

**Медицински университет – София**  
**Факултет по дентална медицина – София**

---

*Катедра по консервативно зъболечение*  
*Ръководител: доц. Р.Василева, дм*

**д-р Жанет Кирилова Николова**

***Глас-йономерните цименти като биоматериал  
за лечение на апроксимален кариес на  
дъвкателните зъби (“сандвич” obtурации)***

**А в т о р е ф е р а т**

На дисертационен труд за присъждане на образователна и  
научна степен „доктор”  
**Научна специалност: 03.03.01- Терапевтична стоматология**

**Научен ръководител: доц. Сн. Топалова-Пиринска, дм**

**Рецензенти:**

***Доц. д-р Радосвета Василева, дм***  
***Проф.д-р Елена Дюлгерова, дх, дмн***

София, 2013г.

Дисертационният труд се състои от 230 страници и е онагледен с 33 таблици и 65 фигури. Библиографията включва 254 литературни източника, от които 40 на кирилица и 214 на латиница.

Настоящият дисертационен труд е разработен във Факултет по дентална медицина, МУ-София, в Национален Института по Хигиена-София, в НИЗПБ-София, в ИММ-София, в НИЛС-София, а клиничните изследвания в ИАПДП-София.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на 19.07.2013 година от 11.00 часа в Първа аудитория на ФДМ, съгласно чл.76 и чл.77 от Правилника за условията и реда на придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Медицински университет-София и въз основа на заповед № РК 36-1173/ 04.06.2013 на Ректора на МУ-София, пред научно жури в състав:

**Председател:**

Доц.Радосвета Иванова Василева, *дм-вътрешен член и рецензент*

**Членове:**

Проф.Елена Йоакимова Дюлгерова, *дх, дмн-външен член и рецензент*

Доц. Снежанка Запрянова Топалова-Пиринска, *дм-вътрешен член и научен ръководител*

Доц. Иван Атанасов Филипов, *дм-външен член*

Доц.Георги Томчев Томов, *дм-външен член*

Проф. Мая Рашева Рашкова, *дм-вътрешен резервен член*

Материалите по защитата са на разположение в Катедрата по Консервативно зъболечение на Факултета по дентална медицина при МУ – София и са публикувани на интернет страницата на МУ-София.

---

*Забележка:Номерата на таблиците и фигурите в настоящия автореферат не съответстват на номерата в дисертационния труд.*

## *Съдържание*

I. Въведение	1
II. Цел и задачи	2
III. Материал и методи	4
IV. Резултати	20
V. Обсъждане	49
VI. Изводи	69
VII. Препоръки за практиката	71
VIII. Приноси	72
IX. Публикации свързани с дисертационния труд	74

*Използвани съкращения:*

**ГЙЦ** - глас-йономерен цимент;  
**КМГЙЦ** - композит–модифициран глас-йономерен цимент;  
**НГЙЦ** - нано глас-йономерен цимент;  
**ПАМКМ**-полиакрилат модифициран композиционен материал;  
**КМ** - композиционни материали;  
**ФКМ** - фотополимеризиращи композиционни материали;  
**DY** - Dugast;  
**КОМ** - компомери;  
**ФЦ** - фосфат цимент;  
**ПКЦ** - поликарбоксилатен цимент;  
**ЦОЕ** – цинковоксид-евгенолов цимент  
**ТЗТ** - твърди зъбни тъкани;  
**VIS-GMA** - бисфенол - А глицидил диметакрилат;  
**ДА** - дентална амалгама;  
**ЗС**- замърсяващ слой;  
**СЕМ** - сканираща електронна микроскопия;  
**НЕМА** - 2-хидроксиетил – метакрилат;  
**ЕДГ**- емайло-дентинова граница;  
**МОР** – микроорганизми;  
**ЕЦГ**- емайлоциментова граница;  
**ХЕ**- оцветяване с хемалаун еозин;  
**ПАК**-полиакрилова киселина;  
**ГО** - гингивална основа.

