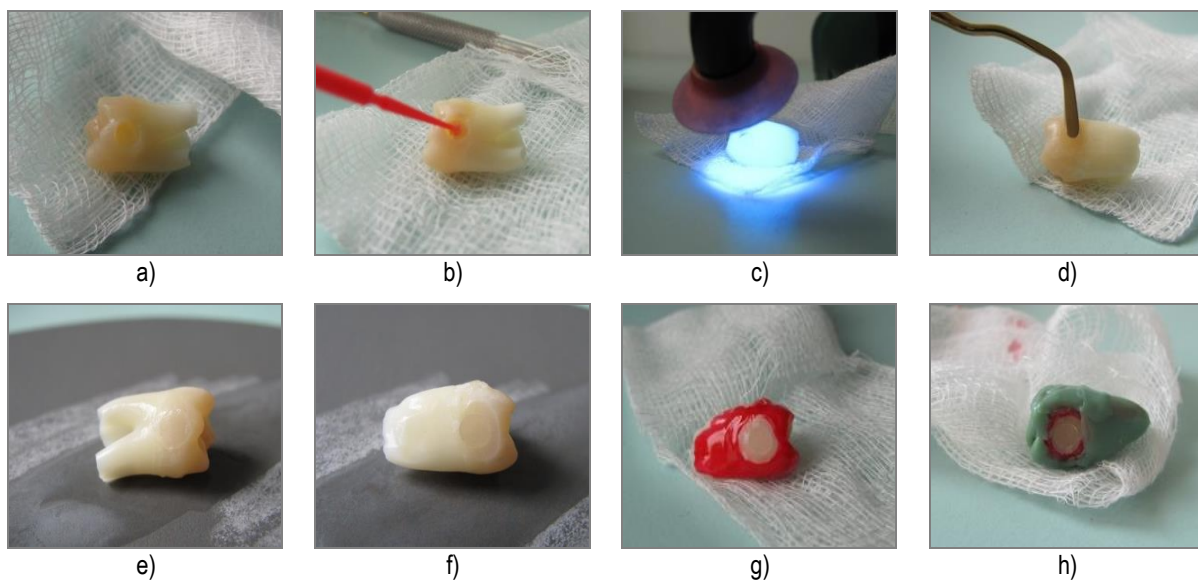
3.1.1.2 Výplňový materiál

Ke zhotovení modelových výplní byl zvolen mikrohybridní kompozitní výplňový materiál Charisma odstínu A2 (Heraeus Kulzer, Německo), který představuje široce používaný a klinicky dobře ověřený kompozitní materiál.

3.1.2 Příprava zkušebních vzorků

Ve studii byly použity lidské intaktní třetí moláry, extrahované z ortodontických důvodů. V souladu s doporučenou metodikou ISO/TS 11405:2003 byly zuby po extrakci zbaveny zbytků měkkých tkání, skladovány při teplotě 4 °C po dobu jednoho týdne v 0,5% roztoku chloraminu-T a poté po dobu nejvýše šesti měsíců v destilované vodě při téže teplotě.

Na bukálních a linguálních plochách zubů byly v oblasti cemento-sklovinné hranice za chlazení vodou vypreparovány diamantovaným vrtáčkem (ISO 801 027, Hager & Meisinger Neuss, Německo) a poté karbidovým vrtáčkem (ISO 500 104, Acurata G+K Mahnhardt Dental, Německo) za chlazení vodní sprejí standardní válcové kavity V. třídy o průměru $(3,0\pm 0,2)$ mm a hloubce přibližně 1,5-2,0 mm s vypočtenou hodnotou C-faktoru 3-4. Polovina kavity byla lokalizována ve sklovině, polovina v dentinu. Stěny kavity byly bez zkosení, tedy v úhlu 90° k povrchu zubu. Po preparaci přibližně 10-12 výplní byly vrtáčky vyměněny za nové. Pro každý adhezivní systém a expoziční prostředí bylo náhodně vybráno 5-6 zubů, na kterých bylo vypreparováno 10-12 kavit. Celkem bylo pro tyto experimenty použito 192 zubů. Následně byl v souladu s návodem výrobce aplikován adhezivní systém. Přebytky adheziva na dně kavity byly odsáty vatovou peletkou. Po polymeraci adheziva byly kavity zaplněny kompozitním materiálem ve třech inkrementech tak, aby každý inkrement spojoval nejvýše dvě stěny kavity (obr. 3). Polymerace byla prováděna halogenovou lampou Elipar TriLight (3M ESPE, Německo), jejíž deklarovaný světelný výkon $800-850 \text{ mW/cm}^2$ byl pravidelně kontrolován ručním kalibrovaným radiometrem EVT 460 (Preciosa, Česká republika) (obr. 4). Po polymeraci byly výplně za chlazení vodou lehce zaleštěny brusným SiC papírem P1200 s velikostí částic 15 μm (Buehler, USA) na leštičce MetaServ 250 s hlavou Vector LC 250 (Buehler, USA) do roviny (obr. 5b). Tím bylo dosaženo přesně definovaného okraje výplní bez přesahů. Po dokončení byly výplně zdokumentovány digitálním fotoaparátem Olympus C5060, napojeným na stereomikroskop Nikon SMZ 2T (Nikon, Japonsko). Poté byly zkušební vzorky vloženy do expozičního prostředí.



Obr. 3 Pracovní postup přípravy zkušebních výplní: a) extrahovaný molár s vypreparovanou kavitou V. třídy, b) aplikace adhezivního systému, c) polymerace adheziva, d) zhotovení výplně, e) kavita po polymeraci, f) zbroušený povrch kavity do roviny, g-h) zkušební vzorek po aplikaci ochranného laku a vosku na povrch zubu mimo okolí výplně



Obr. 4 Polymerační lampy Elipar Trilight, 3M ESPE



a)



b)

Obr. 5 a) Pomaluběžná pila Isomet s diamantovým řezným kotoučem, b) laboratorní bruska a leštička MetaServ 250 s hlavou Vector LC 250 (vše Buehler, USA)

3.1.3 Zkušební prostředí

Výběr zkušebních prostředí byl veden snahou zahrnout do studie prostředí, s nimiž se lze v klinické praxi nejčastěji setkat a jejichž vliv na dlouhodobou odolnost adhezního spoje nebyl dostatečně prozkoumán, anebo zkoumán dosud nebyl. Prvním prostředím byl peroxidový bělicí gel. Dosavadní výsledky zaměřené na degradační účinek peroxidových bělicích přípravků ukázaly, že tento efekt nebyl zcela prozkoumán. Literární údaje dále upozornily na skutečnost, že výsledky zkoumání by mohly záviset i na použité metodě hodnocení degradace.

Srovnání výsledků získaných za identických podmínek metodou mikronetěsnosti a měřením pevnosti vazby by proto mohlo přispět k objasnění těchto rozporů. Skupinu prostředků používaných k prevenci zubního kazu nebo parodontálních onemocnění zastupovaly dvě ústní vody: jedna s obsahem fluoridů, druhá obsahující chlorhexidin. Složení použitých prostředků je uvedeno v tabulkách 4-6. Délka expozic jednotlivým prostředím byla zvolena 2 a 6 měsíců, v případě peroxidového bělicího gelu 25 expozičních cyklů po 8 hodinách. Kontrolní skupiny představovaly výplně exponované po dobu 24 hodin, dvou a šesti měsíců destilované vodě s přídavkem přibližně 100 ppm azidu sodného na 1 l roztoku pro zabránění mikrobiálního růstu. Všechny expozice probíhaly v termostatu při teplotě 37 °C.

3.1.3.1 Peroxidový bělicí gel

Modelovým systémem byl zvolen peroxidový bělicí gel Opalescence PF 20 % (Ultradent Inc, USA) s obsahem 20 % karbamid peroxidu (ekvivalent 6,6 % peroxidu vodíku, tab. 4), určený pro domácí bělení. Bělicí gel byl použit v první třetině své expirační doby a uložen v chladničce při 5 °C pro snížení rizika samovolného rozkladu peroxidu a tím změny jeho koncentrace v průběhu experimentu.

Tab. 4 Složení peroxidového bělicího gelu

Peroxidový bělicí gel		
Název	Výrobce	Složení
Opalescence PF 20	Ultradent Products Inc., South Jordan, Utah, USA	karbamid peroxid 20 hmotn. %, fluorid sodný 0,25 hm. % (0,11 hmot. % F ⁻ iontů), dusičnan draselný (3 hmotn. %), glycerin, Carbopol, aroma

Expozice sestávala z 25 osmihodinových aplikačních cyklů, uskutečněných pravidelně v průběhu dvou měsíců. Každý cyklus spočíval v nanesení přibližně 0,1 g bělicího gelu na okraj výplně. Zuby s gelem byly poté zabaleny do fólie Parafilm (Bemis Company Inc, USA) nepropustné pro vodu a uloženy v prostředí se 100 % relativní vlhkosti. Po 8 hodinách byl peroxidový gel opatrně odstraněn měkkým zubním kartáčkem pod proudem tekoucí vody a zuby uloženy až do další aplikace v destilované vodě. Na každý zub bylo použito 20 ml vody s obsahem přibližně 100 ppm azidu sodného.

3.1.3.2 Ústní voda s chlorhexidinem

Ústní voda Corsodyl (GlaxoSmithKline, Německo) s obsahem 0,2 % chlorhexidindigluconátu je antibakteriální roztok, který zastavuje tvorbu zubního plaku. Léčivá látka chlorhexidin působí proti široké škále bakterií, proti kvasinkám, některým plísním a virům, které způsobují infekční onemocnění a záněty v dutině ústní. V zubním lékařství se používá zejména jako doplňková léčba při onemocnění parodontu, k podpoře hojení po chirurgických zákrocích v dutině ústní a v situacích, kdy není možné důkladné čištění zubů kartáčkem. Expozice probíhaly v neředěném roztoku Corsodylu v množství 20 ml na jeden vzorek po dobu dvou a šesti měsíců. V průběhu expozice, po uplynutí jednoho až dvou týdnů, byly zuby opláchnuty pitnou a poté destilovanou vodou a roztok Corsodylu vyměněn za čerstvý.

Tab. 5 Složení ústní vody Corsodyl

Ústní voda s dezinfekčními vlastnostmi		
Název	Výrobce	Složení
Corsodyl	GlaxoSmithKline Consumer Healthcare GmbH & Co, KG, Herrenberg, Německo	Chlorhexidindigluconát 0,2 hmotn. %, etanol 95%, voda, hydrogenricinomakrogol, sílice máty peprné

3.1.3.3 Ústní voda s fluoridy

Pro expozici v ústní vodě byl zvolen přípravek Elmex (Gaba Int., Švýcarsko), doporučovaný pro prevenci zubního kazu. Účinnou látkou je aminfluorid (Olaflur) a fluorid sodný v koncentraci poskytující celkem 0,025 % fluoridových iontů. Experimentální uspořádání expozic bylo obdobné předchozí skupině. Expozice probíhaly v neředěném roztoku Elmexu

v množství 20 ml na jeden vzorek po dobu dvou a šesti měsíců. V průběhu expozice, po uplynutí jednoho až dvou týdnů, byly zuby opláchnuty pitnou a poté destilovanou vodou a roztok Elmexu vyměněn za čerstvý.

Tab. 6 Složení ústní vody Elmex

Ústní voda s fluoridy		
Název	Výrobce	Složení
Elmex	Gaba Int., Therwil, Švýcarsko	Olaflur (0,010 % F iontů), NaF (0,015 % F iontů), voda, PEG-40 hydrogenovaný ricinový olej, mentol, eukalyptový olej, anetol, acesulfam draselný polyaminopropylbiguanid, HCl

3.1.3.4 Kontrolní skupiny exponované v destilované vodě

Kontrolní skupiny tvořily vzorky připravené pomocí všech čtyř adhezivních systémů, exponované po dobu 24 hodin, dvou a šesti měsíců v destilované vodě s přidavkem azidu sodného o koncentraci 100 ppm na 1 l destilované vody pro zabránění mikrobiálního růstu. Destilovaná voda v množství 20 ml na jeden vzorek byla v pravidelných čtyř až pětidenních intervalech vyměňována.

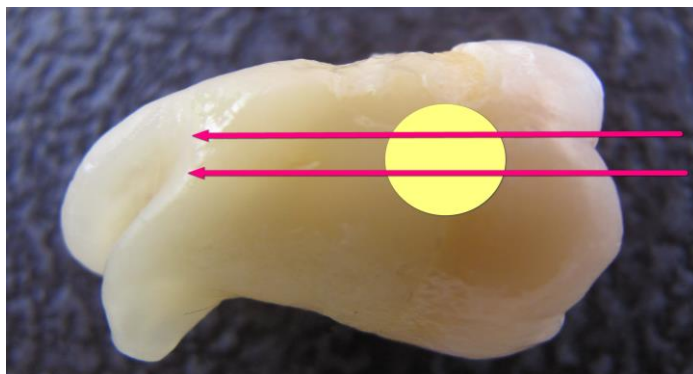
3.2 Hodnocení mikronetěsnosti

Po uplynutí expoziční doby nebo počtu aplikací bělicího gelu byly vzorky vyjmuty, opláchnuty pitnou a poté destilovanou vodou, fotodokumentovány a zpracovány pro hodnocení mikronetěsnosti. Tento postup sestával z uzavření apexů flow kompozitem Opticor Flow (SpofaDental, Česká republika) s použitím adheziva GLU a poté izolace zubu ochranným lakem na nehty ve dvou vrstvách a nakonec licím voskem s výjimkou okolí výplně v rozsahu 1 mm.

Po 24hodinové expozici 2% roztoku metylénové modři při teplotě 23 °C byly zuby fixovány v polyetylenových kroužcích samopolymerující metylmetakrylátovou pryskyřicí Spofacryl (SpofaDental, Česká republika) a v okluzo-cervikálním směru rozříznuty pomaluběžnou pilou

Isomet (obr. 5a) s diamantovaným řezným kotoučem s vodním chlazením (Buehler, USA) na tři části, se střední částí tloušťky přibližně 1,0 mm (obr. 6).

Jednotlivé části výplně byly lehce zabroušeny SiC papírem P1200 o velikosti brusných částic 15 μm a vyleštěny 6 μm diamantovou suspenzí Metadi II na Nylon polishing cloth (Buehler, USA). Vyleštění povrchu umožnilo přesnější kontrolu rozsahu průniku indikačního barviva okrajovým uzávěrem, indikujícím porušení adhezního spoje.



Obr. 6 Schéma řezů výplně pro sledování mikronetěsnosti

Průnik barviva podél kompozitní výplně byl vyhodnocován optickým stereomikroskopem Nikon SMZ 2T při 10-20násobném zvětšení na čtyřech plochách řezů pro sklovinný a dentinový okraj každé výplně. Pro oblast skloviny i dentinu byl použito pětistupňový skórovací systém (tab. 7, 8): 0-bez průniku barviva, 0,5-slabý průnik maximálně do 1/4 hloubky kavity, 1-průnik do 1/2 hloubky kavity, který na sklovinném okraji obvykle odpovídal průniku celou tloušťkou sklovinné vrstvy, 2-průnik do více než 1/2 hloubky kavity, 3-průnik až na dno kavity.

Tab. 7 Skórovací systém průniku barviva na sklovinné části výplně

Sklovina	
Skóre	Rozsah průniku barviva
skóre 0	bez průniku barviva
skóre 0,5	průnik nejvýše do 1/4 hloubky kavity, tj. obvykle do 1/2 tloušťky sklovinné vrstvy
skóre 1	průnik do 1/2 hloubky kavity, tj. celou vrstvou skloviny až k dentino-sklovinnému rozhraní
skóre 2	průnik přesahující 1/2 hloubky kavity, tj. podél celé vrstvy skloviny a dentinu, avšak nezasahující dno kavity
skóre 3	průnik podél celé výplně včetně dna kavity

Stejné skóre pro sklovinný a dentinový okraj bylo zvoleno proto, aby bylo možno porovnávat rozsah porušení adhezního spoje na obou rozhraních za stejných podmínek. Skóre 0,5, které se v literatuře často nezmiňuje, bylo v předložené práci použito proto, že klasická čtyřstupňová škála nedokáže dobře rozlišit mezi malým rozsahem penetrace barviva, zasahujícím jen část okraje výplně, kterému nelze přiřadit skóre 0, a skóre 1 je naopak příliš velké.

Tab. 8 Skórovací systém průniku barviva na dentinové části výplně

Dentin	
Skóre	Rozsah průniku barviva
skóre 0	bez průniku barviva
skóre 0,5	průnik nejvýše do 1/4 hloubky kavity
skóre 1	průnik do 1/2 hloubky kavity
skóre 2	průnik přesahující 1/2 hloubky kavity, avšak nezasahující její dno
skóre 3	průnik podél celé výplně včetně dna kavity

Hodnocení rozsahu průniku indikačního barviva bylo provedeno nezávisle třemi zacvičenými pracovníky. V případě rozdílů ve skóre byla vzata konsenzuální hodnota. Pro statistické zpracování byly použity vždy nejvyšší hodnoty skóre nalezené na sklovinném a dentinovém okraji výplni (Dejou, Sindres et al. 1996). V důsledku průniku indikačního barviva do oblastí adhezního spoje mimo oblast výplně, vymezenou ochranným lakem či v důsledku jiných defektů, bylo nutné z testovaných skupin obvykle 1-2 výplně vyřadit. Pro každou skupinu tak bylo získáno 9-12 hodnot skóre.

3.3 Statistické hodnocení

Pro statistické zpracování výsledků byly použity neparametrické testy. Kruskal-Wallisův test s mnohočetným porovnáváním sloužil k identifikaci signifikantních rozdílů mezi jednotlivými adhezivami v daném prostředí. Vliv prostředí na sklovinný a zvláště na dentinový okraj pro

jednotlivé adhezivní systémy byl analyzován Mann-Whitney U testy. Rozdíly v průniku barviva sklovinným a dentinovým okrajem byly pro každý adhezivní systém v jednotlivých prostředích analyzovány Wilcoxonovým párovým testem. Všechna statistická hodnocení byla provedena na hladině významnosti 0,05 s použitím softwaru Statistica 7.1 (StatSoft, USA).

3.4 SEM analýza povrchů

Elektronová mikroskopie (SEM) byla použita ve třech oblastech:

1. Při charakterizaci leptacích schopností použitých adhezivních systémů. Pro každý adhezivní systém postup spočíval v přípravě dvou až tří nezaplňených kavit, preparovaných obdobně, jako pro testy mikronetěsnosti. Nezaplňené kavity byly rozříznuty v buko-linguálním směru. Jedna polovina kavity byla ponechána jako kontrolní, na druhou část byl aplikován leptací gel, primer nebo adhezivní systém v souladu s návody výrobců (tab. 3). Gel kyseliny fosforečné byl důkladně opláchnut vodou, v případě SE adheziv byly nanesené složky po uplynutí doporučené doby důkladně opláchnuty acetonem, poté etanolem a nakonec vodou. Polymerace prováděna nebyla. Po vysušení na vzduchu byly ošetřené povrchy pokryty vrstvou zlata (Jeol JFC-1200 Fine Coater, Japonsko) a pozorovány elektronovým mikroskopem při vysokém vakuu (Jeol JSM 5500LV, Japonsko) (obr. 7).
2. Při hodnocení rozsahu průniku adheziva do struktury skloviny a dentinu. Tato měření umožňují charakterizovat nejenom schopnost adheziva vytvořit optimální mikroretenční reliéf, ale též jeho schopnost smáčet preparovaný povrch a kapilárními silami pronikat do struktury demineralizované skloviny a dentinu. Pro tyto experimenty byly z každého adhezivního systému vybrány dvě výplně po ukončených testech mikronetěsnosti, u nichž nedošlo k výraznějšímu průniku indikačního barviva okrajovým uzávěrem. Postupem dle Perdigao (Perdigao and Geraldini 2003) byly rozřezané části výplně po odečtu rozsahu průniku indikačního barviva ponořeny do 6 N kyseliny chlorovodíkové na 24 hodin, aby se rozpustily minerální složky zubních tkání. Následovalo 10minutové ponoření do 5% roztoku chlornanu sodného k odstranění organických částí kolagenu dentinu z povrchu kompozitního materiálu. Takto získané části kompozitní výplně byly opláchnuty v destilované vodě, očištěny v ultrazvukové lázni a po vysušení na vzduchu byl jejich povrch analyzován SEM za výše zmíněných podmínek.

3. Při analýze povrchů skloviny a kompozitních výplní, zhotovených s adhezivy ADP a IBO, mezi nimiž došlo k výraznému průniku indikačního barviva a tedy selhání adhezního spoje. Po vyhodnocení průniku indikačního barviva byly pro každou skupinu vybrány dva až tři reprezentativní vzorky, u nichž byla lehkým tlakem odlomena sklovina přiléhající ke kompozitní výplni. Oba takto získané povrchy, tedy přiléhající povrchy skloviny a kompozitní výplně, byly analyzovány SEM za výše zmíněných podmínek.



Obr. 7 Elektronový mikroskop Jeol (Jeol JSM 5500LV, Japonsko)

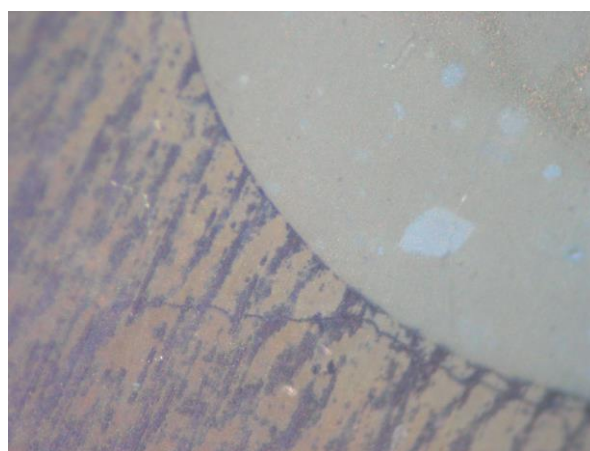
4. Výsledky

4.1 Hodnocení mikronetěsnosti

Typický obraz průniku indikačního barviva sklovinným a dentinovým okrajem kompozitní výplně V. třídy po expozici různým prostředím (obr. 8, 9). Průnik indikačního barviva sklovinným i dentinovým okrajem do poloviny hloubky kavity, hodnoceným skóre 1 je znázorněn na obr. 9a. Snímek 9b dokumentuje okraj kavity s velmi malým průnikem barviva a tudíž mírnou netěsností, hodnocenou skórem 0,5.



a)

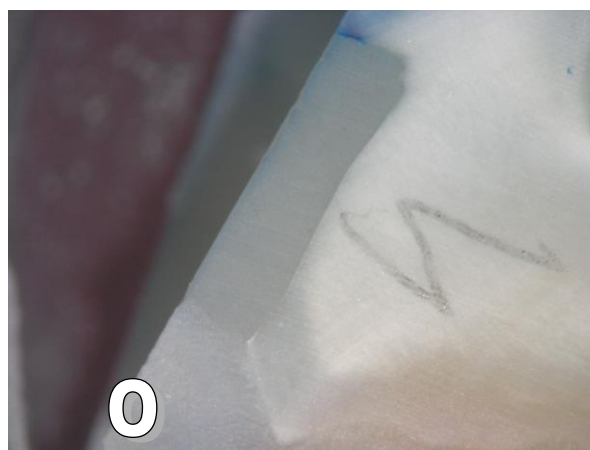


b)

Obr. 8 Okraj kompozitní výplně před zhotovením řezů: a) před, b) po expozici indikačnímu barvivu, adhezivum CLF, expozice 6 měsíců ústní vodě **Elmex**



a)



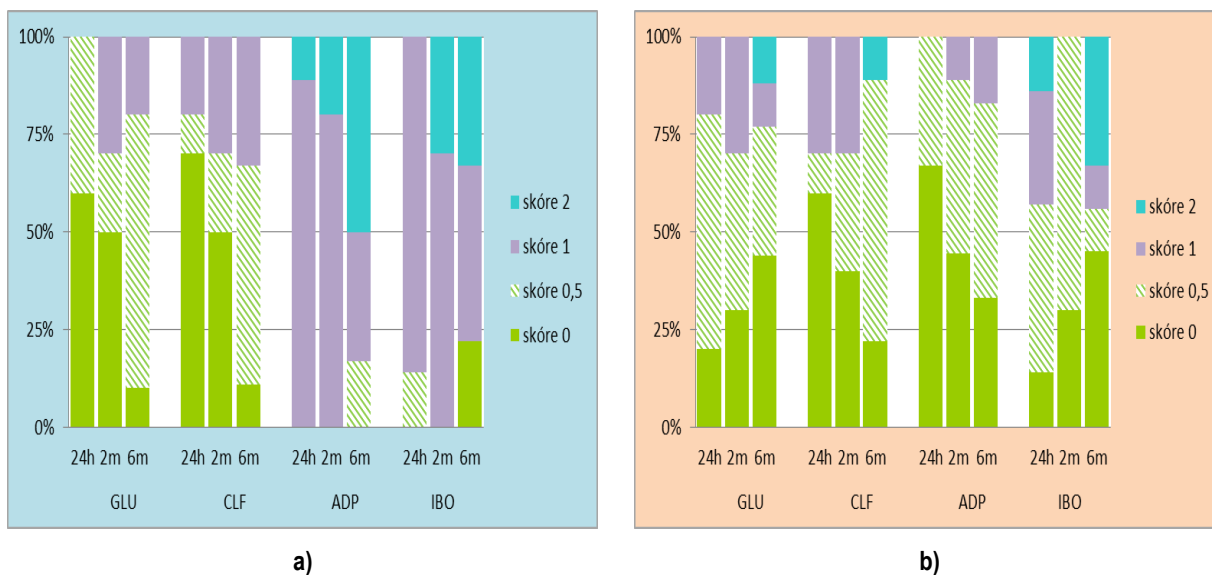
b)

Obr. 9 Řez výplně zhotovené z kompozitního materiálu Charisma a bondované adhezivem ADP: a) po 25 aplikacích **peroxidového bělicího gelu**. Patrný je průnik indikačního barviva po celé šířce sklovinné lišty na okluzní straně výplně (O), na cervikálním okraji je patrný minimální průnik odpovídající skóre 0,5, b) vzorek bondovaný stejným adhezivem po 2 měsících expozice ústní vodě **Elmex**, rozsah průniku barviva je výrazně menší, optický mikroskop, zvětšení 32 x

4.2 Vliv prostředí na mikronetěsnost

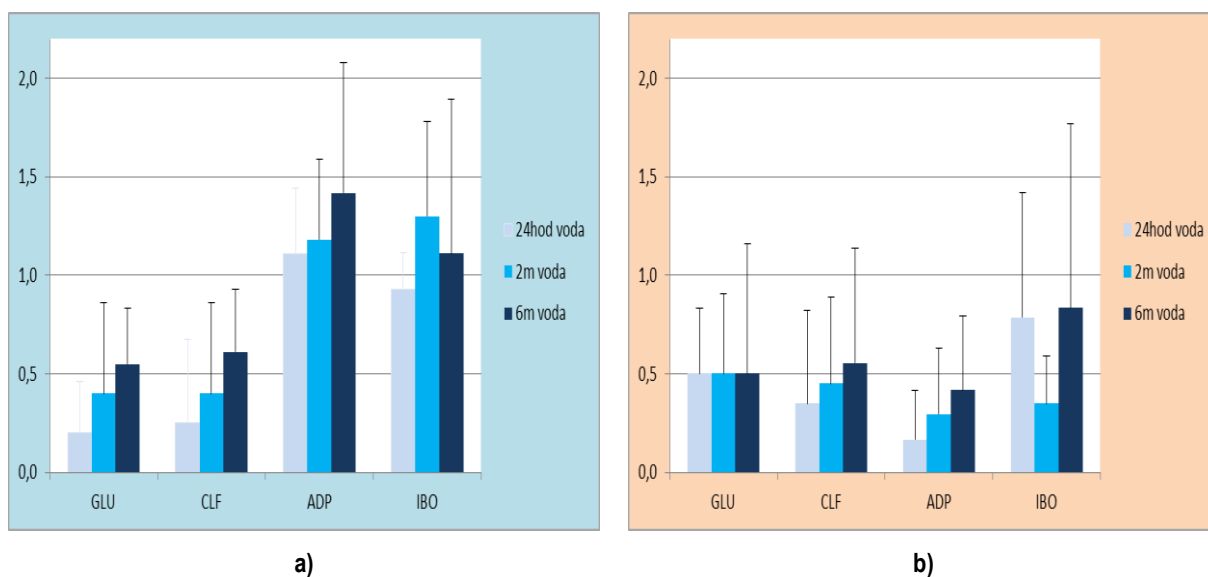
4.2.1 Destilovaná voda

Relativní četnosti skóre průniku indikačního barviva sklovinným a dentinovým okrajem výplní kontrolních skupin exponovaných po dobu 24 hodin, dvou a šesti měsíců v destilované vodě shrnuje pro jednotlivá adheziva obrázek 10. Ukazuje, že na sklovinném okraji byl u ER adheziva GLU a SE adheziva CLF vysoký podíl neporušených (skóre 0) nebo jen málo porušených (skóre 0,5) okrajů výplní. S délkou expozice však podíl zcela neporušených okrajů klesal. U SE adheziv ADP a IBO byl podíl neporušených okrajů výplní ve sklovině výrazně menší, což indikovalo jejich porušení. Na dentinovém okraji byl u všech adheziv podíl nepoškozených a málo poškozených výplní vysoký a v rámci rozptylu dat se pro jednotlivá adheziva a délku expozice výrazně nelišil. Tomuto chování odpovídaly i vypočtené průměrné hodnoty skóre průniku indikačního barviva (obr. 11). Z něho je zřejmé, že propustnost sklovinného okraje u GLU a CLF byla nižší, než v případě ADP a IBO a s výjimkou IBO po dvou měsících na sklovinném okraji mírně narůstala s délkou expozice. U GLU a CLF po 24hodinové a dvouměsíční expozici dosahovala průměrné hodnoty skóre menší než 0,5, indikující dobrou odolnost tohoto okraje. Naproti tomu u ADP a IBO průměrná skóre vzrostla na hodnoty převyšující 1,0, což naznačuje porušení vazby v rozsahu celé tloušťky skloviny. Propustnost dentinového okraje výplní byla u GLU, CLF a ADP na úrovni průměrného skóre 0,5, pouze propustnost IBO tuto hodnotu mírně přesahovala. Výsledky statistického hodnocení vlivu délky expozice, typu adheziva a rozdílů v propustnosti sklovinného a dentinového okraje jsou shrnuty v tabulkách 9 a 10. Nárůst propustnosti okrajů výplně s délkou expozice, pozorovaný u některých adheziv, signifikantní nebyl (tab. 9). Tyto výsledky lze interpretovat tak, že po poškození adhezního spoje během prvních 24 hodin od zhotovení výplní k jeho dalšímu porušování v časovém intervalu šesti měsíců nedochází. Pro následné statistické hodnocení vlivu adhezivního systému a hodnocení rozdílů v propustnosti sklovinného a dentinového okraje výplní byly proto hodnoty skóre získané pro různou dobu expozice jednotlivých adhezivních systémů sloučeny.



Obr. 10 Relativní četnost jednotlivých hodnot skóre průniku indikačního barviva (v %) rozhraním mezi zubními tkáněmi a kompozitními výplněmi zhotovenými s různými adhezivními systémy po expozici **destilované vodě**, délka expozice 24 hodin (24h), 2 (2m) a 6 (6m) měsíců: a) sklovinný, b) dentinový okraj výplně

Výsledky analýz s takto sloučenými daty (tab. 9) ukazují, že propustnost sklovinného okraje byla pro SE adheziva ADP a IBO statisticky vyšší, než pro ER adhezivum GLU a SE adhezivum CLF a to s nízkou hodnotou statistické signifikance ($p < 0,0001$), která svědčila o vysoké míře pravděpodobnosti tohoto závěru. Naproti tomu na dentinovém okraji (tab. 10) rozdíly v propustnosti okrajového uzávěru výplní zhotovených s různými adhezivy významné nebyly. Zajímavé bylo srovnání propustnosti sklovinného a dentinového okraje (tab. 10), které ukazuje, že pro GLU a CLF je odolnost obou okrajů výplní přibližně stejná, zatímco propustnost sklovinného okraje výplní bondovaných ADP a IBO byla signifikantně vyšší ($p < 0,0001$; 0,003), než propustnost okraje v dentinu.



Obr. 11 Průměrné skóre a směrodatná odchylka průniku indikačního barviva rozhraním mezi zubními tkáněmi a kompozitními výplněmi zhotovenými s různými adhezivními systémy po expozici **destilované vodě**, délka expozice 24 hodin (24h), 2 (2m) a 6 (6m) měsíců: a) sklovinný, b) dentinový okraj výplně

Tab. 9 Vliv délky expozice a typu adhezivního systému na rozsah průniku indikačního barviva (průměrné skóre±směrodatná odchylka) sklovinným okrajem výplně. Zkušební prostředí **destilovaná voda**. Statistické hodnocení Kruskal-Wallisův test, $p=0,05$

NS – nesignifikantní rozdíly, červeně – statisticky významné rozdíly a vypočtená statistická významnost

Adhezivum	Sklovina				
	24 hodin	2 měsíce	6 měsíců	Vliv délky expozice	Vliv adheziva
GLU	0,20±0,26	0,40±0,46	0,55±0,28	NS	NS
CLF	0,25±0,42	0,40±0,46	0,61±0,33	NS	NS
ADP	1,11±0,33	1,20±0,42	1,42±0,67	NS	0,0001
IBO	0,94±0,17	1,30±0,48	1,11±0,78	NS	0,0001

Tab. 10 Vliv délky expozice a typu adhezivního systému na rozsah průniku indikačního barviva (průměrné skóre±směrodatná odchylka) dentinovým okrajem výplně. Zkušební prostředí **destilovaná voda**. Statistické hodnocení Kruskal-Wallisův test, porovnání propustnosti sklovinným a dentinovým okrajem výplně Wilcoxonovým párovým testem, $p=0,05$

NS – nesignifikantní rozdíly, červeně – statisticky významné rozdíly a vypočtená statistická významnost

Adhezivum	Dentin					Srovnání sklovinného a dentinového okraje po expozici destilované vodě
	24 hodin	2 měsíce	6 měsíců	Vliv délky expozice	Vliv adheziva	
GLU	0,50±0,30	0,50±0,40	0,50±0,70	NS	NS	NS
CLF	0,35±0,47	0,45±0,44	0,55±0,58	NS	NS	NS
ADP	1,17±0,25	0,30±0,35	0,42±0,38	NS	NS	0,0001
IBO	0,67±0,61	0,35±0,24	0,83±0,94	NS	NS	0,003

4.2.2 Peroxidový bělicí gel

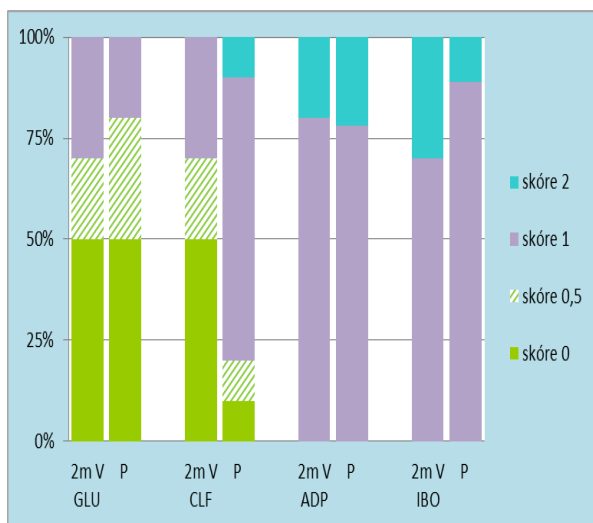
Výsledky hodnocení průniku indikačního barviva sklovinným a dentinovým okrajem výplní po expozici bělicímu gelu v porovnání s kontrolní skupinou po dvou měsících expozice destilované vodě jsou uvedeny na obrázcích 12 a 13.

Ukazují, že po aplikaci bělicího gelu došlo u všech adheziv s výjimkou CLF na sklovinném okraji jen k mírným změnám v rozdělení četnosti skóre a jejich průměrných hodnot na sklovinném i dentinovém okraji výplní v porovnání s kontrolní skupinou exponovanou ve vodě po dobu dvou měsíců, během nichž expozice bělicímu gelu probíhala.

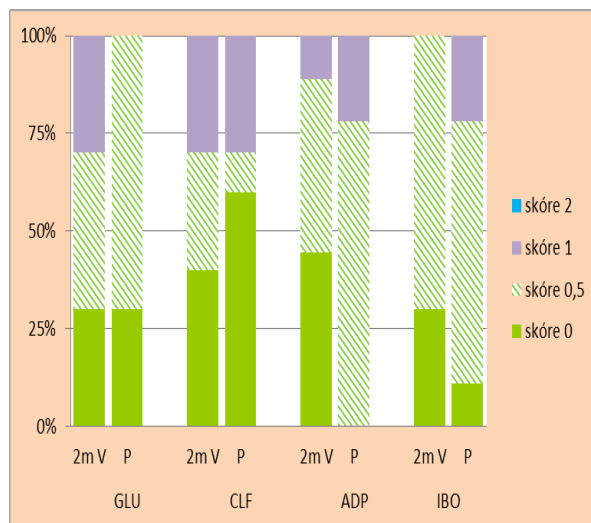
Tyto výsledky potvrdila i statistická analýza (tab. 11), indikující po aplikaci bělicího gelu signifikantní nárůst propustnosti pouze u CLF. Avšak signifikance ($p < 0,02$), která byla blízko kritické hodnoty $p = 0,05$ nedovoluje jednoznačné přijetí či odmítnutí testované hypotézy, nedovoluje jednoznačné přijetí tohoto závěru.

Aplikace bělicího gelu nepřinesla ani zásadní změny propustnosti sklovinného okraje ve srovnání s dentinovým okrajem výplní (tab. 11). Propustnost sklovinného a dentinového okraje u GLU byla přibližně stejná, u ADP i po aplikaci bělicího gelu jednoznačně ($p < 0,008$) převažovala propustnost sklovinného okraje nad okrajem dentinovým.

Podobné chování bylo nalezeno i pro IBO, avšak oproti expozici vodě s poklesem signifikance rozdílů mezi sklovinným a dentinovým okrajem ($p < 0,02$). U CLF nárůst propustnosti sklovinného okraje naznačoval porušení vazby ke sklovině a tudíž i menší odolnost tohoto okraje oproti dentinovému. Hodnota statistické významnosti $p < 0,045$ však ani v tomto případě nedovoluje vyslovit jednoznačný závěr.

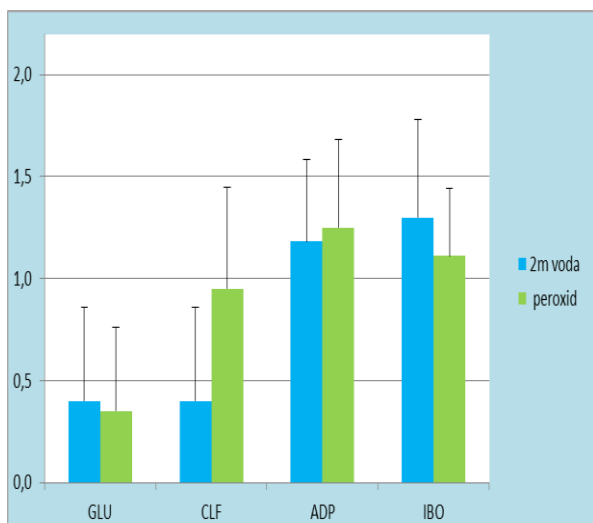


a)

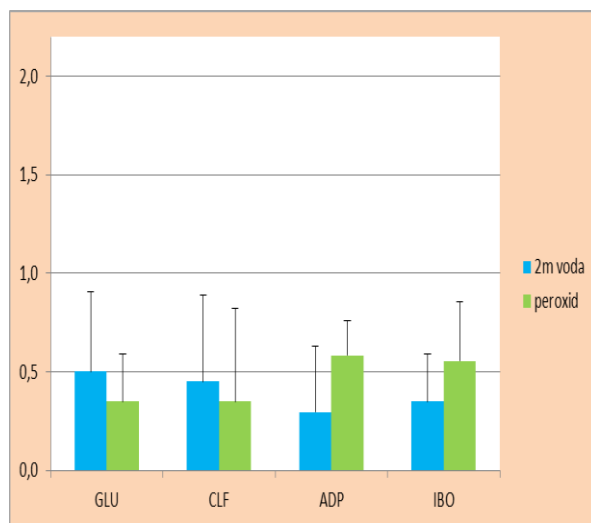


b)

Obr. 12 Relativní četnost jednotlivých hodnot skóre průniku indikačního barviva (v %) rozhraním mezi zubními tkáněmi a kompozitními výplněmi zhotovenými s různými adhezivními systémy po 25 aplikacích **peroxidového bělicího gelu** (P) v porovnání s expozicí destilované vodě (V) po dobu 2 měsíců: a) sklovinný, b) dentinový okraj výplně



a)



b)

Obr. 13 Průměrné skóre a směrodatná odchylka průniku indikačního barviva rozhraním mezi zubními tkáněmi a kompozitními výplněmi zhotovenými s různými adhezivními systémy po 25 aplikacích **peroxidového bělicího gelu** v porovnání s expozicí destilované vodě po dobu 2 měsíců: a) sklovinný, b) dentinový okraj výplně

Tabulka 11. Rozsah průniku (průměr±směrodatná odchylka) indikačního barviva sklovinným a dentinovým okrajem výplní po 25 aplikacích **peroxidového bělicího gelu** v porovnání s destilovanou vodou po 2 měsících expozice, statistické hodnocení Mann-Whitneyho test, porovnání propustnosti sklovinného a dentinového okraje Wilcoxonovým párovým testem, $p=0,05$

NS – nesignifikantní rozdíly, červeně – statisticky významné rozdíly a vypočtená statistická významnost

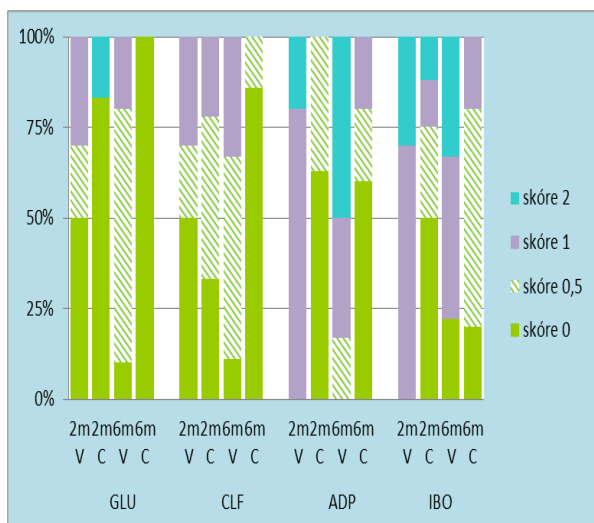
Adhezivum	Sklovina			Dentin			Srovnání sklovinného a dentinového okraje po expozici bělicímu gelu
	Voda [2 měsíce]	Bělicí gel [25 aplikací]	Srovnání bělicí gel - voda	Voda [2 měsíce]	Bělicí gel [25 aplikací]	Srovnání bělicí gel - voda	
GLU	0,40±0,46	0,38±0,41	NS	0,50±0,4	0,43±0,34	NS	NS
CLF	0,40±0,46	0,95±0,50	0,02	0,45±0,44	0,35±0,47	NS	0,045
ADP	1,20±0,42	1,33±0,50	NS	0,30±0,35	0,61±0,22	NS	0,008
IBO	1,30±0,48	1,11±0,33	NS	0,35±0,24	0,55±0,30	NS	0,02

4.2.3 Ústní voda s chlorhexidinem (Corsodyl)

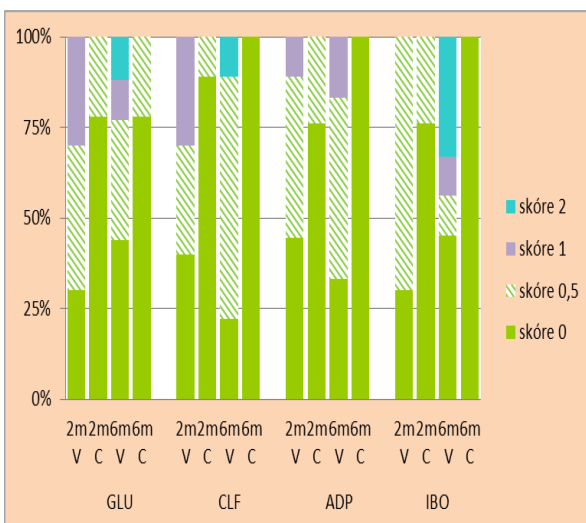
Obrázky 14 a 15 dokumentují překvapivé chování adhezních spojů po expozici tomuto dezinfekčním přípravku. U většiny adheziv propustnost zejména sklovinného, ale i dentinového okraje výplní ve srovnání s kontrolními skupinami exponovanými ve vodě výrazně klesala (tab. 12). To je patrné zejména u ADP a IBO, u nichž byl na sklovinném okraji pozorován výrazně vyšší podíl skóre 0 a 0,5 (obr. 14). V důsledku nízkých hodnot skóre jednotlivých výplní klesla i jejich průměrná hodnota: u ADP po dvou a šesti měsících na 0,19 a 0,13, u IBO na 0,50 a 0,50, zatímco ve vodě průměrné skóre na sklovině dosahovalo pro obě adheziva hodnot 1,11-1,42 (obr. 15, tab. 12). Pokles propustnosti sklovinného okraje, byť ne tak výrazný jako u ADP a IBO, byl zaznamenán i u výplní bondovaných GLU po 2 a 6 měsících a CLF po 6 měsících expozice (tab. 12). K poklesu propustnosti došlo s výjimkou ADP po 2 měsících i na dentinovém okraji (tab. 12). Z tabulky 12 je dále patrné, že propustnost okrajů výplně se snižovala i s délkou expozice této ústní vodě.

Statistická analýza toto chování potvrdila (tab. 12, 13). V porovnání s kontrolní skupinou exponovanou ve vodě byla propustnost sklovinného okraje signifikantně nižší a to s velmi nízkými hodnotami statistické signifikance. Pro GLU a CLF po 6 měsících dosahovala statistická signifikance hodnot ($p < 0,0003$; $< 0,005$), pro ADP a IBO po 2 měsících expozice ($p < 0,0002$; $p < 0,01$), což ukazuje na významný vliv tohoto prostředí na propustnost adhezního spoje. Pokles propustnosti sklovinného okraje byl signifikantní i pro ADP po 6 měsících a IBO po 2 i 6 měsících expozice, avšak s vyšší hodnotou statistické signifikance ($p < 0,02$ pro ADP), ($p < 0,05$ pro IBO). Na dentinovém okraji došlo k jednoznačnému poklesu propustnosti na okraji výplní zhotovených s adhezivou CLF a IBO po 6 měsících ($p < 0,004$; $p < 0,01$) a po 2 měsících u CLF ($p < 0,03$) a 6 měsících pro ADP ($p < 0,04$), avšak s nižší úrovní signifikance. Nízká statistická signifikance ($p < 0,04$) byla nalezena i pro faktor délky expozice, kdy s délkou expozice propustnost signifikantně klesala pouze u výplní zhotovených CLF na sklovině (tab. 13).

Porovnání propustnosti sklovinného a dentinového okraje výplní pak ukazuje, že kromě CLF po dvou měsících s nepřesvědčivou signifikancí ($p < 0,04$) a IBO po šesti měsících ($p < 0,01$) se odolnost obou okrajů vyrovnává (tab. 13).

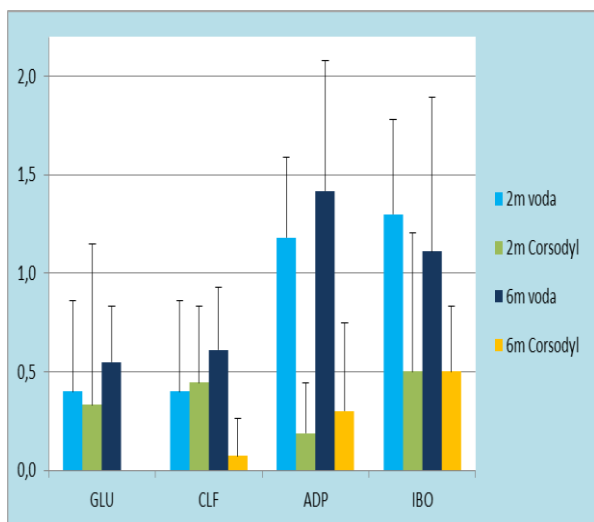


a)

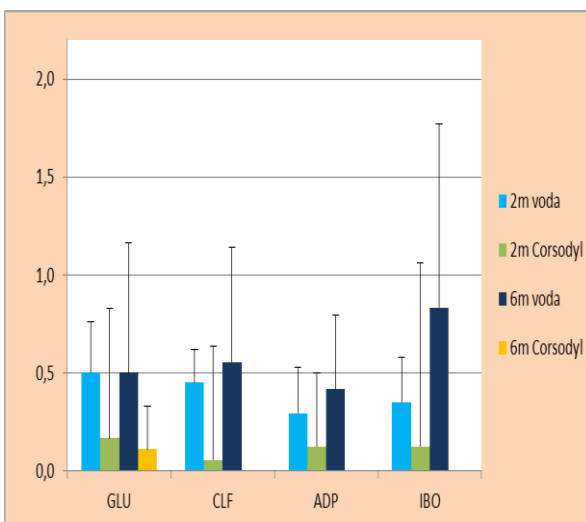


b)

Obr. 14 Relativní četnost jednotlivých hodnot skóre průniku indikačního barviva (v %) rozhraním mezi zubními tkáněmi a kompozitními výplněmi zhotovenými s různými adhezivními systémy po expozici ústní vodě **Corsodyl** (C) v porovnání s expozicí destilované vodě (V) po dobu 2 a 6 měsíců: a) sklovinný, b) dentinový okraj výplně



a)



b)

Obr. 15 Průměrné skóre a směrodatná odchylka průniku indikačního barviva rozhraním mezi zubními tkáněmi a kompozitními výplněmi zhotovenými s různými adhezivními systémy po expozici ústní vodě **Corsodyl** v porovnání s expozicí destilované vodě, délka expozice 2 a 6 měsíců: a) sklovinný okraj, b) dentinový okraj výplně

Tab. 12 Rozsah průniku indikačního barviva (průměrné skóre±směrodatná odchylka) sklovinným a dentinovým okrajem výplně po expozici ústní vodě Corsodyl v porovnání s destilovanou vodou, délka expozice 2 a 6 měsíců, statistické hodnocení Mann-Whitney test, p=0,05.
NS – nesignifikantní rozdíly, červeně – statisticky významné rozdíly a vypočtená statistická významnost

Adhezivum	Délka expozice [měsíce]	Sklovina			Dentin		
		Voda	Corsodyl	Srovnání Corsodyl - voda	Voda	Corsodyl	Srovnání Corsodyl-voda
GLU	2 m	0,40±0,46	0,33±0,82	NS	0,50±0,41	0,17±0,26	NS
	6 m	0,55±0,28	0±0	0,0003	0,50±0,66	0,11±0,22	NS
CLF	2 m	0,40±0,46	0,44±0,39	NS	0,45±0,44	0,03±0,17	0,03
	6 m	0,61±0,33	0,07±0,19	0,005	0,56±0,58	0±0	0,004
ADP	2 m	1,20±0,42	0,19±0,26	0,0002	0,30±0,35	0,30±0,45	NS
	6 m	1,42±0,67	0,13±0,23	0,02	0,42±0,38	0±0	0,04
IBO	2 m	1,30±0,48	0,50±0,71	0,01	0,35±0,24	0,13±0,23	NS
	6 m	1,11±0,78	0,50±0,33	0,05	0,83±0,94	0±0	0,01

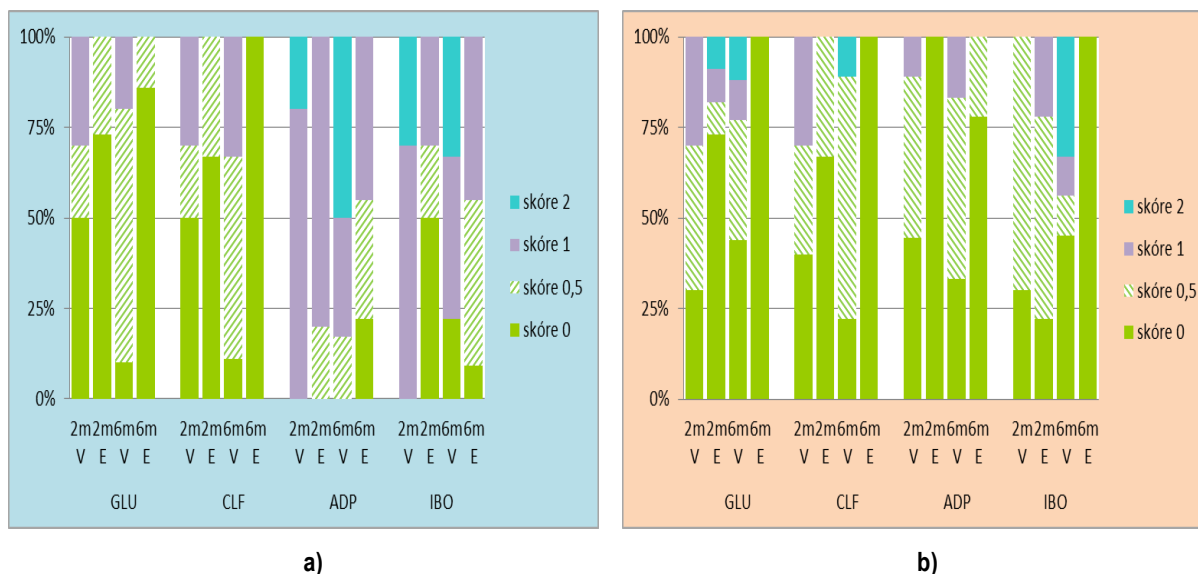
Tab. 13 Rozsah průniku indikačního barviva (průměrné skóre±směrodatná odchylka) sklovinným a dentinovým okrajem výplní po expozici ústní vodě **Corsodyl** v porovnání s destilovanou vodou, délka expozice 2 a 6 měsíců, statistické hodnocení Mann-Whitney test, porovnání propustnosti sklovinného a dentinového okraje výplní Wilcoxonovým párovým testem, $p=0,05$.

NS – nesignifikantní rozdíly, červeně – statisticky významné rozdíly a vypočtená statistická významnost

Adhezivum	Délka expozice [měsíce]	Sklovina		Dentin		Srovnání sklovinného a dentinového okraje
		Skóre	Srovnání 6 m - 2 m	Skóre	Srovnání 6 m - 2 m	
GLU	2 m	0,33±0,82	NS	0,17±0,26	NS	NS
	6 m	0±0		0,11±0,22		NS
CLF	2 m	0,44±0,39	0,04	0,06±0,17	NS	0,04
	6 m	0,07±0,19		0±0		NS
ADP	2 m	0,19±0,26	NS	0,30±0,45	NS	NS
	6 m	0,13±0,23		0±0		NS
IBO	2 m	0,50±0,71	NS	0,13±0,23	NS	NS
	6 m	0,50±0,33		0±0		0,01

4.2.4 Ústní voda s fluoridy (Elmex)

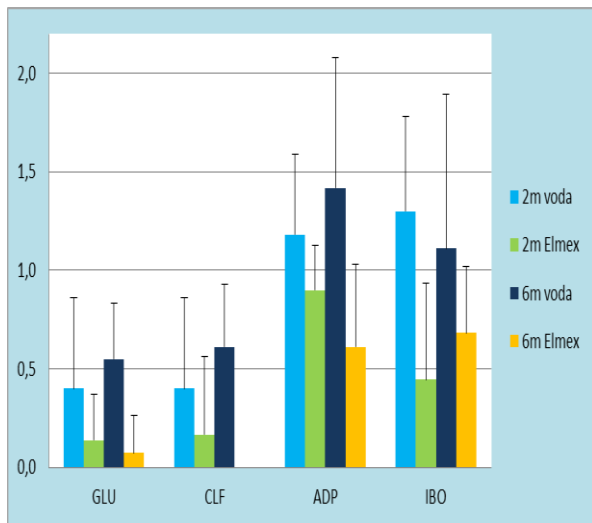
Výsledky získané pro ústní vodu Elmex byly velmi podobné chování adhezivního spoje po expozici Corsodylu. To znamená, že propustnost sklovinného, ale i dentinového okraje výplně ve srovnání s kontrolními skupinami exponovanými ve vodě výrazně klesla (obr. 16, 17).



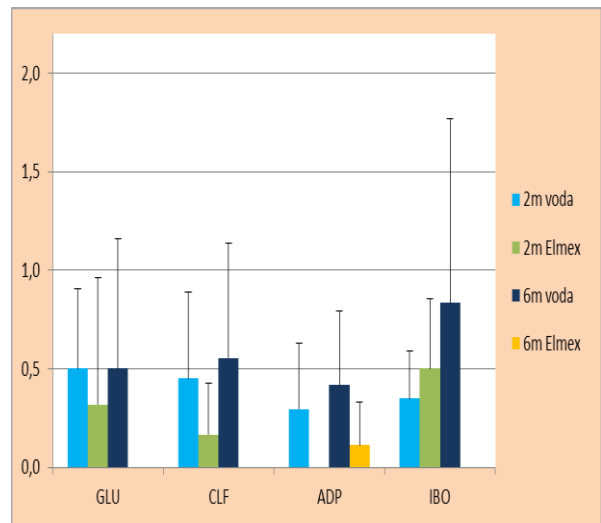
Obr.16 Relativní četnost jednotlivých hodnot skóre průniku indikačního barviva (v %) rozhraním mezi zubními tkáněmi a kompozitními výplněmi zhotovenými s různými adhezivními systémy po expozici ústní vodě *Elmex* (E) v porovnání s expozicí destilované vodě (V) po dobu 2 a 6 měsíců: a) sklovinný, b) dentinový okraj výplně

Statistická významnost poklesu propustnosti proti kontrolní skupině exponované v destilované vodě (tab. 14) byla nalezena u GLU a CLF po 6 měsících expozice ($p < 0,002$ a $p < 0,0002$) pro sklovinný a ($p < 0,01$ a $p < 0,0006$) dentinový okraj. U ADP a IBO byl signifikantní pokles nalezen pouze na sklovinném okraji: pro ADP po 6 měsících, avšak s nepřesvědčivou signifikancí ($p < 0,04$), u IBO po 2 měsících naopak s výraznou signifikancí $p < 0,005$ (tab. 14).

U řady skupin byl zaznamenán i pokles propustnosti okrajů výplně s délkou aplikace tohoto přípravku (tab. 15). Signifikantní však tento faktor nebyl. Porovnání propustnosti sklovinného proti dentinovému okraji výplně (tab. 15) pak ukazuje, že expozice tomuto přípravku vedla k vyrovnání propustnosti sklovinného a dentinového okraje především u IBO, kde statistické rozdíly v propustnosti obou okrajů signifikantní již nebyly. K vyrovnávání propustnosti obou okrajů výplně docházelo i u ADP, byť mírná signifikance ($p < 0,04$) odlišné chování obou okrajů naznačovala (tab. 15).



a)



b)

Obr. 17 Průměrné skóre a směrodatná odchylka průniku indikačního barviva rozhraním mezi zubními tkáněmi a kompozitními výplněmi zhotovenými s různými adhezivními systémy po expozici ústní vodě **Elmex** v porovnání s expozicí destilované vodě, délka expozice 2 a 6 měsíců: a) sklovinný okraj, b) dentinový okraj výplně

Tab. 14 Rozsah průniku indikačního barviva (průměrné skóre±směrodatná odchylka) sklovinným a dentinovým okrajem výplní po expozici ústní vodě **Elmex** v porovnání s destilovanou vodou, délka expozice 2 a 6 měsíců, statistické hodnocení Mann-Whitney test, $p=0,05$
 NS – nesignifikantní rozdíl, červeně – statisticky významné rozdíl a vypočtená statistická významnost

Adhezivum	Délka expozice [měsíce]	Sklovina			Dentin		
		Voda	Elmex	Srovnání Elmex - voda	Voda	Elmex	Srovnání Elmex - voda
GLU	2 m	0,40±0,46	0,14±0,24	NS	0,50±0,41	0,32±0,64	NS
	6 m	0,55±0,28	0,07±0,19	0,002	0,50±0,66	0±0	0,01
CLF	2 m	0,40±0,46	0,17±0,26	NS	0,45±0,44	0,17±0,26	NS
	6 m	0,61±0,33	0±0	0,0002	0,56±0,58	0±0	0,0006
ADP	2 m	1,20±0,42	0,90±0,22	NS	0,30±0,35	0±0	NS
	6 m	1,42±0,67	0,61±0,42	0,04	0,42±0,38	0,11±0,22	NS
IBO	2 m	1,30±0,48	0,44±0,53	0,005	0,35±0,24	0,50±0,35	NS
	6 m	1,11±0,78	0,68±0,34	NS	0,83±0,94	0±0	NS

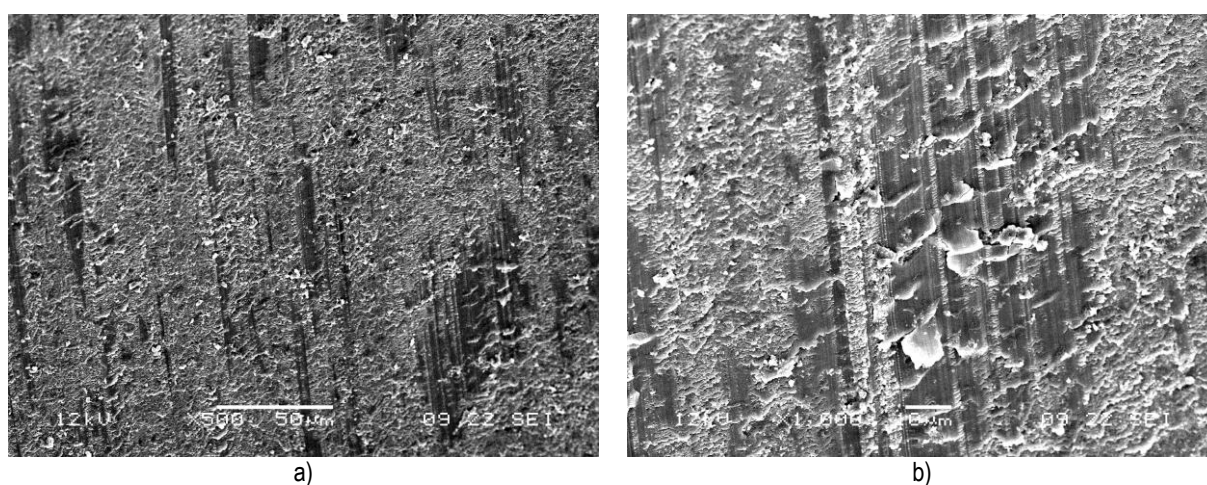
Tab. 15 Rozsah průniku indikačního barviva (průměrné skóre±směrodatná odchylka) sklovinným a dentinovým okrajem výplně po expozici ústní vodě **Elmex** v porovnání s destilovanou vodou, délka expozice 2 a 6 měsíců, statistické hodnocení Mann-Whitney test, porovnání propustnosti sklovinného a dentinového okraje výplně Wilcoxonovým párovým testem, $p=0,05$

NS – nesignifikantní rozdíly, červeně – statisticky významné rozdíly a vypočtená statistická významnost

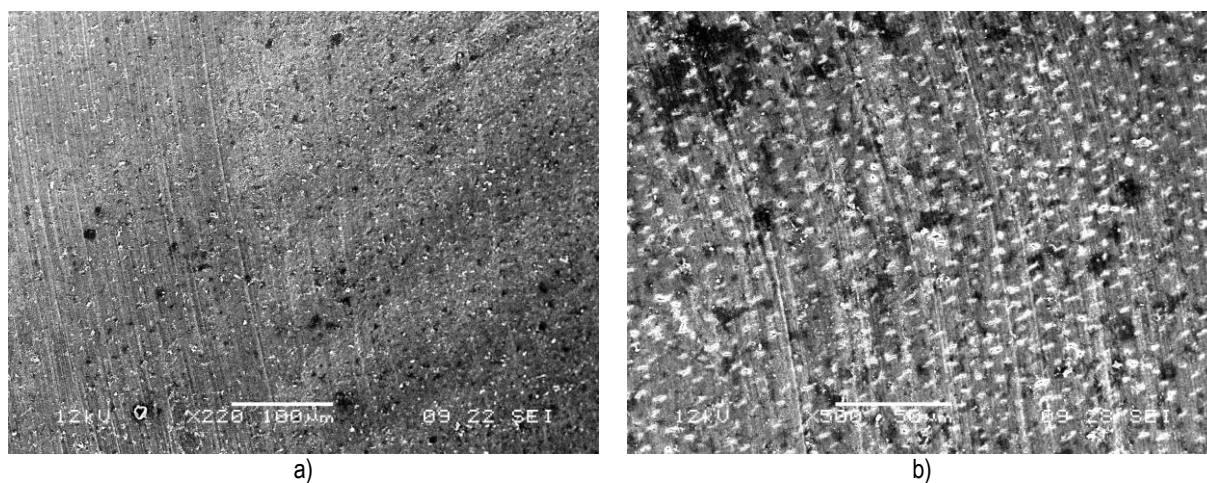
Adhezivum	Délka expozice [měsíce]	Sklovina		Dentin		Srovnání sklovinného a dentinového okraje
		Skóre	Srovnání 6 m - 2 m	Skóre	Srovnání 6 m - 2 m	
GLU	2 m	0,14±0,24	NS	0,32±0,64	NS	NS
	6 m	0,07±0,19		0±0		NS
CLF	2 m	0,17±0,26	NS	0,17±0,26	NS	NS
	6 m	0±0		0±0		NS
ADP	2 m	0,90±0,22	NS	0±0	NS	0,04
	6 m	0,61±0,42		0,11±0,22		0,04
IBO	2 m	0,44±0,53	NS	0,50±0,35	NS	NS
	6 m	0,68±0,34		0±0		NS

4.3 SEM analýza

Obrázky 18 a 19 ukazují povrch skloviny a dentinu po preparaci kavity. Na obou zubních tkáních je patrná „smear layer“, na sklovině se zřetelnými rýhami po preparačním nástroji a drobnými trhlinkami napříč směru pohybu řezného nástroje, dobře viditelnými při větším zvětšení. Na dentinu po preparaci ostrým tvrdokovovým vrtáčkem jsou pod „smear layer“ zřetelná ústí dentinových tubulů.



Obr. 18 Povrch skloviny na stěně kavity po preparaci: a) zvětšení 500 x, b) 1000 x, SEM



Obr. 19 Povrch dentinu po preparaci: a) zvětšení 220 x, b) 500 x, SEM

4.3.1 Hodnocení leptacích schopností adheziv

Po aplikaci 20% gelu kyseliny fosforečné systému GLU, primeru CLF, směsi primeru a bondu systému ADP došlo k odstranění „smear layer“, a tím k odhalení prizmatické struktury skloviny a otevření ústí dentinových tubulů na povrchu dentinu (obr. 20a-c). Přetrvávající výrazné rýhy po preparaci a ne zcela homogenní proleptání sklovinných prizmat v celé ploše vzorku po aplikaci primeru CLF (obr. 20b) naznačovalo jeho nižší demineralizační účinnost než u ADP a Gluma Etch 20 Gel.

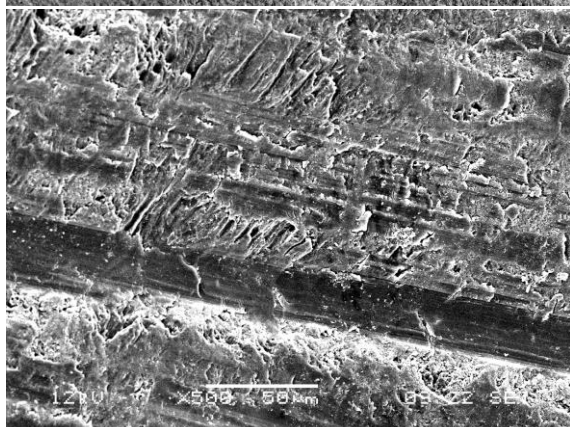
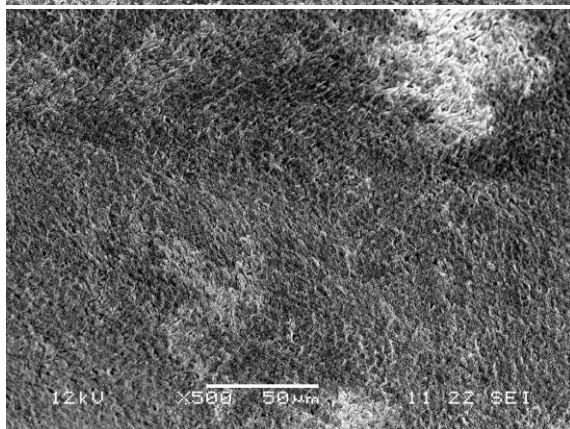
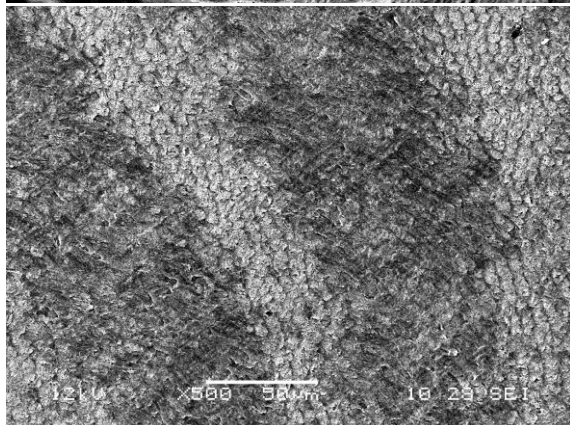
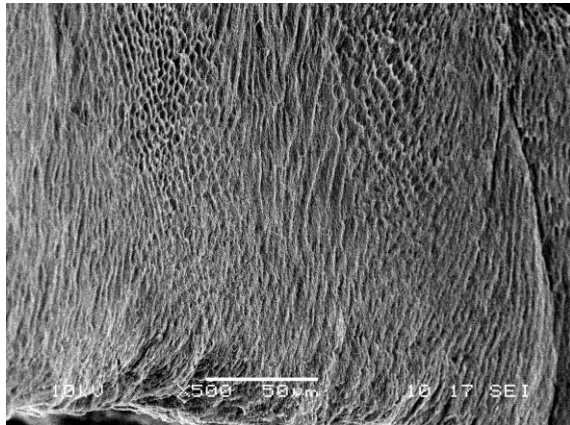
Výrazně nízká demineralizační schopnost však byla pozorována u IBO (obr. 20d), po jehož aplikaci zůstal povrch skloviny pokryt „smear layer“ se zřetelnými rýhami po preparačním nástroji. K úplnému odstranění „smear layer“ nedošlo ani na dentinu, na jehož povrchu jsou patrné pouze náznaky ústí dentinových tubulů.

4.3.2 Penetrační vlastnosti adheziv

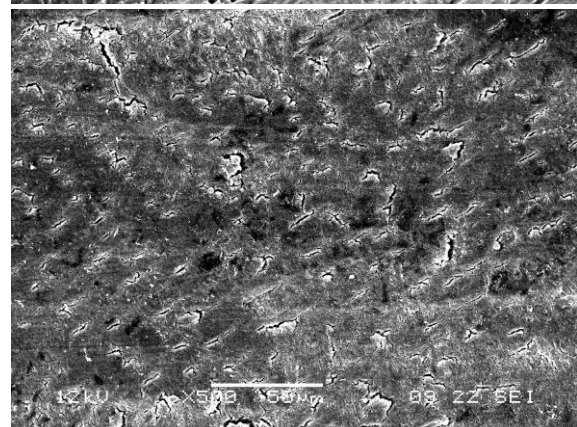
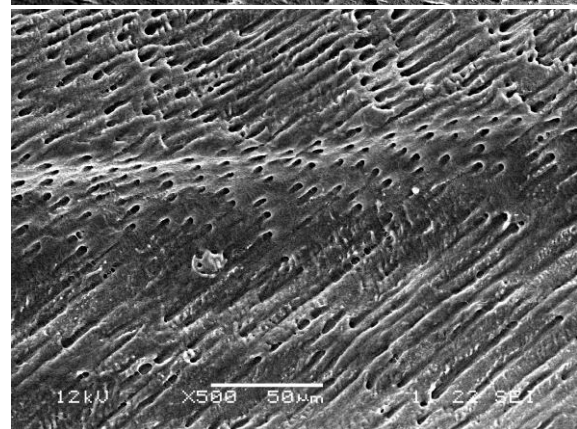
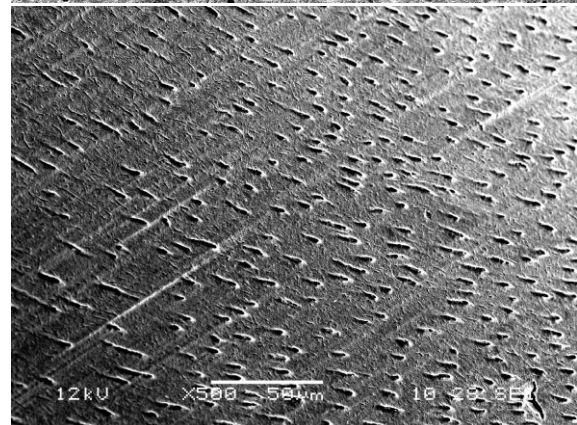
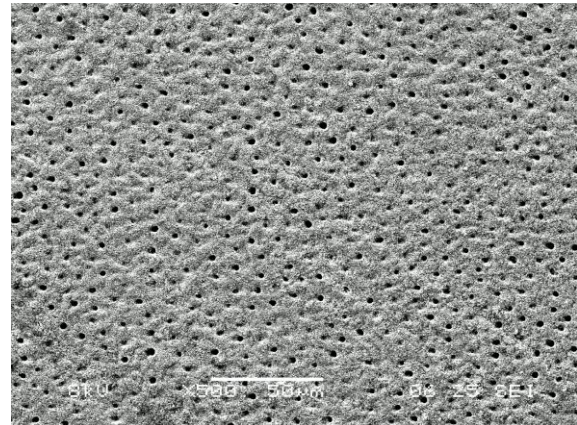
Obrázky 21-23 ukazují povrchy kompozitních výplní po odstranění přilehlých tvrdých zubních tkání kyselinou chlorovodíkovou a chlornanem sodným. Účelem tohoto experimentu bylo charakterizovat schopnost jednotlivých adhezivních systémů nejenom vytvářet mikroretenční reliéf na povrchu tvrdých zubních tkání odstraněním či modifikací „smear layer“, ale pronikat i do jejich struktury. U GLU (obr. 21a) na sklovině byly patrné dobře vyvinuté pryskyřičné tagy, zasahující hluboko do interprizmatických prostorů. Na dentinu byly pozorovatelné dlouhé pryskyřičné tagy, orientované podél stěny kavity, vznikající zaplněním dentinových tubulů vazebnými monomery. Velmi dobře byly viditelné i četné ramifikace. Tento obraz je typický pro adhezivní systémy s velmi dobrými adhezními vlastnostmi a potvrzuje nalezenou odolnost okrajového uzávěru výplní zhotovených s tímto adhezivním systémem.

U CLF a ADP (obr. 21b, c), byly pryskyřičné tagy na části výplně v kontaktu se sklovinou méně výrazné. Naopak na dentinu byly pryskyřičné tagy dobře vyvinuté, což svědčí o kvalitní penetraci těchto adheziv do struktury kondicionovaného dentinu. Zcela odlišná byla morfologie povrchů kompozitních výplní bondovaných IBO (obr. 21d), postrádajících jak prizmatický reliéf skloviny, tak i zřetelné pryskyřičné tagy na dentinovém povrchu.

Sklovina



Dentin



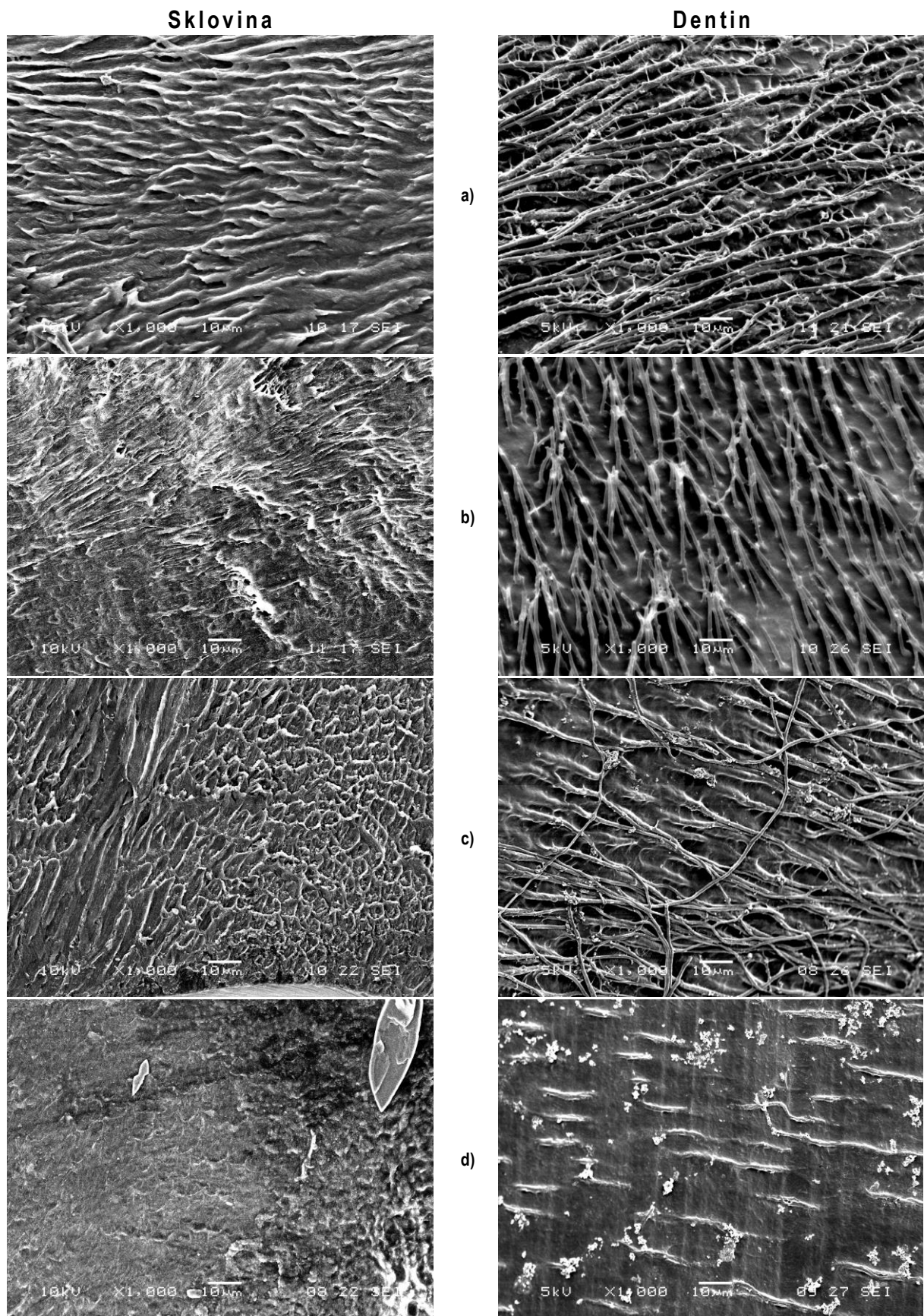
a)

b)

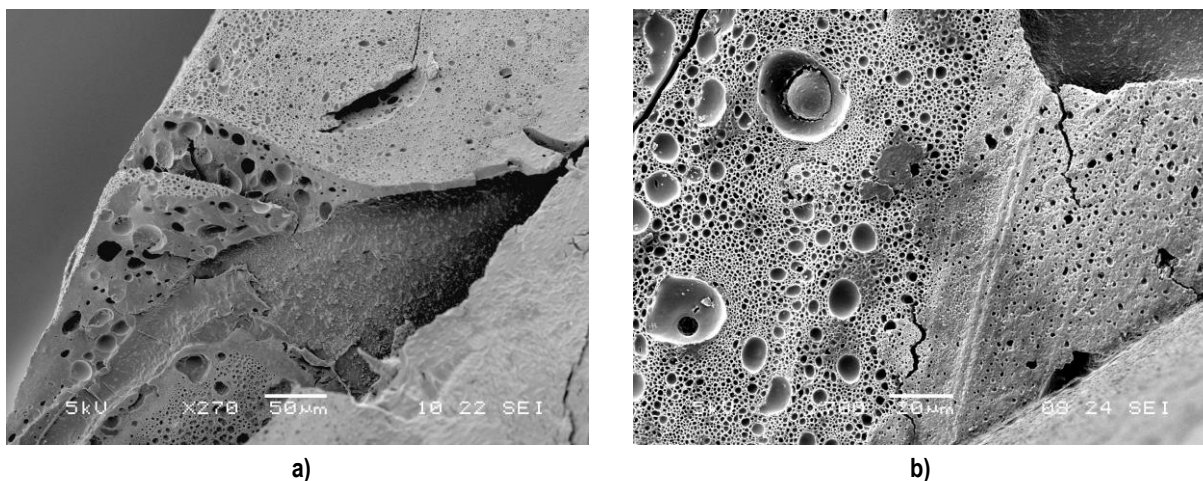
c)

d)

Obr. 20 Povrch skloviny a dentinu po: a) leptání Gluma Etch 20 Gel se zbytky minerálních částic zahušťovadla (pyrogenní SiO_2) na povrchu dentinu , b) nanesení „self-etching“ primeru systému CLF, c) nanesení směsi „self-etching“ primeru a bondu adheziva ADP, d) aplikaci IBO, zvětšení 500 x, SEM

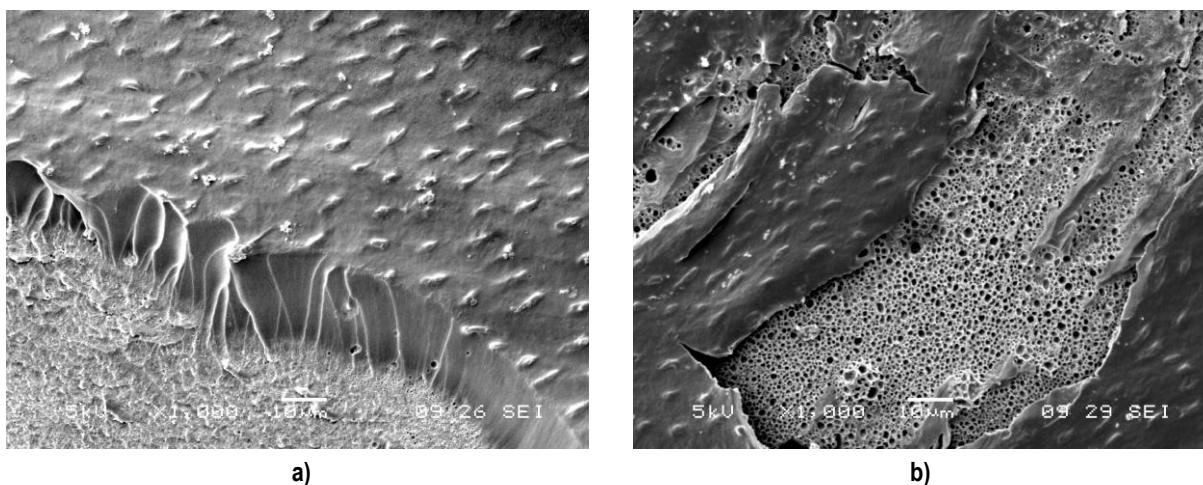


Obr. 21 Povrch kompozitní výplně po odleptání přilehlé skloviny a dentinu: a) výplň bondována adhezivem GLU, b) adhezivem CLF, c) adhezivem ADP, d) adhezivem IBO, zvětšení 1000 x, SEM



Obr. 22 Spodní část kompozitní výplně bondované adhezivem IBO po odstranění skloviny a dentinu demineralizací a deproteinizací pomocí HCl a NaOCl: a) rozsáhlé oblasti porozity ve vrstvě adheziva na spodině výplně v kontaktu s dentinem, b) detail stěny kompozitní výplně s patrnými bublinkami různé velikosti, zvětšení 270 a 700 x, SEM

Na povrchu hlubších částí výplně v kontaktu s dentinem byla pozorována rozsáhlá porozita zasahující celou vrstvu adheziva (obr. 22). Oblasti méně rozsáhlé porozity však byly nalezeny i na rozhraní mezi ADP a kompozitním materiálem (obr. 23).



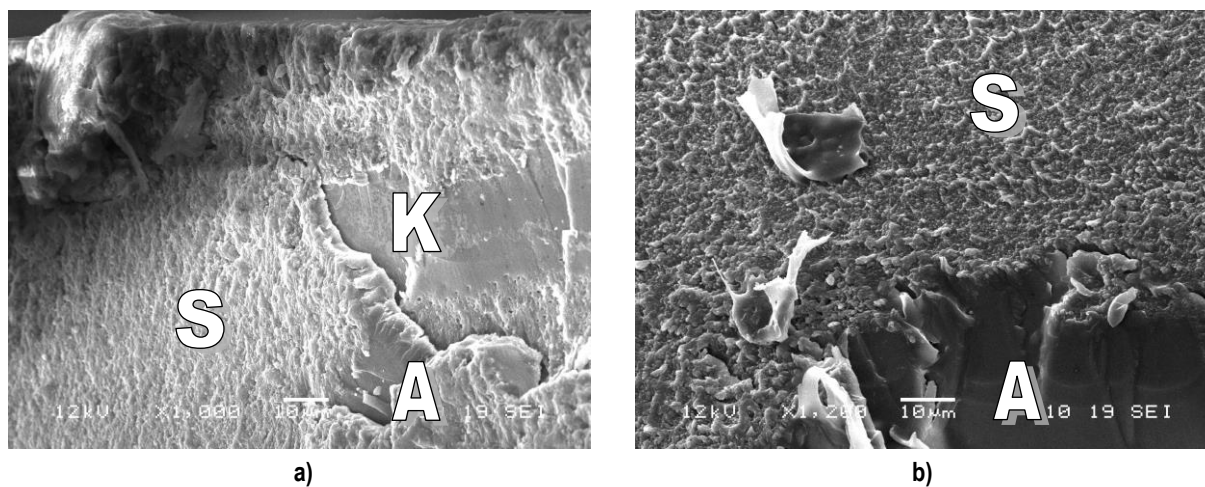
Obr. 23 Spodní část kompozitní výplně bondované adhezivem ADP po odstranění skloviny a dentinu demineralizací a deproteinizací pomocí HCl a NaOCl: a) vrstva ADP s nedokonale vytvořenými pryskyřičnými tagy a drobnými bublinkami na rozhraní mezi kompozitním materiálem a vrstvou adheziva, b) rozsáhlé oblasti porozity na spodině vrstvy adheziva v kontaktu s kompozitním materiálem, zvětšení 1000 x, SEM

4.3.3 Morfologie debondovaných povrchů

Výsledky měření mikronetěsnosti ukázaly, že k nejvýraznějšímu porušení okrajového uzávěru došlo u adheziv ADP a IBO překvapivě na sklovinném rozhraní, a to nejen v peroxidovém bělicím gelu, ale již při expozici ve vodě (tab. 9-11).

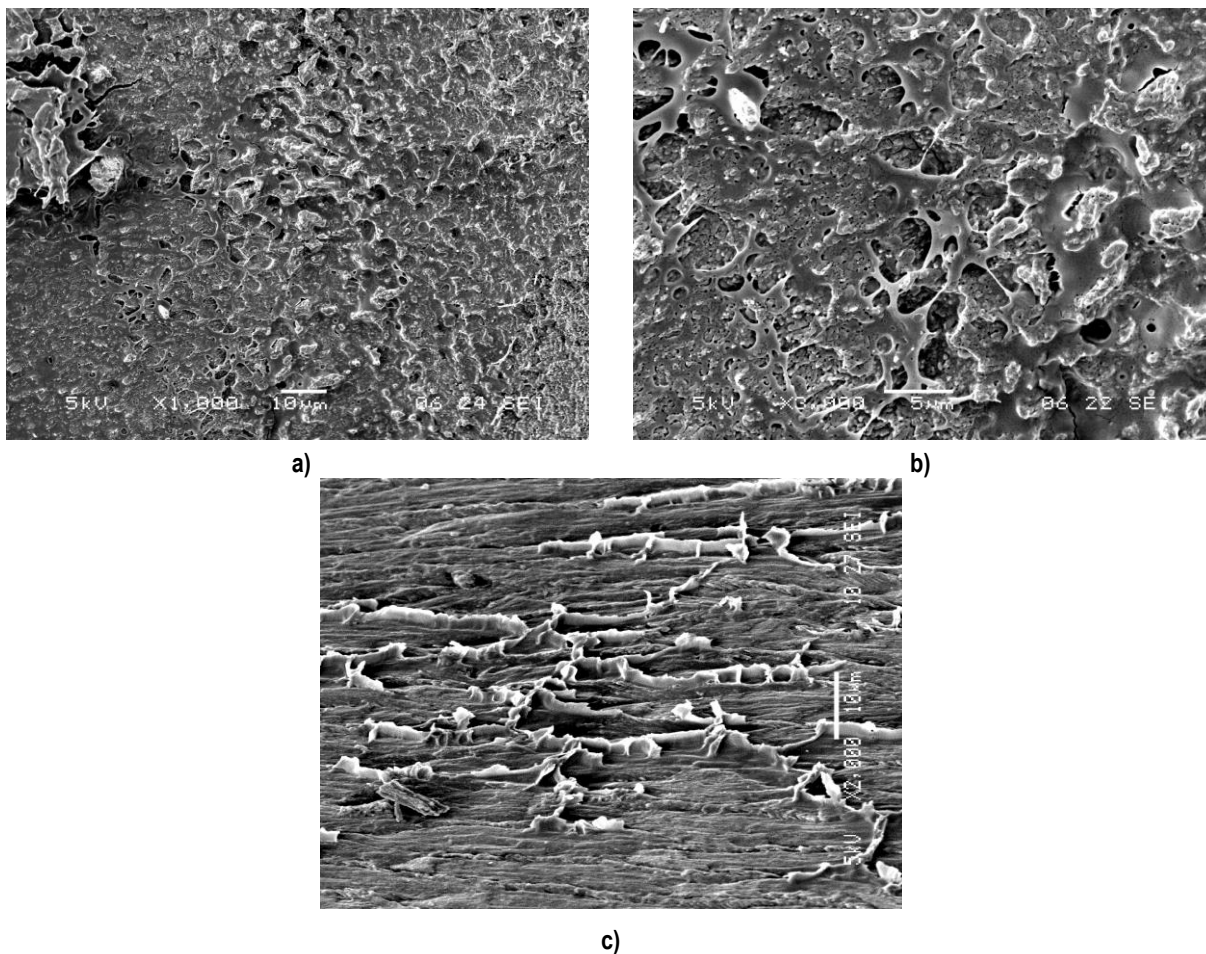
Bylo zajímavé zjistit, ve které části adhezního spoje dochází k jeho porušení, tj. určit, zda porušení adhezního spoje nastává mezi tvrdými zubními tkáněmi a adhezivem, v adhezivu anebo mezi adhezivem a kompozitní výplní. Pro tyto experimenty byly vybrány vzorky ADP a IBO, u nichž byla po expozici bělicímu gelu a vodě nalezena výrazná propustnost sklovinného okraje. Bylo možno předpokládat, že po oddělení části skloviny od povrchu kompozitní výplně bude oblast porušení adhezního spoje identifikovatelná, což přispěje k objasnění neočekávaně vysoké propustnosti sklovinného okraje u těchto adhezivních systémů. Obrázky 24-27 ukazují reprezentativní snímky takto debondovaných povrchů exponovaných v peroxidovém bělicím gelu a destilované vodě.

Na povrchu vrstvy ADP (obr. 24, 25) pokrývající kompozitní výplň byla jasně patrná textura sklovinných prizmat, která naznačuje porušení vazby a vznik mikropáry mezi sklovinou a adhezivem. Na některých místech komplementárního sklovinného povrchu byly v textuře prizmat pozorovány nepravidelné zbytky filmu adheziva, narušené porozitou (Obr. 25). Méně výrazná prizmatická textura byla nalezena rovněž na povrchu vrstvy IBO (obr. 26), pokrývající kompozitní výplň. I v tomto případě byly na povrchu kompozitních výplní v kontaktu s adherující vrstvou IBO nalezeny rozsáhlé oblasti porozity (obr. 27).

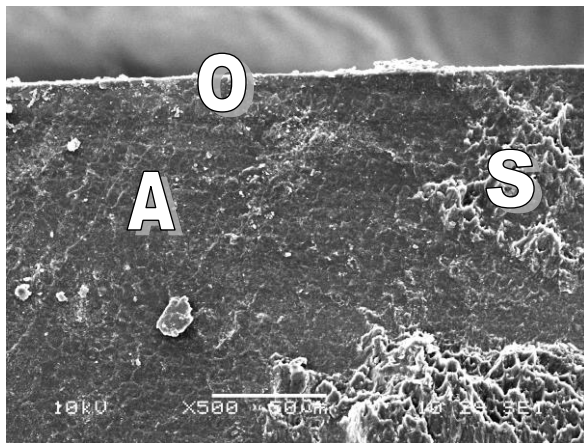


Obr. 24 Rozhraní mezi kompozitní výplní a sklovinou, kde došlo k průniku indikačního barviva. Povrch kompozitní výplně bondované adhezivem ADP: a) vrstva adheziva na povrchu kompozitní výplně s otisky sklovinných prizmat, zvětšení 1000 x, b) detail povrchu adheziva na jiném místě kompozitní výplně se zřetelnými otisky sklovinných prizmat ve vrstvě ADP, dokumentující porušení adhezního spoje mezi sklovinou a adhezivem, zvětšení 1200 x, SEM

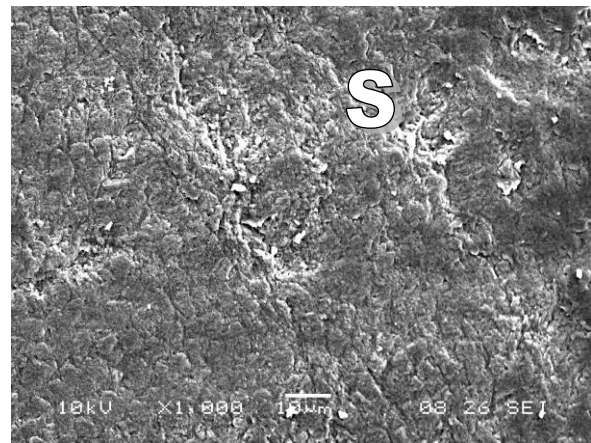
A – adhezivum, K – kompozitní materiál, S – otisky sklovinných prizmat



c)
 Obr. 25 Rozhraní mezi kompozitní výplní a sklovinou, kde došlo k průniku indikačního barviva. Povrch sklovin v kontaktu s kompozitní výplní bondovanou adhezivem ADP s patrnými zbytky plasticky přetvořeného porézního filmu ADP v prizmatické struktuře sklovin: a) expozice **destilované vodě** 24 hodin, zvětšení 1000 x, b) detail porézního filmu, zvětšení 3000 x, c) detail povrchu sklovin s vyčnívajícími zbytky filmu ADP, expozice **peroxidovému bělicímu gelu**, zvětšení 2000 x, SEM

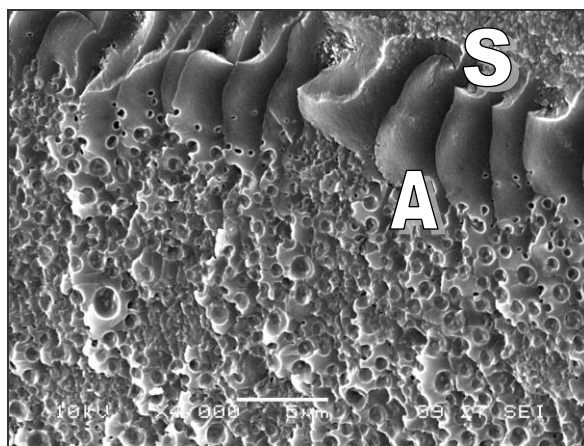


a)

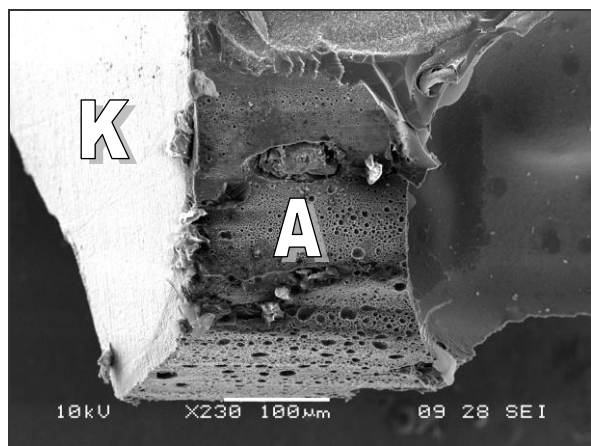


b)

Obr. 26 Rozhraní mezi kompozitní výplně a sklovinou, kde došlo k průniku indikačního barviva, adhezivum IBO: a) okraj kompozitní výplně s obrysy a zbytky sklovinných prizmat na povrchu vrstvy IBO, zvětšení 500 x, b) detail skloviny s dobře patrnou prizmatickou strukturou, dokumentující porušení adhezního spoje mezi sklovinou a adhezivem, expozice **peroxidovému bělicímu gelu**, zvětšení 1000 x, SEM
A – adhezivum, O – okraj výplně, S – otisky a zbytky sklovinných prizmat



a)



b)

Obr. 27 Rozhraní mezi kompozitní výplně a sklovinou, kde došlo k průniku indikačního barviva. Povrch kompozitní výplně bondované adhezivem IBO v oblasti dentino-sklovinné hranice: a) porušená vrstva adheziva s otisky sklovinných prizmat a porozitou na její spodině, zvětšení 4000 x, b) rozsáhlá porozita ve vrstvě adheziva na spodině kompozitní výplně v kontaktu s dentinem, expozice **destilované vodě**, zvětšení 230 x, SEM
A – vrstva adheziva IBO, K – část kompozitní výplně, S – otisky sklovinných prizmat

5. Diskuse

Vynikající estetické vlastnosti kompozitních materiálů, dobrá biologická snášenlivost a minimálně intervenční přístup k ošetření poškozených zubních tkání z nich činí předmět trvalého zájmu jak klinických, tak výzkumných pracovníků. Od přelomového objevu prvního nízkokontrahujícího monomeru Bowenem byly v průběhu několika minulých desetiletí vyvinuty a postupně zlepšovány všechny zásadní složky kompozitních materiálů. Vedle vývoje nových typů plniv submikrometrových až nanometrových rozměrů byly syntetizovány i nové typy monomerů s výrazně sníženou úrovní polymerační kontrakce a nové typů fotoiniciátorů, umožňující polymeraci kompozitních materiálů v tloušťce až 4 mm.

Tato zlepšení s sebou přinesla i jednodušší, rychlejší a spolehlivější pracovní postupy při zhotovování kompozitních rekonstrukcí. Avšak adhezivní systémy, podmiňující použití kompozitních materiálů, i přes dílčí zlepšení, představují stále nejslabší článek této technologie. Porušení spoje mezi hydrofilním dentinem a sklovinou a hydrofobním viskózním kompozitním materiálem je jednou z nejčastějších příčin selhání kompozitních rekonstrukcí.

Dentální adheziva musí odolávat zatížením, která vznikají působením polymeračního pnutí, teplotními změnami nebo působením cyklických žvýkacích sil. V poslední době se do popředí zájmu dostává i odolnost adhezního spoje v prostředí chemických látek, s nimiž se v průběhu životnosti adhezní spoj může dostat do kontaktu. Adhezní spoj je tvořen polymerní sítí, která obsahuje více či méně hydrofilní monomery, umožňující průnik vody a dalších látek do jeho struktury. Jejich působení spolu s trvalým mechanickým zatížením může fyzikální a chemické procesy degradace adhezního spoje urychlovat.

Odolnost adhezního spoje v různých prostředích lze z technických, ale též etických a legislativních důvodů testovat především v podmínkách „in vitro“. Kromě nejčastější simulace degradačního prostředí vodou vyvstává i otázka vlivu dalších látek na adhezní spoj. Mezi ně se řadí peroxidové přípravky používané k bělení zubů, ústní vody s obsahem rozličných dezinfekčních látek, nebo roztoky obsahující fluoridy k prevenci zubních kazů a erozního poškození tvrdých zubních tkání. Tyto přípravky obsahují kromě účinných, často velmi reaktivních látek, i řadu pomocných látek, které mohou riziko degradace a selhání adhezního spoje zvyšovat. Patří sem například tenzidy, používané ke zvýšení smáčivosti povrchu tvrdých zubních tkání nebo organická rozpouštědla typu etanolu, která mohou negativní vliv účinných látek zvyšovat. Zmapování účinku a pokus o objasnění vlivu několika

typických přípravků tohoto určení na odolnost adhezního spoje bylo tématem předkládané disertační práce.

Většina prací s tematikou dlouhodobé odolnosti adhezního spoje v různých prostředích je obvykle realizována s nesyrově vybranými adhezivy, neřídka s akcentem na komerční zájmy výrobců, která tudíž nedovolují zobecnění dosažených výsledků. Proto byla pro experimentální část vybrána čtyři adheziva, jež reprezentují jejich různé typy, lišící se pracovními postupy a odrážející směr současného vývoje adheziv.

Prvním typem bylo „etch-and-rinse“ (ER) adhezivum Gluma Comfort Bond (GLU), které patří mezi spolehlivá a klinicky ověřená 2-kroková adheziva s vysokou adhezí ke sklovině i dentinu (Ernest, Holzmeier et al. 2004, Cardoso Pde, Lopes et al. 2005, Bradna, Vrbova et al.), označovaná jako „zlatý standard“. Skupina rychle se rozvíjejících „self-etch“ (SE) adheziv s jednodušším pracovním postupem a vítanou nižší pooperační citlivostí byla reprezentována třemi systémy vybranými tak, aby zahrnovaly co nejširší spektrum těchto adheziv (tab. 3). Adhezivum Clearfil SE Bond (CLF) zastupovalo skupinu mírně kyselých („mild acid“) 2-krokových dvoulahvičkových SE systémů, jejichž aplikace spočívá v odděleném nanesení „self-etching“ primeru a poté hydrofobního bondu. Adper Prompt (ADP) představoval 1-kroková dvoulahvičková velmi kyselá („strong SE“) adheziva. Jeho pracovní postup zahrnuje nejprve smíchání „self-etching“ primeru s bondem, které jsou dodávány v samostatných lahvičkách a poté nanesení vzniklé směsi na povrch tvrdých zubních tkání v jednom kroku. Ve svém složení obsahuje jako kompatibilizátor vody a hydrofobních monomerů hydrofilní monomer 2-hydroxy-ethylmetakrylát (HEMA). Těkavá rozpouštědla typu etanolu či acetonu, která snižují obsah vody ve vrstvě adheziva po jeho aplikaci, nejsou v jeho složení uvedena. ADP je dodáván v lahvičkách anebo v jednorázových blistrech. Dvoulahvičková varianta byla zvolena proto, že blistrový typ může poskytovat méně reprodukovatelné výsledky (Bradna, Vrbova et al.).

Obě zmíněná SE adheziva obsahují jako „self-etching“ primery estery silné minerální kyseliny fosforečné. Naproti tomu „all-in-one“ adhezivum iBond (IBO) reprezentovalo typická 1-kroková jednolahvičková mírně kyselá („mild acid“) adheziva. IBO v jedné lahvičce obsahuje jako „self-etching“ primer anhydrid slabé organické kyseliny 4-metakryloxyethyltrimellitové (4-MET), vazebné monomery a aceton ve funkci kompatibilizátoru vody a vazebných hydrofobních monomerů. Vysoká tenze par umožňuje odpaření vody, která je ve

složení potřebná k disociaci kyselých skupin primeru, a rovněž i odpaření zbytkové vody, přítomné na povrchu dentinu či na jeho povrch pronikající z preparovaného dentinu.

Dalším problémem testování adheziv je volba vhodné zkušební metody. Ukazuje se totiž, že výsledky získané různými metodami se mohou vzájemně lišit (Heintze 2007). Práci, zabývající se porovnáním různých metodik, však existuje jen málo, což znemožňuje hledání objektivních příčin odlišných výsledků. Proto byla v této práci zvolena metoda mikronetěsnosti, která představuje druhou nejčastěji používanou metodu hodnocení adheziv.

Předpokladem bylo, že studium degradace adhezního spoje vytvořeného stejnými adhezivou a za identických podmínek jako v předchozí práci (Dudek, Roubickova et al. 2012), spočívající v měření pevnosti vazby, dovolí získat širší spektrum informací o odolnosti adhezních systémů a přispěje i k objasnění častých rozporů ve výsledcích, dosažených různými metodami.

Odolnost okrajového uzávěru ve vodě

Prvním překvapivým výsledkem sledování mikronetěsnosti bylo, že žádné ze sledovaných adheziv neumožnilo vytvoření perfektního okrajového uzávěru smíšených kavit V. třídy na cemento-sklovinném rozhraní. Obzvláště náchylné k porušení se ukázaly výplně připravené s SE adhezivou. K primárnímu porušení okrajového uzávěru na sklovinném i dentinovém okraji došlo při expozici vodě již během prvních 24 hodin od zhotovení výplní. Toto porušení se s pokračující délkou expozice zvyšovalo, avšak ne signifikantně (tab. 9, 10). Srovnání propustnosti okrajů výplní zhotovených s jednotlivými adhezivou dále ukázalo, že k porušení je náchylný především sklovinný okraj, vytvořený SE adhezivou ADP a IBO (tab. 10). Propustnost sklovinného okraje těchto adheziv byla dokonce signifikantně vyšší, než propustnost dentinového okraje, kde rozdíly mezi jednotlivými adhezivou pozorovány nebyly.

Studium vlivu vody na adhezní spoj metodou mikronetěsnosti bylo předmětem řady prací. I když některé z nich též uvádějí menší odolnost sklovinného okraje (Brackett, Brackett et al. 2006) (Gueders, Charpentier et al. 2006, Grobler, Rossouw et al. 2007, Frankenberger, Lohbauer et al. 2008), většina prací se shoduje na snížené odolnosti dentinového okraje (Heintze 2007). Nižší odolnost sklovinného okraje výplní, zhotovených s SE adhezivou ADP a IBO, zjištěná v této práci, však byla zčásti v souladu s výsledky, získanými měřením pevnosti vazby ve smyku (Dudek, Roubickova et al. 2012). Tato metoda u SE adheziva IBO ukazovala

signifikantně nižší pevnost vazby ke sklovině, než k dentinu. U ADP však rozdíl v pevnosti vazby k oběma zubním tkáním zaznamenán nebyl.

Předpokladem vysoké pevnosti vazby kompozitních materiálů ke sklovině je její hluboká demineralizace, vytvoření optimálního mikroretenčního reliéfu a jeho infiltrace složkami adheziva. U SE adheziv je však schopnost demineralizovat povrch skloviny pokrytý „smear layer“ a poškozený trhlinkami, které vznikají při její preparaci, výrazně menší, než u ER adheziv (Mine, De Munck et al. 2010). Důsledkem omezené schopnosti SE adheziv demineralizovat sklovinu může být snížená mikromechanická vazba ke sklovině (Erickson, De Gee et al. 2008, Erickson, Barkmeier et al. 2009, Van Meerbeek, Yoshihara et al. 2011).

Významně se může uplatnit i snížená mechanická odolnost vrstvy adheziva, která závisí na jeho chemickém složení, stupni polymerace, přítomnosti zbytkových nízkomolekulárních rozpouštědel včetně vody, působících jako změkčovadlo, a zejména na přítomnosti defektů. Bublinky a dutinky, vznikající různým mechanismem (Van Landuyt, De Munck et al. 2005, Van Landuyt, Snauwaert et al. 2007), mohou působit jako koncentrátoři napětí a iniciovat porušení adhezního spoje. Jak ukazují Obrázky 20-23, k selhání okrajového uzávěru u ADP a IBO docházelo především mezi sklovinou a vrstvou adheziva, což je pro sníženou leptací schopnost adheziv typické. Z obrázku 20 je ale zřejmé, že demineralizační schopnost ADP byla podstatně větší, než IBO, a obdobná CLF, jehož okrajový uzávěr byl však ve vodě stabilnější, než ADP a IBO. To ukazuje, že na adhezním chování těchto systémů se podílejí i jiné mechanismy, než pouze demineralizační schopnost adheziv.

Při charakterizaci leptacích schopností adheziv jsou z povrchu leptaných tkání odstraněny zbytky všech aplikovaných složek adheziva, což nedovoluje získat informace o rozsahu jeho penetrace do zubních tkání a rovněž o jeho struktuře v přímém kontaktu s nimi. Z tohoto důvodu byla v dalším experimentu z povrchu kompozitní výplně rozpuštěním tvrdých zubních tkání kyselinou chlorovodíkovou a deproteinizací roztokem chlornanu sodného odstraněna sklovina a dentin a tím získán obraz o rozsahu průniku adheziva do struktury skloviny a dentinu.

Dobře patrná prizmatická struktura a dlouhé pryskyřičné tagy na povrchu adheziva po odstranění tvrdých zubních tkání (obr. 21) svědčily o průniku složek GLU hluboko do struktury zubních tkání. Naproti tomu u SE adheziv ADP a CLF pryskyřičné tagy na sklovině degenerovaly pouze na obrysy prizmat, což jasně dokazuje menší demineralizační a

penetrační schopnosti těchto adheziv. Ještě výraznější bylo toto chování u IBO, kde prizmatická textura skloviny nebyla patrná vůbec a pryskyřičné tagy na povrchu dentinu byly jen slabě vyvinuty. Zajímavým morfologickým rysem, pozorovaným zejména v hlubších místech kavity u adheziv ADP a zejména IBO v kontaktu s dentinem, byla porozita. Zatímco u IBO rozsáhlá porozita zahrnovala celou vrstvu adheziva (obr. 22), u ADP byla porozita podstatně méně výrazná, s menšími dutinkami a spíše lokálního charakteru (obr. 23).

U GLU lze tudíž předpokládat, že stabilita okrajového uzávěru ve vodě je především důsledkem jeho schopnosti pronikat do struktury naleptané skloviny a dentinu. Naproti tomu omezená schopnost IBO demineralizovat sklovinu, odhalit interprizmatické prostory, nezbytné pro dosažení mikromechanické vazby, je pravděpodobnou příčinou nízké odolnosti sklovinného okraje, zhotoveného s tímto adhezivem.

Vysvětlení nižší odolnosti sklovinného okraje ADP je obtížnější, neboť vzhledem k jeho schopnosti demineralizovat zubní tkáň i do větší hloubky, by bylo možné očekávat opačné chování, tedy větší odolnost okrajového uzávěru. U tohoto systému se však mohou negativně uplatnit defekty adhezního spoje. Obrázek 23 ukazuje porozitu zejména v oblasti hybridní vrstvy. Porozita byla nalezena rovněž na debondovaných površích skloviny (obr. 25). Tyto defekty mohou působit jako koncentrátoři napětí a iniciovat lomový proces mezi sklovinou a adhezivem. Zbytky plasticky deformovaného porézního filmu adheziva na řadě vzorků ADP (obr. 25) naznačují jeho nižší mechanickou odolnost, způsobenou například i jeho nedokonalou polymerací v důsledku přítomnosti zbytkové vody (Jacobsen and Soderholm 1995). V případě CLF se na odolnosti jím vytvořeného okrajového uzávěru může kromě mikromechanické vazby příznivě uplatnit i hydrolyticky stabilní chemická vazba monomeru 10-metakryloyloxydecyldihydrogenfosfátu (10-MDP) k hydroxyapatitu zubních tkání (Yoshida, Hashimoto et al. 2004, Inoue, Koshiro et al. 2005, Salz, Zimmermann et al. 2005).

Vliv peroxidového bělicího gelu na odolnost okrajového uzávěru

Bělení vitálních zubů peroxidovými bělicími přípravky patří dnes k často požadovaným kosmetickým zákrokům. Přesto se problematikou vlivu peroxidových bělicích přípravků na dlouhodobou odolnost adhezního spoje zabýval jen velmi omezený počet autorů. Hlavní pozornost se soustředila na otázku, zda aktivní kyslíkové radikály, uvolňované rozkladem peroxidů, nepřinášejí kromě estetického účinku i zdravotní rizika poškození měkkých a tvrdých tkání ústní dutiny (Naik, Tredwin et al. 2006, Goldberg, Grootveld et al. 2010),

poškození rekonstrukčních materiálů a především zvýšené riziko porušení hermetického uzávěru kompozitních výplní.

Toto riziko může být obzvláště významné u „self-etch“ adheziv, která jsou díky obsahu hydrofilních monomerů náchylná k průniku vody (Tay, Pashley et al. 2002, Tay, Frankenberger et al. 2004, Tay, Lai et al. 2004), a proto lze u nich předpokládat i zvýšený průnik malých reaktivních kyslíkových molekul. Štěpení polymerních řetězců kyslíkovými radikály, jejich adice na nezpolymerované dvojné vazby vazebných monomerů či na esterové skupiny podobně, jako u polymerní matrix kompozitních materiálů (Durner, Stojanovic et al. 2011), může urychlovat degradaci adhezivního spoje. Vliv peroxidových bělicích přípravků na adhezivní spoj však není zcela objasněn, neboť stávající práce přinášejí často protichůdné výsledky. Kromě rozdílů v použitých koncentracích a typech peroxidových přípravků, délce expozice, omezeném počtu testovaných adhezivních systémů mohou být příčinou dosavadních rozporuplných výsledků i rozdílná experimentální uspořádání.

Vliv peroxidových bělicích přípravků metodou mikronetěsnosti byl dosud zkoumán pouze u ER adheziv Scotchbond a Single Bond (Crim 1992, Klukowska, White et al. 2008) (Khoroushi and Fardashtaki 2009, Mortazavi, Fathi et al. 2011) a ze skupiny SE adheziv Prompt L-Pop a iBond (Khoroushi and Fardashtaki 2009, Mortazavi, Fathi et al. 2011). V předkládané disertační práci byla tato adheziva doplněna o Clearfil SE Bond. K testům byl použit jeden z typických peroxidových bělicích přípravků, Opalescence 20 PF s 20 % karbamid peroxidu (ekvivalent 6,6 % peroxidu vodíku), mírně převyšující povolenou hranici 6 % peroxidu vodíku (Směrnice rady 2011/84/EU).

Při těchto experimentech byl peroxidový gel aplikován celkem v 25 osmihodinových cyklech a porovnáván s kontrolní skupinou, exponovanou destilované vodě po dobu dvou měsíců, během nichž tento experiment probíhal. Výsledkem bylo zjištění, že vlivem aplikace bělicího gelu došlo oproti kontrolní skupině k nárůstu propustnosti pouze u výplní zhotovených s CLF na sklovinném okraji. Statistická analýza však ukázala ne zcela přesvědčivou signifikanci této změny ($p < 0,02$). Výsledky tudíž neprokázaly zásadní degradační účinek peroxidového bělicího gelu na dlouhodobou odolnost okrajového uzávěru oproti kontrolní skupině, exponované destilované vodě.

Tento závěr podporuje analýza morfologie přilehlých povrchů skloviny a kompozitní výplně, kde došlo k průniku indikačního barviva (obr. 24, 25), které se nelišily od výsledků

nalezených ve vodě. K podobným závěrům, tedy o zanedbatelném vlivu peroxidových bělicích gelů na odolnost adhezního spoje, došli i jiní autoři: pro ER adheziva (Khoroushi and Fardashtaki 2009) (Klukowska, White et al. 2008, White, Duschner et al. 2008) a pro SE adhezivum IBO (Mortazavi, Fathi et al. 2011). Naopak zvýšenou propustnost dentinového okraje po aplikaci bělicích přípravků popsali pro ER adheziva (Crim 1992, Ulukapi, Benderli et al. 2003) a pro SE adhezivum Prompt L-Pop (Mortazavi, Fathi et al. 2011).

Při hodnocení adheziv metodou mikronetěsnosti jsou významnými faktory, které mohou ovlivnit její výsledky, zejména tvar a objem preparované kavity, neboť určují velikost a rozložení polymeračního pnutí na rozhraní kavity a výplně (Feilzer, De Gee et al. 1987). Mezi další významné faktory patří typ a hrubost preparačních nástrojů, které určují vlastnosti „smear layer“ na povrchu dentinu a skloviny (Kihn, Spanganberg et al. 2004, Sattabanasuk, Vachiramon et al. 2007, Mine, De Munck et al. 2010). V předkládané práci byly dle doporučení mezinárodního standardu (ISO 2003) vypreparovány válcové kavity s úhlem 90° mezi povrchem zubu a stěnou kavity, bez zkosení stěn, které může v důsledku zvětšení kontaktní plochy a příznivější orientace kolmo na sklovinná prizmata a dentinové tubuly zvyšovat odolnost sklovinného okraje výplně (Crawford, Whittaker et al. 1987). Proto nelze výsledky této práce porovnávat s výsledky autorů, kteří pracovali s kavítami se zkosením skloviny (Crim 1992, Mortazavi, Fathi et al. 2011).

Nevýrazný vliv peroxidového bělicího gelu na odolnost adhezního spoje, nalezený metodou mikronetěsnosti, je však v rozporu s výsledky práce, provedené měřením pevnosti vazby (Dudek, Roubickova et al. 2012). Její výsledky přesvědčivě indikovaly degradaci adhezního spoje, vytvořeného SE adhezivy ADP a IBO, a to jak na sklovině, tak i na dentinu, oproti kontrolnímu prostředí destilované vody. Metoda mikronetěsnosti je oproti testování pevnosti vazby realizována na kavítách, které jsou připravovány postupy obdobnými klinickým. Další odlišností od metod založených na měření pevnosti vazby je výrazně vyšší C-faktor, a tedy výrazně vyšší úroveň polymeračního pnutí, působícího na adhezní spoj.

Při diskusi neobvyklého chování adhezních spojů, vytvořených ADP a IBO v peroxidovém bělicím gelu, ale i v destilované vodě, by neměl být zanedbán ani fakt, že smíšené kavity V. třídy na dentino-sklovinném rozhraní jsou zhotoveny v silně anizotropním prostředí různých zubních tkání. Na okluzní části zubu je okraj kavity zhotoven ve sklovině s vysokým modulem elasticity, na cervikální straně v dentinu, jehož modul elasticity je podstatně menší.

Rovněž pevnost a odolnost vazby adheziv k oběma substrátům se může významně lišit a záviset na vzájemné orientaci sklovinných prizmat a dentinových tubulů vzhledem k adhezí ploše. Při zkouškách pevnosti vazby je téměř vždy směr podélných os těchto strukturních jednotek kolmo k adhezí ploše, zatímco u kavit V. třídy je tento směr méně výhodný: osy prizmat i tubulů ve stěnách kavit jsou s adhezí plochou paralelní. Jestliže za takových podmínek dojde k porušení nejslabšího článku adhezího spoje mezi kompozitní výplní a zubními tkáněmi, například sklovinného okraje, lze předpokládat, že napětí na dentinovém okraji se tím sníží. Menší zatížení tohoto rozhraní se může následně projevit jeho zdánlivě větší odolností. Vyšší odolnost dentinového než sklovinného okraje kavity, zjištěná u ADP, IBO a CLF pomocí měření mikronetěsnosti, proto nemusí nutně znamenat vyšší odolnost tohoto rozhraní. Je pouze výsledkem méně příznivého experimentálního uspořádání oproti měření pevnosti vazby. Na základě této analýzy je možné vyslovit domněnku, že metodou mikronetěsnosti na smíšených kavitách V. třídy nelze jednoznačně potvrdit či vyvrátit hypotézu o degračním vlivu peroxidových bělicích gelů na adhezí spoj.

Vliv ústní vody Corsodyl a Elmex

Ústní voda Corsodyl se používá při léčbě onemocnění parodontu a ústní voda Elmex pro prevenci kazivých a erozních procesů tvrdých zubních tkání. Hlavní myšlenkou pro jejich použití v experimentálním programu byla hypotéza, že podobně jako peroxidové bělicí gely i tyto přípravky pro udržování ústní hygieny by mohly urychlovat degradaci adhezího spoje. Získané výsledky však byly zcela opačné. U obou přípravků došlo naopak k omezení propustnosti okrajů výplní. Jak je patrné z tabulek 12 a 14, snížení propustnosti oproti kontrolním skupinám exponovaným v destilované vodě, bylo nalezeno u všech adhezivních systémů v obou ústních vodách, a to především na sklovinném okraji.

I když u ADP nebyly signifikance poklesu vždy zcela přesvědčivé (ADP-Corsodyl po 6 měsících, IBO-Corsodyl po 2 měsících), zásadní trend zlepšení odolnosti sklovinného okraje výplní byl zcela zřejmý. Signifikantní pokles propustnosti byl zaznamenán i pro dentinový okraj u CLF a IBO po 6 měsících v Corsodylu, u GLU a CLF po 6 měsících po obdobné délce expozice ústní vodě Elmex.

Tato zjištění jsou velmi překvapivá a mohla by ukazovat na významný ochranný účinek použitých ústních vod proti porušení adhezího spoje. Jeho příčinou by v případě dezinfekční vody Corsodyl mohla být především schopnost v něm obsaženého chlorhexidinu inhibovat

degradaci kolagenu metaloproteinázami. Tyto enzymy jsou přítomné především v dentinu, kde však k podstatným změnám propustnosti nedošlo. Kromě toho vysoký obsah etanolu v tomto přípravku bakteriální atak spíše vylučuje. Při použití ústní vody Elmex by bylo možné uvažovat o karioprotektivním účinku fluoridových iontů, jejichž schopnost urychlovat remineralizaci tvrdých zubních tkání a inhibovat růst bakterií je známá. V našem experimentu však povrch tvrdých zubních tkání po expozici v ústní vodě Elmex nebyl vystaven remineralizačnímu prostředí. Proto je třeba hledat jiný mechanismus jejich účinku, případně zvažovat, zda tyto přípravky pouze neblokují průnik indikačního barviva mikrospárou.

V případě ústní vody Corsodyl lze kupříkladu uvažovat o utěsnění mikrospáry v důsledku expanze kompozitního materiálu po dlouhodobé expozici v prostředí etanolu (Sideridou, Karabela et al. 2008); u ústní vody Elmex například o selektivní impregnaci adhezního spoje oleji obsaženými v jejím složení. Hydrofobizace adhezního spoje či jeho okolí může blokovat průnik vody a vodného roztoku indikačního barviva do mikrospáry a tím zdánlivě indikovat odolnost adhezního spoje. Jinou možností může být i utěsnění mikrospáry fluoridem vápenatým. V každém případě pro objasnění těchto pozitivních efektů by bylo třeba provést cíleně zaměřené experimenty s jednoduchými modelovými roztoky, obsahujícími tyto potenciálně účinné látky.

Doporučení pro experimentální uspořádání testů mikronetěsnosti

Ačkoliv metoda mikronetěsnosti byla původně vyvinuta pro neadhezivní rekonstrukce typu amalgámových výplní k hodnocení jejich schopnosti utěsnit okrajový uzávěr, je doporučovaným testem i pro hodnocení adhezivních systémů (ISO 2003). Výsledky této práce však ukazují, že testy mikronetěsnosti s výplněmi V. třídy na cemento-sklovinné hranici nemusí vždy poskytovat výsledky kvalitativně srovnatelné s měřením pevnosti vazby.

Z metodického hlediska by proto bylo vhodné eliminovat rozdíly mezi mechanickými vlastnostmi skloviny a dentinu a z toho plynoucí rozdíly v pevnosti vazby adheziva k nim, a to zhotovením výplní s okraji pouze v dentinu nebo pouze ve sklovině a tím vyloučit hodnocení adhezních vlastností k oběma substrátům z výsledků, které nejsou vzájemně nezávislé. V případě modelace klinické situace pak volit zkosení ve sklovinné části výplní, jak je běžné v klinické praxi a hodnotit odolnost výplně jako celku. V další práci by bylo zapotřebí tyto hypotézy potvrdit metodou konečných prvků, simulací vlivu rozdílných biomechanických vlastností obou substrátů a rozdílů pevnosti vazby ke sklovině a dentinu na

rozložení napětí v okolí výplní s odlišnou geometrií, umístěním a porušením okrajového uzávěru v různém rozsahu.

6. Závěry

V posledních desetiletích bylo dosaženo významných pokroků ve vývoji kompozitních materiálů. Výrazně byly zlepšeny jejich manipulační vlastnosti, lešitelnost, odolnost proti abrazi a v neposlední řadě i estetické vlastnosti. Otázkou k řešení však stále zůstává nekompatibilita kompozitních materiálů se zubními tkáněmi a jejich polymerační smrštění, které mohou vést ke vzniku spáry mezi kompozitní výplní a tvrdými zubními tkáněmi.

Zatímco amalgámové výplně svými korozními produkty s antibakteriálními vlastnostmi utěšňují vznikající spáru, kompozitní materiály tuto schopnost nemají. Řešením tohoto problému je použití adheziv, umožňujících spojení kompozitního materiálu se zubními tkáněmi. Odolnost adhezního spoje v ústní dutině je však výrazně horší, než odolnost kompozitních materiálů, a proto tato část kompozitních rekonstrukcí představuje jejich nejslabší článek.

Odolnost adheziv je obvykle testována ve vodném prostředí, které však nemůže simulovat účinek široké škály látek, často velmi reaktivních, které v průběhu životnosti zubní rekonstrukce na adhezní spoj působí. Dlouhodobé zkoušky odolnosti adhezního spoje v různých prostředích proto mohou přinést nové informace, využitelné jak pro predikci životnosti výplně, tak pro další vývoj adhezivních systémů.

Předkládaná disertační práce byla zaměřena na zkoušky odolnosti několika typických adhezivních systémů v prostředí peroxidového bělicího gelu a v prostředích ústních vod s dezinfekčními látkami a obsahem fluoridů. Dosažené výsledky získané metodou mikronetěsnosti na výplních V. třídy lze shrnout takto:

1. Žádný ze zkoušených adhezivních systémů neposkytoval zcela hermetické spojení kompozitních výplní s tvrdými zubními tkáněmi. K prvnímu poškození adhezního spoje došlo již během 24 hodin po zhotovení výplní, uložených v destilované vodě. U „self-etch“ adheziv bylo toto porušení zvláště výrazné především na sklovinném okraji.
2. Peroxidový bělicí gel s nejvyšší legislativně povolenou hladinou karbamid peroxidu způsoboval v porovnání s vodou jen mírné porušení adhezního spoje u „self-etch“ adheziva Clearfil SE Bond na sklovinném okraji výplně. Tyto výsledky

byly v rozporu s předchozí prací se stejnými adhezivními systémy, avšak provedené měřeními pevnosti vazby, které ukazovaly významný pokles pevnosti vazby pro „self-etch“ adheziva Adper Prompt a iBond po expozici stejnému bělicímu gelu na sklovině i dentinu.

3. Analýza těchto rozporuplných výsledků vedla k otázce, zda testy mikronetěsnosti, prováděné na výplních V. třídy s okrajem ve sklovině a dentinu, jsou pro adhezivní systémy s odlišnou vazbou k oběma tvrdým zubním tkáním s odlišnými biomechanickými vlastnostmi vhodné a zda za těchto podmínek nevedou k falešně negativním výsledkům.
4. Významný vliv metodiky na charakter výsledků dokumentovalo i nalezené zvýšení odolnosti adhezivního spoje všech použitých adhezivních systémů v prostředí ústní vody s chlorhexidinem a ústní vody s fluoridy. Ze získaných výsledků nelze jednoznačně rozlišit, zda v těchto prostředích bylo porušení mikromechanické vazby k zubním tkáním skutečně blokováno, nebo zda mikropára vzniká, ale v důsledku expanze kompozitní výplně etanolem přítomným v ústní vodě Corsodyl či utěsněním mikropáry málo rozpustnými fluoridy anebo jiným mechanismem, je její propustnost pro indikační barvivo pouze omezena.

Díky trvalému zájmu klinických pracovníků a snahám výrobců zvýšit životnost kompozitních rekonstrukcí, a to i v distálním úseku chrupu, jsou v současné době k dispozici dentální adheziva, jejichž vlastnosti jsou nesouměřitelné s jejich prvními typy. Přes dosažení řady úspěšných řešení však jednoduchý a spolehlivý adhezivní systém, splňující všechny klinické požadavky, stále chybí. To dokládají i výsledky této disertační práce, které jasně ukazují, že „self-etch“ systémy, přestože se typ od typu ve svých vlastnostech výrazně liší, většinou nedosahují spolehlivosti a odolnosti klasických „etch-and-rinse“ adheziv.

Významným problémem při výběru adheziv v klinické praxi je často nedostatek nejenom dlouhodobých klinických studií, ale i nezávislých „in-vitro“ testů, zaměřených na získání široké báze poznatků o chování adhezivního spoje za různých podmínek. Jak dokumentují výsledky této práce, k tomuto nedostatku přispívá i ne zcela vyřešená metodologie zkoušení adheziv, které vždy nemusí poskytovat konzistentní výsledky. Další úsilí by proto mělo být zaměřeno i na oblast testování adheziv, hledání příčin rozporů mezi jednotlivými typy

zkoušek a nalezení takových metodik, které by umožnily spolehlivou predikci chování adhezního spoje v klinické praxi.

7. Literatura

Amarante de Camargo, D. A., M. A. Sinhoreti, L. Correr-Sobrinho, M. D. de Sousa Neto and S. Consani (2006). "Influence of the methodology and evaluation criteria on determining microleakage in dentin-restorative interfaces." Clin Oral Investig **10**(4): 317-323.

Anusavice, K. J., J. dos Santos and R. W. Phillips (2003). Phillips' science of dental materials / Kenneth J. Anusavice ; selected artwork by José dos Santos, Jr, St.Louis : Saunders, 2003
11th ed.

Armstrong, S. R., J. C. Keller and D. B. Boyer (2001). "The influence of water storage and C-factor on the dentin-resin composite microtensile bond strength and debond pathway utilizing a filled and unfilled adhesive resin." Dent Mater **17**(3): 268-276.

Armstrong, S. R., M. A. Vargas, Q. Fang and J. E. Laffoon (2003). "Microtensile bond strength of a total-etch 3-step, total-etch 2-step, self-etch 2-step, and a self-etch 1-step dentin bonding system through 15-month water storage." J Adhes Dent **5**(1): 47-56.

Attin, T., C. Hannig, A. Wiegand and R. Attin (2004). "Effect of bleaching on restorative materials and restorations--a systematic review." Dent Mater **20**(9): 852-861.

Basting, R. T., A. L. Rodrigues Jr and M. C. Serra (2003). "The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time." J Am Dent Assoc **134**(10): 1335-1342.

Bertassoni, L. E., K. Stankoska and M. V. Swain (2012). "Insights into the structure and composition of the peritubular dentin organic matrix and the lamina limitans." Micron **43**(2-3): 229-236.

Brackett, M. G., W. W. Brackett and L. D. Haisch (2006). "Microleakage of Class V resin composites placed using self-etching resins: effect of prior enamel etching." Quintessence Int **37**(2): 109-113.

Bradna, P., R. Vrbova, M. Dudek, A. Roubickova and D. Housova (2008). "Comparison of bonding performance of self-etching and etch-and-rinse adhesives on human dentin using reliability analysis." J Adhes Dent **10**(6): 423-429.

Breschi, L., A. Mazzoni, F. Nato, M. Carrilho, E. Visintini, L. Tjäderhane, A. Ruggeri, F. R. Tay, E. D. S. Dorigo and D. H. Pashley (2010). "Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: A 2-year in vitro study." Dent Mater **26**(4): 320-325.

Breschi, L., A. Mazzoni, A. Ruggeri, M. Cadenaro, R. Di Lenarda and E. De Stefano Dorigo (2008). "Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface." Dent Mater **24**(1): 90-101.

Burrow, M. F., M. Satoh and J. Tagami (1996). "Dentin bond durability after three years using a dentin bonding agent with and without priming." Dent Mater **12**(5): 302-307.

- Cardoso Pde, C., G. C. Lopes, L. C. Vieira and L. N. Baratieri (2005). "Effect of solvent type on microtensile bond strength of a total-etch one-bottle adhesive system to moist or dry dentin." Oper Dent **30**(3): 376-381.
- Carrilho, M. R., F. R. Tay, D. H. Pashley, L. Tjaderhane and R. M. Carvalho (2005). "Mechanical stability of resin-dentin bond components." Dent Mater **21**(3): 232-241.
- Carrilho, M. R. O., R. M. Carvalho, M. F. de Goes, V. di Hipólito, S. Geraldeli, F. R. Tay, D. H. Pashley and L. Tjäderhane (2007). "Chlorhexidine Preserves Dentin Bond in vitro." J Dent Res **86**(1): 90.
- Carvalho, R. M., S. Chersoni, R. Frankenberger, D. H. Pashley, C. Prati and F. R. Tay (2005). "A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives." Biomaterials **26**(9): 1035-1042.
- Cavalli, V., R. M. de Carvalho and M. Giannini (2005). "Influence of carbamide peroxide-based bleaching agents on the bond strength of resin-enamel/dentin interfaces." Braz Oral Res **19**(1): 23-29.
- Cooper, J. S., T. J. Bokmeyer and W. H. Bowles (1992). "Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents." J Endod **18**(7): 315-317.
- Cotton, F. A. and G. Wilkinson (1966). Advanced Inorganic Chemistry. New York, John Wiley, Český překlad, Academia 1973.
- Crawford, P. J. M., D. K. Whittaker and G. M. Owen (1987). "The influence of enamel prism orientation on leakage of resin-bonded restorations." J Oral Rehabil **14**(3): 283-289.
- Crim, G. A. (1992). "Post-operative bleaching: effect on microleakage." Am J Dent **5**(2): 109-112.
- da Silva, A. P., R. de Oliveira, V. Cavalli, C. A. Arrais, M. Giannini and R. M. de Carvalho (2005). "Effect of peroxide-based bleaching agents on enamel ultimate tensile strength." Oper Dent **30**(3): 318-324.
- Dahl, J. E. and U. Pallesen (2003). "Tooth bleaching--a critical review of the biological aspects." Crit Rev Oral Biol Med **14**(4): 292-304.
- Davidson, C. L., A. J. de Gee and A. Feilzer (1984). "The Competition between the Composite-Dentin Bond Strength and the Polymerization Contraction Stress." J Dent Res **63**(12): 1396.
- de A Silva, M. F., R. M. Davies, B. Stewart, W. DeVizio, J. Tonholo, J. G. da Silva Junior and I. A. Pretty (2006). "Effect of whitening gels on the surface roughness of restorative materials in situ." Dent Mater **22**(10): 919-924.
- De Munck, J., K. Van Landuyt, M. Peumans, A. Poitevin, P. Lambrechts, M. Braem and B. Van Meerbeek (2005). "A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results." J Dent Res **84**(2): 118-132.

- De Munck, J., B. Van Meerbeek, Y. Yoshida, S. Inoue, M. Vargas, K. Suzuki, P. Lambrechts and G. Vanherle (2003). "Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin." J Dent Res **82**(2): 136-140.
- De Munck, J., M. Vargas, J. Iracki, K. Van Landuyt, A. Poitevin, P. Lambrechts and B. Van Meerbeek (2005). "One-day bonding effectiveness of new self-etch adhesives to bur-cut enamel and dentin." Oper Dent **30**(1): 39-49.
- de Oliveira, R., A. F. Paes Leme and M. Giannini (2005). "Effect of a carbamide peroxide bleaching gel containing calcium or fluoride on human enamel surface microhardness." Braz Dent J **16**(2): 103-106.
- Dejou, J., V. Sindres and J. Camps (1996). "Influence of criteria on the results of in vitro evaluation of microleakage." Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials **12**(6): 342-349.
- Derise, N. L. and S. J. Ritchey (1974). "Mineral composition of normal human enamel and dentin and the relation of composition to dental caries. II. Microminerals." J Dent Res **53**(4): 853-858.
- Dishman, M. V., D. A. Covey and L. W. Baughan (1994). "The effects of peroxide bleaching on composite to enamel bond strength." Dent Mater **10**(1): 33-36.
- Dudek, M., A. Roubickova, L. Comba, D. Housova and P. Bradna (2012). "Effect of postoperative peroxide bleaching on the stability of composite to enamel and dentin bonds." Oper Dent **38**(4): 394-407.
- Durner, J., M. Stojanovic, E. Urcan, W. Spahl, U. Haertel, R. Hickel and F.-X. Reichl (2011). "Effect of hydrogen peroxide on the three-dimensional polymer network in composites." Dent Mater **27**(6): 573-580.
- Eick, J. D., R. A. Wilko, C. H. Anderson and S. E. Sorensen (1970). "Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of electron microprobe." J Dent Res **49**(6): 1359-&.
- Erickson, R. L., W. W. Barkmeier and M. A. Latta (2009). "The role of etching in bonding to enamel: A comparison of self-etching and etch-and-rinse adhesive systems." Dent Mater **25**(11): 1459-1467.
- Erickson, R. L., A. J. De Gee and A. J. Feilzer (2008). "Effect of pre-etching enamel on fatigue of self-etch adhesive bonds." Dent Mater **24**(1): 117-123.
- Ernest, C. P., M. Holzmeier and B. Willershausen (2004). "In vitro shear bond strength of self-etching adhesives in comparison to 4th and 5th generation adhesives." J Adhes Dent **6**(4): 293-299.
- Fanchon, S., K. Bourd, D. Septier, V. Everts, W. Beertsen, S. Menashi and M. Goldberg (2004). "Involvement of matrix metalloproteinases in the onset of dentin mineralization." Eur J Oral Sci **112**(2): 171-176.
- Feilzer, A. J., A. J. De Gee and C. L. Davidson (1987). "Setting stress in composite resin in relation to configuration of the restoration." J Dent Res **66**(11): 1636-1639.

- Fejerskov, O. (2004). "Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care." Caries Res **38**(3): 182-191.
- Ferracane, J. L. (2006). "Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks." Dent Mater **22**(3): 211-222.
- Frankenberger, R., U. Lohbauer, M. J. Roggendorf, M. Naumann and M. Taschner (2008). "Selective enamel etching reconsidered: better than etch-and-rinse and self-etch?" J Adhes Dent **10**(5): 339-344.
- Garcia-Godoy, F., N. Krämer, A. J. Feilzer and R. Frankenberger (2010). "Long-term degradation of enamel and dentin bonds: 6-year results in vitro vs. in vivo." Dent Mater **26**(11): 1113-1118.
- Gendron, R., D. Grenier, T. Sorsa and D. Mayrand (1999). "Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine." Clin Diagn Lab Immunol **6**(3): 437-439.
- Gokay, O., A. Mujdeci and E. Algin (2005). "In vitro peroxide penetration into the pulp chamber from newer bleaching products." Int Endod J **38**(8): 516-520.
- Goldberg, M., M. Grootveld and E. Lynch (2010). "Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review." Clin Oral Investig **14**(1): 1-10.
- Goldberg, M., A. B. Kulkarni, M. Young and A. Boskey (2011). "Dentin: structure, composition and mineralization." Front Biosci (Elite Ed) **3**: 711-735.
- Grobler, S. R., R. J. Rossouw and T. G. Oberholzer (2007). "Microleakage and confocal laser studies of 2 single-step self-etching bonding agents/systems." Quintessence Int **38**(6): e334-341.
- Gueders, A. M., J. F. Charpentier, A. I. Albert and S. O. Geerts (2006). "Microleakage after thermocycling of 4 etch and rinse and 3 self-etch adhesives with and without a flowable composite lining." Oper Dent **31**(4): 450-455.
- Gurgan, S. and F. Yalcin (2007). "The effect of 2 different bleaching regimens on the surface roughness and hardness of tooth-colored restorative materials." Quintessence Int **38**(2): e83-87.
- Gwinnett, A. J. and A. Matsui (1967). "A study of enamel adhesives: The physical relationship between enamel and adhesive." Arch Oral Biol **12**(12): 1615-1646.
- Hannig, C., S. Duong, K. Becker, E. Brunner, E. Kahler and T. Attin (2007). "Effect of bleaching on subsurface micro-hardness of composite and a polyacid modified composite." Dent Mater **23**(2): 198-203.
- Hariri, I., Y. Shimada, A. Sadr, S. Ichinose and J. Tagami (2012). "The effects of aging on shear bond strength and nanoleakage expression of an etch-and-rinse adhesive on human enamel and dentin." J Adhes Dent **14**(3): 235-243.

- Hashimoto, M. (2010). "A review--micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions." J Biomed Mater Res B Appl Biomater **92**(1): 268-280.
- Hashimoto, M., J. De Munck, S. Ito, H. Sano, M. Kaga, H. Oguchi, B. Van Meerbeek and D. H. Pashley (2004). "In vitro effect of nanoleakage expression on resin-dentin bond strengths analyzed by microtensile bond test, SEM/EDX and TEM." Biomaterials **25**(25): 5565-5574.
- Hashimoto, M., F. Nagano, K. Endo and H. Ohno (2011). "A review: Biodegradation of resin-dentin bonds." Jpn Dent Sci Rev **47**(1): 5-12.
- Hashimoto, M., H. Ohno, M. Kaga, K. Endo, H. Sano and H. Oguchi (2000). "In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years." J Dent Res **79**(6): 1385-1391.
- Hashimoto, M., H. Ohno, H. Sano, M. Kaga and H. Oguchi (2003). "Degradation patterns of different adhesives and bonding procedures." J Biomed Mater Res B Appl Biomater **66**(1): 324-330.
- Hashimoto, M., H. Ohno, H. Sano, M. Kaga and H. Oguchi (2003). "In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy." Biomaterials **24**(21): 3795-3803.
- Hashimoto, M., H. Ohno, H. Sano, F. R. Tay, M. Kaga, Y. Kudou, H. Oguchi, Y. Araki and M. Kubota (2002). "Micromorphological changes in resin-dentin bonds after 1 year of water storage." J Biomed Mater Res **63**(3): 306-311.
- Hashimoto, M., F. R. Tay, H. Ohno, H. Sano, M. Kaga, C. Yiu, H. Kumagai, Y. Kudou, M. Kubota and H. Oguchi (2003). "SEM and TEM analysis of water degradation of human dentinal collagen." J Biomed Mater Res B Appl Biomater **66**(1): 287-298.
- Haywood, V. B. and H. O. Heymann (1989). "Nightguard vital bleaching." Quintessence Int **20**(3): 173-176.
- Haywood, V. B. and H. O. Heymann (1991). "Nightguard vital bleaching: how safe is it?" Quintessence Int **22**(7): 515-523.
- Hebling, J., D. H. Pashley, L. Tjäderhane and F. R. Tay (2005). "Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo." J Dent Res **84**(8): 741-746.
- Hegedus, C., T. Bistey, E. Flora-Nagy, G. Keszthelyi and A. Jenei (1999). "An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface." J Dent **27**(7): 509-515.
- Heintze, S., M. Forjanic and A. Cavalleri (2008). "Microleakage of Class II restorations with different tracers--comparison with SEM quantitative analysis." J Adhes Dent **10**(4): 259-267.
- Heintze, S. D. (2007). "Systematic Reviews: I. The correlation between laboratory tests on marginal quality and bond strength. II: The Correlation between marginal quality and clinical outcome." J Adhes Dent **9**(1): 77-106.
- Heintze, S. D., M. Forjanic and G. Jakob (2005). "Automatic gap detection at restoration margins with an optical sensor in vitro." J Adhes Dent **7**(2): 95-105.

- Hobson, R. S., J. F. McCabe and S. D. Hogg (2000). "The effect of food simulants on enamel-composite bond strength." J Orthod **27**(1): 55-59.
- Inoue, S., K. Koshiro, Y. Yoshida, J. De Munck, K. Nagakane, K. Suzuki, H. Sano and B. Van Meerbeek (2005). "Hydrolytic stability of self-etch adhesives bonded to dentin." J Dent Res **84**(12): 1160-1164.
- ISO (2003). "Technical Specification ISO/TS 11405: 2003(E) Dental materials – Testing of adhesion to tooth structure."
- Ito, S., T. Hoshino, M. Iijima, N. Tsukamoto, D. H. Pashley and T. Saito (2010). "Water sorption/solubility of self-etching dentin bonding agents." Dent Mater **26**(7): 617-626.
- Jacobsen, T. and K. J. Soderholm (1995). "Some effects of water on dentin bonding." Dent Mater **11**(2): 132-136.
- Jakubiak, J., X. Allonas, J. P. Fouassier, A. Sionkowska, E. Andrzejewska, L. Ł. Linden and J. F. Rabek (2003). "Camphorquinone-amines photoinitiating systems for the initiation of free radical polymerization." Polymer **44**(18): 5219-5226.
- Joiner, A. (2004). "Tooth colour: a review of the literature." J Dent **32 Suppl 1**: 3-12.
- Joiner, A. (2006). "The bleaching of teeth: a review of the literature." J Dent **34**(7): 412-419.
- Kashima-Tanaka, M., Y. Tsujimoto, K. Kawamoto, N. Senda, K. Ito and M. Yamazaki (2003). "Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite." J Endod **29**(2): 141-143.
- Kašťáková, A. and Halačková Z. (2002). "Metodika pro výzkum propustnosti kořenových výplní." Prakt Zub Lek **50**(1): 3-10.
- Kawamoto, K. and Y. Tsujimoto (2004). "Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching." J Endod **30**(1): 45-50.
- Khoroushi, M. and S. R. Fardashtaki (2009). "Effect of light-activated bleaching on the microleakage of Class V tooth-colored restorations." Oper Dent **34**(5): 565-570.
- Kidd, E. A. (1976). "Microleakage: a review." J Dent **4**(5): 199-206.
- Kihn, P. W., P. A. Spanganberg and J. A. von Fraunhofer (2004). "The Role of Cavity Preparation and Conditioning in the Leakage of Restorations." J Adhes Dent **6**(4): 287-291.
- Kleverlaan, C. J. and A. J. Feilzer (2005). "Polymerization shrinkage and contraction stress of dental resin composites." Dent Mater **21**(12): 1150-1157.
- Klukowska, M. A., D. J. White, R. D. Gibb, F. Garcia-Godoy, C. Garcia-Godoy and H. Duschner (2008). "The effects of high concentration tooth whitening bleaches on microleakage of Class V composite restorations." J Clin Dent **19**(1): 14-17.
- Koshiro, K., S. Inoue, T. Tanaka, K. Koase, M. Fujita, M. Hashimoto and H. Sano (2004). "In vivo degradation of resin–dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system." Eur J Oral Sci **112**(4): 368-375.

- Koshiro, K., S. K. Sidhu, S. Inoue, T. Ikeda and H. Sano (2006). "New concept of resin-dentin interfacial adhesion: the nanointeraction zone." J Biomed Mater Res B Appl Biomater **77**(2): 401-408.
- Kula, K., J. E. McKinney and T. J. Kula (1997). "Effects of daily topical fluoride gels on resin composite degradation and wear." Dent Mater **13**(5): 305-311.
- Lee, S. Y., E. H. Greener, H. J. Mueller and C. H. Chiu (1994). "Effect of food and oral simulating fluids on dentine bond and composite strength." J Dent **22**(6): 352-359.
- Leventouri, T., A. Antonakos, A. Kyriacou, R. Venturelli, E. Liarokapis and V. Perdikatsis (2009). "Crystal structure studies of human dental apatite as a function of age." Int J Biomater **2009**: DOI: 698547.
- Lewinstein, I., N. Fuhrer, N. Churaru and H. Cardash (2004). "Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin." J Prosthet Dent **92**(4): 337-342.
- Lopes, G. C., L. Bonisconi, L. N. Baratieri, L. C. Vieira and S. Monteiro, Jr. (2002). "Effect of bleaching agents on the hardness and morphology of enamel." J Esthet Restor Dent **14**(1): 24-30.
- Lu, H. B., C. T. Campbell, D. J. Graham and B. D. Ratner (2000). "Surface characterization of hydroxyapatite and related calcium phosphates by XPS and TOF-SIMS." Anal Chem **72**(13): 2886-2894.
- Luca, G., R. Daniele Scaminaci, B. Claudia, N. Michele and B. Fabio (2008). "Influence of operator skill on microleakage of total-etch and self-etch bonding systems." J Dent **36**(1): 49-53.
- Marchesi, G., L. Breschi, F. Antonioli, R. Di Lenarda, J. Ferracane and M. Cadenaro (2010). "Contraction stress of low-shrinkage composite materials assessed with different testing systems." Dent Mater **26**(10): 947-953.
- McGuckin, R. S., B. A. Thurmond and S. Osovitz (1992). "Enamel shear bond strengths after vital bleaching." Am J Dent **5**(4): 216-222.
- Meredith, N., M. Sherriff, D. J. Setchell and S. A. V. Swanson (1996). "Measurement of the microhardness and young's modulus of human enamel and dentine using an indentation technique." Arch Oral Biol **41**(6): 539-545.
- Mine, A., J. De Munck, M. V. Cardoso, K. L. Van Landuyt, A. Poitevin, T. Kuboki, Y. Yoshida, K. Suzuki, P. Lambrechts and B. Van Meerbeek (2009). "Bonding effectiveness of two contemporary self-etch adhesives to enamel and dentin." J Dent **37**(11): 872-883.
- Mine, A., J. De Munck, M. Vivan Cardoso, K. L. Van Landuyt, A. Poitevin, T. Kuboki, Y. Yoshida, K. Suzuki and B. Van Meerbeek (2010). "Enamel-smear compromises bonding by mild self-etch adhesives." J Dent Res **89**(12): 1505-1509.
- Moon, P. C., J. Weaver and C. N. Brooks (2010). "Review of matrix metalloproteinases' effect on the hybrid dentin bond layer stability and chlorhexidine clinical use to prevent bond failure." Open Dent J **4**: 147-152.

Mortazavi, V., M. Fathi and F. Soltani (2011). "Effect of postoperative bleaching on microleakage of etch-and-rinse and self-etch adhesives." Dent Res J **8**(1): 16-21.

Moszner, N. and T. Hirt (2012). "New polymer-chemical developments in clinical dental polymer materials: Enamel-dentin adhesives and restorative composites." J Polym Sci Polychem **50**(21): 4369-4402.

Moszner, N., U. Salz and J. Zimmermann (2005). "Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: A systematic review." Dent Mater **21**(10): 895-910.

Naik, S., C. J. Tredwin and C. Scully (2006). "Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching): review of safety in relation to possible carcinogenesis." Oral Oncol **42**(7): 668-674.

Nakabayashi, N., K. Kojima and E. Masuhara (1982). "The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates." J Biomed Mater Res **16**(3): 265-273.

Nedorost, L. (2009). Atlas histologie tvrdých tkání, Ústav histologie a embryologie Lékařská fakulta UK v Plzni.

Niu, L. N., L. Zhang, K. Jiao, F. Li, Y. X. Ding, D. Y. Wang, M. Q. Wang, F. R. Tay and J. H. Chen (2011). "Localization of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in human coronal dentine." J Dent **39**(8): 536-542.

Oliveira, S. S. A., S. J. Marshall, S. Habelitz, S. A. Gansky, R. S. Wilson and G. W. Marshall Jr (2004). "The effect of a self-etching primer on the continuous demineralization of dentin." Eur J Oral Sci **112**(4): 376-383.

Palmer, G., F. H. Jones, R. W. Billington and G. J. Pearson (2004). "Chlorhexidine release from an experimental glass ionomer cement." Biomaterials **25**(23): 5423-5431.

Pashley, D. H., B. Ciucchi, H. Sano, R. M. Carvalho and C. M. Russell (1995). "Bond strength versus dentine structure: A modelling approach." Arch Oral Biol **40**(12): 1109-1118.

Pashley, D. H., F. R. Tay, L. Breschi, L. Tjäderhane, R. M. Carvalho, M. Carrilho and A. Tezvergil-Mutluay (2011). "State of the art etch-and-rinse adhesives." Dent Mater **27**(1): 1-16.

Pashley, D. H., F. R. Tay, C. Yiu, M. Hashimoto, L. Breschi, R. M. Carvalho and S. Ito (2004). "Collagen degradation by host-derived enzymes during aging." J Dent Res **83**(3): 216-221.

Perdigao, J., C. Francci, E. J. Swift, Jr., W. W. Ambrose and M. Lopes (1998). "Ultra-morphological study of the interaction of dental adhesives with carbamide peroxide-bleached enamel." Am J Dent **11**(6): 291-301.

Perdigao, J. and S. Geraldeli (2003). "Bonding characteristics of self-etching adhesives to intact versus prepared enamel." J Esthet Restor Dent **15**(1): 32-41.

Raskin, A., W. D'Hoore, S. Gonthier, M. Degrange and J. Dejou (2001). "Reliability of in vitro microleakage tests: a literature review." J Adhes Dent **3**(4): 295-308.

- Roulet, J. and M. Degrange (2000). Adhesion the silent revolution in dentistry, Quintessence Publishing Co, Inc.
- Sadr, A., A. Ghasemi, Y. Shimada and J. Tagami (2007). "Effects of storage time and temperature on the properties of two self-etching systems." J Dent **35**(3): 218-225.
- Salz, U., J. Zimmermann, F. Zeuner and N. Moszner (2005). "Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems." J Adhes Dent **7**(2): 107-116.
- Sanabe, M. E., C. A. Costa and J. Hebling (2011). "Exposed collagen in aged resin-dentin bonds produced on sound and caries-affected dentin in the presence of chlorhexidine." J Adhes Dent **13**(2): 117-124.
- Sano, H., N. Kanemura, M. F. Burrow, N. Inai, T. Yamada and J. Tagami (1998). "Effect of operator variability on dentin adhesion: students vs. dentists." Dent Mater J **17**(1): 51-58.
- Sano, H., T. Shono, T. Takatsu and H. Hosoda (1994). "Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer." Oper Dent **19**(2): 59-64.
- Sano, H., T. Takatsu, B. Ciucchi, J. A. Horner, W. G. Matthews and D. H. Pashley (1995). "Nanoleakage: leakage within the hybrid layer." Oper Dent **20**(1): 18-25.
- Sano, H., T. Yoshikawa, P. N. Pereira, N. Kanemura, M. Morigami, J. Tagami and D. H. Pashley (1999). "Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo." J Dent Res **78**(4): 906-911.
- Sano, H., M. Yoshiyama, S. Ebisu, M. F. Burrow, T. Takatsu, B. Ciucchi, R. Carvalho and D. H. Pashley (1995). "Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer." Oper Dent **20**(4): 160-167.
- Santerre, J. P., L. Shajji and B. W. Leung (2001). "Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products." Crit Rev Oral Biol Med **12**(2): 136-151.
- Sarr, M., A. W. Kane, J. Vreven, A. Mine, K. L. Van Landuyt, M. Peumans, P. Lambrechts, B. Van Meerbeek and J. De Munck (2010). "Microtensile bond strength and interfacial characterization of 11 contemporary adhesives bonded to bur-cut dentin." Oper Dent **35**(1): 94-104.
- Sattabanasuk, V., V. Vachiramon, F. Qian and S. R. Armstrong (2007). "Resin-dentin bond strength as related to different surface preparation methods." J Dent **35**(6): 467-475.
- Schemehorn, B., C. Gonzalez-Cabezas and A. Joiner (2004). "A SEM evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on dental materials in vitro." J Dent **32 Suppl 1**: 35-39.
- Scherrer, S. S., P. F. Cesar and M. V. Swain (2010). "Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review." Dent Mater **26**(2): e78-93.
- Sideridou, I. D., M. M. Karabela and E. C. Vouvoudi (2008). "Volumetric dimensional changes of dental light-cured dimethacrylate resins after sorption of water or ethanol." Dent Mater **24**(8): 1131-1136.

Směrnice rady 2011/84/EU, kterou se mění směrnice 76/768/EHS týkající se kosmetických prostředků za účelem přizpůsobení přílohy III uvedené směrnice technickému pokroku

Spencer, P. and J. R. Swafford (1999). "Unprotected protein at the dentin-adhesive interface." Quintessence Int **30**(7): 501-507.

Spencer, P. and Y. Wang (2002). "Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions." J Biomed Mater Res **62**(3): 447-456.

Stansbury, J. W. (2000). "Curing dental resins and composites by photopolymerization." J Esthet Dent **12**(6): 300-308.

Stansbury, J. W., M. Trujillo-Lemon, H. Lu, X. Ding, Y. Lin and J. Ge (2005). "Conversion-dependent shrinkage stress and strain in dental resins and composites." Dent Mater **21**(1): 56-67.

Sundfeld, R. H., A. L. Briso, P. M. De Sa, M. L. Sundfeld and A. K. Bedran-Russo (2005). "Effect of time interval between bleaching and bonding on tag formation." Bull Tokyo Dent Coll **46**(1-2): 1-6.

Tam, L. E., R. Abdool and W. El-Badrawy (2005). "Flexural strength and modulus properties of carbamide peroxide-treated bovine dentin." J Esthet Restor Dent **17**(6): 359-367; discussion 367-358.

Tam, L. E. and A. Noroozi (2007). "Effects of direct and indirect bleach on dentin fracture toughness." J Dent Res **86**(12): 1193-1197.

Tani, C. and W. J. Finger (2002). "Effect of smear layer thickness on bond strength mediated by three all-in-one self-etching priming adhesives." J Adhes Dent **4**(4): 283-289.

Tay, F. R., R. Frankenberger, I. Krejci, S. Bouillaguet, D. H. Pashley, R. M. Carvalho and C. N. Lai (2004). "Single-bottle adhesives behave as permeable membranes after polymerization. I. In vivo evidence." J Dent **32**(8): 611-621.

Tay, F. R., J. A. Gwinnett and S. H. Wei (1996). "Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free acetone-based, single-bottle primer/adhesives." Dent Mater **12**(4): 236-244.

Tay, F. R., M. Hashimoto, D. H. Pashley, M. C. Peters, S. C. Lai, C. K. Yiu and C. Cheong (2003). "Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin." J Dent Res **82**(7): 537-541.

Tay, F. R., C. N. Lai, S. Chersoni, D. H. Pashley, Y. F. Mak, P. Suppa, C. Prati and N. M. King (2004). "Osmotic blistering in enamel bonded with one-step self-etch adhesives." J Dent Res **83**(4): 290-295.

Tay, F. R. and D. H. Pashley (2001). "Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers." Dent Mater **17**(4): 296-308.

Tay, F. R., D. H. Pashley and M. Yoshiyama (2002). "Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives." J Dent Res **81**(7): 472-476.

- Taylor, M. J. and E. Lynch (1992). "Microleakage." J Dent **20**(1): 3-10.
- Tezel, H., O. S. Ertas, F. Ozata, H. Dalgar and Z. O. Korkut (2007). "Effect of bleaching agents on calcium loss from the enamel surface." Quintessence Int **38**(4): 339-347.
- Thitinthapan, W., P. Satamanont and N. Vongsavan (1999). "In vitro penetration of the pulp chamber by three brands of carbamide peroxide." J Esthet Dent **11**(5): 259-264.
- Titley, K. C., C. D. Torneck, D. C. Smith, R. Chernecky and A. Adibfar (1991). "Scanning electron microscopy observations on the penetration and structure of resin tags in bleached and unbleached bovine enamel." J Endod **17**(2): 72-75.
- Tjäderhane, L., F. D. Nascimento, L. Breschi, A. Mazzoni, I. L. S. Tersariol, S. Geraldeli, A. Tezvergil-Mutluay, M. R. Carrilho, R. M. Carvalho, F. R. Tay and D. H. Pashley (2013). "Optimizing dentin bond durability: Control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins." Dent Mater **29**(1): 116-135.
- Torneck, C. D., K. C. Titley, D. O. Smith and A. Adibfar (1991). "Effect of water leaching the adhesion of composite resin to bleached and unbleached bovine enamel." J Endod **17**(4): 156-160.
- Ulukapi, H., Y. Benderli and I. Ulukapi (2003). "Effect of pre- and postoperative bleaching on marginal leakage of amalgam and composite restorations." Quintessence Int **34**(7): 505-508.
- Unlu, N., S. Gunal, M. Ulker, F. Ozer and M. B. Blatz (2012). "Influence of operator experience on in vitro bond strength of dentin adhesives." J Adhes Dent **14**(3): 223.
- Van Landuyt, K. L., J. De Munck, J. Snauwaert, E. Coutinho, A. Poitevin, Y. Yoshida, S. Inoue, M. Peumans, K. Suzuki, P. Lambrechts and B. Van Meerbeek (2005). "Monomer-solvent phase separation in one-step self-etch adhesives." J Dent Res **84**(2): 183-188.
- Van Landuyt, K. L., J. Snauwaert, J. De Munck, E. Coutinho, A. Poitevin, Y. Yoshida, K. Suzuki, P. Lambrechts and B. Van Meerbeek (2007). "Origin of interfacial droplets with one-step adhesives." J Dent Res **86**(8): 739-744.
- Van Landuyt, K. L., J. Snauwaert, J. De Munck, M. Peumans, Y. Yoshida, A. Poitevin, E. Coutinho, K. Suzuki, P. Lambrechts and B. Van Meerbeek (2007). "Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives." Biomaterials **28**(26): 3757-3785.
- Van Meerbeek, B., J. De Munck, Y. Yoshida, S. Inoue, M. Vargas, P. Vijay, K. Van Landuyt, P. Lambrechts and G. Vanherle (2003). "Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges." Oper Dent **28**(3): 215-235.
- Van Meerbeek, B., S. Inokoshi, M. Braem, P. Lambrechts and G. Vanherle (1992). "Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems." J Dent Res **71**(8): 1530-1540.
- Van Meerbeek, B., K. Yoshihara, Y. Yoshida, A. Mine, J. De Munck and K. L. Van Landuyt (2011). "State of the art of self-etch adhesives." Dent Mater **27**(1): 17-28.
- Wang, Y. and P. Spencer (2005). "Continuing etching of an all-in-one adhesive in wet dentin tubules." J Dent Res **84**(4): 350-354.

- Weatherell, J. A., C. Robinson and A. S. Hallsworth (1974). "Variations in the chemical composition of human enamel." J Dent Res **53**(2): 180-192.
- Weinmann, W., C. Thalacker and R. Guggenberger (2005). "Siloranes in dental composites." Dent Mater **21**(1): 68-74.
- White, D. J., H. Duschner and T. Pioch (2008). "Effect of bleaching treatments on microleakage of class I restorations." J Clin Dent **19**(1): 33-36.
- Wu, M. K. and P. R. Wesselink (1993). "Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. Methodology, application and relevance." Int Endod J **26**(1): 37-43.
- Yamauti, M., M. Hashimoto, H. Sano, H. Ohno, R. M. Carvalho, M. Kaga, J. Tagami, H. Oguchi and M. Kubota (2003). "Degradation of resin-dentin bonds using NaOCl storage." Dent Mater **19**(5): 399-405.
- Yiu, C. K., N. Hiraishi, F. R. Tay and N. M. King (2012). "Effect of chlorhexidine incorporation into dental adhesive resin on durability of resin-dentin bond." J Adhes Dent **14**(4): 355-362.
- Yiu, C. K., N. M. King, M. R. Carrilho, S. Sauro, F. A. Rueggeberg, C. Prati, R. M. Carvalho, D. H. Pashley and F. R. Tay (2006). "Effect of resin hydrophilicity and temperature on water sorption of dental adhesive resins." Biomaterials **27**(9): 1695-1703.
- Yiu, C. K. Y., E. L. Pashley, N. Hiraishi, N. M. King, C. Goracci, M. Ferrari, R. M. Carvalho, D. H. Pashley and F. R. Tay (2005). "Solvent and water retention in dental adhesive blends after evaporation." Biomaterials **26**(34): 6863-6872.
- Yoshida, E., M. Hashimoto, M. Hori, M. Kaga, H. Sano and H. Oguchi (2004). "Deproteinizing effects on resin-tooth bond structures." J Biomed Mater Res B Appl Biomater **68**(1): 29-35.
- Zantner, C., N. Beheim-Schwarzbach, K. Neumann and A. M. Kielbassa (2007). "Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures." Dent Mater **23**(2): 243-250.
- Zhou, J., J. Tan, L. Chen, D. Li and Y. Tan (2009). "The incorporation of chlorhexidine in a two-step self-etching adhesive preserves dentin bond in vitro." J Dent **37**(10): 807-812.
- Zhou, J., J. Tan, X. Yang, C. Cheng, X. Wang and L. Chen (2010). "Effect of chlorhexidine application in a self-etching adhesive on the immediate resin-dentin bond strength." J Adhes Dent **12**(1): 27-31.
- Zhou, J., J. Tan, X. Yang, X. Xu, D. Li and L. Chen (2011). "MMP-inhibitory effect of chlorhexidine applied in a self-etching adhesive." J Adhes Dent **13**(2): 111-115.

8. Souhrn

Úvod: Adhezní spoj mezi tvrdými zubními tkáněmi a kompozitními rekonstrukcemi je v ústní dutině vystaven působení mechanického zatížení, vody, bakterií, enzymů a chemických látek, které mohou jeho odolnost a tím i životnost celé rekonstrukce významně snižovat. Na rozdíl od rozsáhlého výzkumu degradačního vlivu vody, účinku chemických látek na adhezní spoj větší pozornost dosud věnována nebyla.

Cíl: Cílem práce bylo objasnit vliv kosmetických peroxidových bělicích přípravků a prostředků ústní hygieny s chlorhexidinem a preventivních přípravků s fluoridy na odolnost adhezního spoje, vytvořeného několika různými adhezivními systémy metodou mikronetěsnosti (microleakage) na výplních V. třídy.

Materiály a metodika: Použity byly „etch and rinse“ adhezivní systém Gluma Comfort Bond (GLU) a „self-etch“ adheziva Clearfil SE Bond (CLF), Adper Prompt (ADP) a iBond (IBO), reprezentující adhezivní systémy s různým pracovním postupem. Celkem bylo pro tyto experimenty použito 192 extrahovaných lidských molárů, které byly rekonstruovány mikrohybridním kompozitem Charisma a poté vystaveny působení peroxidového bělicího gelu Opalescence PF 20 s 20 % karbamid peroxidu, ústní vody Corsodyl s obsahem chlorhexidin diglukonátu a ústní vody Elmex s fluoridy. Expoziční časy byly 2 a 6 měsíců, peroxidový bělicí gel byl aplikován ve 25 expozičních cyklech po 8 hodinách. Kontrolní skupiny představovaly výplně exponované po dobu 24 hodin, 2 a 6 měsíců destilované vodě. Mikronetěsnost byla hodnocena sledováním průniku metylénové modři okrajovým uzávěrem. Statistické zpracování výsledků bylo provedeno testy Kruskal-Wallise, Mann-Whitneyho a Wilcoxonova na hladině významnosti 0,05. Morfologie povrchů byla sledována elektronovou mikroskopií.

Výsledky: U výplní bondovaných adhezivy GLU a CLF byl po expozici vodě pozorován vysoký podíl neporušených nebo jen málo porušených okrajů výplní. Naopak vyšší podíl porušených sklovinných okrajů výplní byl nalezen u výplní zhotovených s adhezivy ADP a IBO. Po aplikaci bělicího gelu došlo u většiny adheziv pouze k mírným změnám propustnosti sklovinného i dentinového okraje v porovnání s kontrolní skupinou exponovanou vodě. Odlišné chování bylo nalezeno po expozici ústní vodě s chlorhexidinem a ústní vodě s fluoridy. V porovnání s destilovanou vodou byla u nich nalezena významně menší propustnost okrajů výplní.

Závěr: K porušení adhezního spoje jsou náchylné především výplně bondované „self-etch“ adhezivy se zjednodušeným pracovním protokolem. Malý vliv peroxidového bělicího gelu a neočekávané zvýšení odolnosti okrajů výplní exponovaných prostředkům ústní hygieny vedou k otázkám, zda v literatuře doporučované testy mikronetěsnosti na výplních V. třídy jsou pro adhezivní systémy s výrazně odlišnou vazbou ke sklovině a dentinu vhodné a nevedou k falešně negativním výsledkům a zda prostředky ústní hygieny porušení vazby adheziva k zubním tkáním skutečně blokuje, nebo mikropára vzniká, ale jejím utěsněním složkami expozičního prostředí je průnik indikačního barviva omezen.

Klíčová slova: mikronetěsnost, adhezní spoj, adhezivní systémy, kompozitní materiál, sklovina, dentin, korozní prostředí

9. Summary

Introduction: An adhesive bond between hard dental tissues and composite reconstructions is exposed to mechanical load, water, bacteria, enzymes and different chemical compounds. These factors could impair durability and resistance of composite reconstructions. In contrast with extensive research of negative influence of water on degradation of adhesive bonds, the influence of chemical substances on adhesive bond has not been investigated to a greater extent.

Aim: The aim of the experimental part of the thesis was to evaluate the influence of hydrogen peroxide containing tooth-whitening products and mouth rinses containing chlorhexidine and fluoride on a long-term stability of class V composite restorations created using four contemporary adhesive systems by a microleakage method.

Materials and methods: The following adhesive systems were investigated: total-etch Gluma Comfort Bond (GLU), and self-etch adhesives Clearfil SE Bond (CLF), Adper Prompt (ADP) and iBond (IBO). Standardized class V cavities were prepared in 192 extracted human teeth (one cervical margin in the cementum and one in the enamel). Subsequently, the cavities were restored using microhybride composite Charisma. The specimens were then exposed to the tooth whitening system Opalescence PF 20, mouth rinse Corsodyl containing chlorhexidine and mouth rinse Elmex containing aminfluoride. The exposure times were 2 and 6 months, the whitening system was applied in 25 cycles each 8 hours apart. The control group included restorations exposed to distilled water for 24 hours, 2 and 6 months. After the exposure the specimens were immersed in 2% methylene blue solution for 24 hours. The microleakage data were analyzed using Kruskal-Wallis, Mann-Whitney and Wilcoxon tests ($p=0.05$). The surface morphology was assessed using scanning electron microscopy.

Results: After being exposed to water, the specimens bonded by GLU a CLF showed a significantly lower microleakage score in both enamel and dentine. ADP and IBO showed a significantly higher microleakage, especially in the enamel. Compared to the control group, there were only small and statistically insignificant changes in the dentine and enamel microleakage. Differences were observed, when the samples were exposed to chlorhexidine- and fluoride-containing mouth rinses. Compared to the control group, there were statistically significantly lower microleakage scores, particularly for ADP and IBO.

Conclusions: The results suggest that the risk of impairment of the adhesive bond stability is higher in self-etch adhesive systems with simplified application procedures. The insignificant effect of the peroxide tooth whitening system and the unexpected increase in resistance of restorations exposed to mouth rinses inevitably lead to certain doubts about appropriateness of the recommended microleakage tests for systems with different bond to the enamel and dentin. Thus, it remains unclear if the tested products for oral hygiene really increased the adhesive bond resistance, or the observed effect resulted from the microleakage reduction due to precipitation of components of the exposure media.

Key words: microleakage, adhesive bond, adhesive systems, composite material, enamel dentin, corrosion environment

10. Seznam publikací a prezentací doktoranda

10.1 Odborné publikace k tématu disertační práce

Bradna P., Houšová D., **Kalabisová A.**: Příspěvek k problematice moderních ochranných laků pro kompozitní výplně-barevná stabilita, *Dentální trh*, 2, str.17-18, (2005)

Bradna P., Vrbová R., Dudek M., **Kalabisová A.**, Houšová D.: Comparison of bonding performance of self and total-etch adhesives on human dentin using reliability analysis, *J Adhes Dent*, 10(6), str. 423-9. **IF 1,313**

Bradna P., Dudek M., **Roubíčková A.**, Mikšovský M., Vrbová R., Houšová D.: Přinášejí self-etching adheziva větší spolehlivost dentinového bondingu? In-vitro studie. *Česká stomatologie*, roč 108, č.5, str. 109-116, (2008)

Roubíčková A., Dudek M., Bradna P., Houšová D: Vliv peroxidových bělicích systémů na stabilitu okrajového uzávěru a povrchovou odolnost kompozitních výplní, *Česká stomatologie*, roč 109(2), str. 30-38, (2009)

Dudek M., **Roubíčková A.**, Comba L., Houšová D., Bradna P.: The effect of postoperative peroxide bleaching on the stability of composite to enamel and dentin bonds, *Oper Dent* 38(4), str 394-407. doi: 10.2341/11-429-L. Epub 2012 Oct 23, **IF 1,24**

Roubíčková A., Dudek M., Comba L., Houšová D., Bradna P.: Effect of post-operative peroxide bleaching on the marginal seal of composite restorations bonded with self-etching adhesives. *Oper Dent*, 2013 Apr 9 **IF 1,24**

10.2 Ostatní publikace široce související s tématem

Mach Z., Ružičková T., **Kalabisová A.**: Galiová slitina, *Praktický zubní lékař*, 46(1), str.32-38, ISSN 0032-6720, (1998)

Kalabisová A., Ložeková E., Procházková J., Krejsa O., Houšová D., Mrklas L.: Zkušenosti s přístrojem Team Up pro dentální elektronalgézii, *Dentální trh*, str. 7-9, (2004)

Lenčová E., **Kalabisová A.**, Ságová M., Broukal Z., Sulková S., Dušková J.: Orální zdraví hemodialyzovaných pacientů s chronickým selháním ledvin, *Česká stomatologie*, 2, str.43-45, (2005)

10.3 Prezentace na odborných kongresech

Kalabisová A., Ložeková E., Procházková J., Krejsa O., Houšová D., Mrklas L.: Dentální elektroanalézie, přednáška Pražské dentální dny, Praha 2004

Lenčová E., **Kalabisová A.**, Ságová M., Broukal Z., Sulková S., Dušková J.: Orální zdraví pacientů s chronickou nedostatečností a selháním ledvin - pilotní studie, předneseno na konferenci Sympozium o prevenci, Brno 2003

Kalabisová A., Bradna P., Dudek M., Houšová D.: Influence of corrosion environments on microleakage of adhesive systems, konference IADR, PEF Dublin, Irsko 2006.

Bradna P., Dudek M., Vrbová R., **Kalabisová A.**: The effect of various environments on bond strength of total and self-etching adhesives to human dentin, konference IADR, PEF Dublin, Irsko 2006

Kalabisová A., Bradna P., Dudek M., Houšová D.: Problematika vzniku okrajové spáry při použití "total" a "self-etching" adhezivních systémů, Pražské dentální dny, Praha 2006

Dudek M., Bradna P., Vrbová R., **Kalabisová A.**: Vliv laurylsíranu sodného na pevnost vazby mezi dentinem a kompozitním materiálem, Pražské dentální dny, Praha 2006

Bradna P., Dudek M., Vrbová R., **Kalabisová A.**: Comparison of various adhesive systems using Weibull reliability analysis, konference IADR-Continental European and Israeli division, Thessaloniki, Řecko, 2007

Dudek M., Bradna P., **Kalabisová A.**, Vrbová R.: Do bleaching gels accelerate composite-dentin bond degradation?, konference IADR-Continental European and Israeli division, Thessaloniki, Řecko, 2007.

Kalabisová (Roubíčková) A., Bradna P., Dudek M., Houšová D.: Vliv peroxidového systému na odolnost kompozitního materiálu, skloviny a stabilitu okrajového uzávěru. Pražské dentální dny, Praha 2007, poster - oceněno 2. místem

Dudek M., **Roubíčková A.**, Bradna P., Houšová D.: Studium odolnosti adhezivního spoje kompozitních materiálů a zubních tkání - vliv peroxidového bělicího gelu, Den výzkumných prací, Praha 2008

Dudek M., Bradna P., **Roubíčková A.**, Houšová D.: Resistance of the composite-tooth adhesive joint to bleaching gels, konference IADR, Londýn, Velká Británie 2008

Dudek M., **Roubíčková A.**, Comba L.: Erozní změny skloviny způsobené nápoji typu "soft drink", konference Pražské dentální dny, Praha 2008

11. Seznam použitých zkratek

ADP	Adper Prompt
Bis-GMA	bisfenol A diglycidylmetakrylát
CLF	Clearfil SE Bond
ER	etch-and-rinse adhezivní systémy
HEMA	2-hydroxyethylmetakrylát
IBO	iBond
GLU	Gluma Comfort Bond
MM	metylénová modř
MMP	Metaloproteináza
PPD	1-fenyl-1,2-propandion
SE	self-etch adhezivní systémy
TEGDMA	Trietylenglykoldimetakrylát
UDMA	Uretandimetakrylát
10-MDP	10-metakryloyloxydecyl dihydrogenfosfát
4-META	anhydrid 4-metakryloyltrimellitové kyseliny