## *I. Въведение*

След създаването на различни естетични възстановителни материали през миналия век е налице засилена тенденция за естетично възстановяване в дисталните участъци на съзъбието. Извършени са многобройни експериментални, лабораторни и клинични проучвания за усъвършенстване на естетичното лечение на апроксимални кариозни лезии на дъвкателни зъби. Обстойно се разглеждат въпроси свързани с вида на композиционните материали, техниките на приложението им, зависещи от разположението на гингивалната основа на апроксималните кавитети под или над емайло-циментовата граница. Разположението на гингивалната основа на апроксималния кавитет над емайлоциментовата граница с периферия в емайловата тъкан се счита за по-триавиално и е по-малко изследвано. Но точно с тази част на дъвкателните зъби има анатомични особености, които трябва да се вземат в съображение за изграждане на качествена естетична обтурация и предотвратяване развитието на вторичен кариес. Близостта на прогресирани апроксимални кариозни лезии до зъбната пулпа е тясно свързано с поставянето на подложка. Последните тенденции в денталната наука насочват вниманието към стационариране на кариесния процес. Търсят се нови средства и методи за повлияване на замърсяващия слой и микроорганизмите в дентина. Глас-йономерните цименти са група материали, които показват като добра биологична поносимост и единствени осъществяват химическа адхезия с твърдите зъбни тъкани, излъчват флуор. Известни са различни видове и представители, за чиято биологична толерантност има противоречиви данни. Начинът на поставянето на глас-йономерни цименти при лечението на апроксимални кариозни лезии на дъвкателни зъби с ниво на гингивалната основа над емайлоциментовата граница е противоречиво и изисква допълнителни изследвания.

## *II. Цел и задачи*

**Целта на дисертационната разработка е да се изясни ролята на глас-йонимерните цименти като биоматериали за лечение на апроксимални кариеси на дъвкателните зъби със „сандвич” obturации.**

Във връзка с поставената цел се определиха следните задачи:

### **Задача 1:**

Да се изследват някои основни медико-биологични качества на глас-йонимерните цименти, използвани като подложка при obturиране на дълбоки кариозни лезии.

1.1. Да се изследва *in vitro* цитотоксичността на ГЙЦ върху клетъчни култури.

1.2. Да се изследва *in vivo* тъканна реакция върху опитни животни към ГЙЦ - хистологични изследвания.

### **Задача 2:**

Да се определи степента на херметизация на кавитета в зависимост от наклона на емайловия рѐб при отворени „сандвич” obturации на апроксимални кавитети на дъвкателните зъби.

### **Задача 3:**

Да се определи степента на херметизация при затворени „сандвич” obturации на апроксимални кавитети на дъвкателните зъби.

3.1. Да се определи значението на наклона на емайловия рѐб на гингивалната основа на апроксимални кавитети при затворен „сандвич” obturация.

3.2. Да се изследват сравнително КМГЙЦ и ФЦ като материали за подложки на апроксимални кавитети при затворени „сандвич” obturации.

3.3. Да се изследва значението на вида и дебелината на подложката при затворени „сандвич” obturации на апроксимални кавитети .

### **Задача 4:**

Да се изследва състоянието на дентина преди obturиране:

4.1. Да се изследва влиянието на различни средства с краткотрайно въздействие върху замърсяващия слой на дентина чрез сканираща електронна микроскопия.

4.2. Да се идентифицират микроорганизми от апроксимален зѐбен кариес на дъвкателни зъби и да се определи повлияването им от някои антибактериални средства, използвани за обработка на дентина.

**Задача 5:**

Да се проведе рентгенографско изследване относно вида на гингивалната основа при „сандвич” obtурации на апроксимални кавитети на дъвкателни зъби.

**Собствени изследвания**  
**III. Материали и методи**

**I. МАТЕРИАЛИ**

Проведени са лабораторни, експериментални и клинични изследвания. Обект на изследване са:

- 140 мъжки бели плъхове порода ‘Wistar’ със средно тегло около 120 грама;
- клетъчни култури;
- 222 екстрахирани некариозни молари и премолари от хора;
- От прегледани 386 пациенти са изследвани 1170 зъба с 1361 обтуриации.

Денталните материали използвани в изследванията са показани в таблица № 1.

Таблица № 1. Изследвани обтуровъчни материали

№	Наименование на материала	Вид на материала	Производител
1.	FUJI –LC II	Композит-модифициран ГЙЦ за подложки и обтуриации	GC Dental Industrial Corp.
2.	Ketac-bond	конвенционален ГЙЦ – за подложки	ESPE
3.	Chelon-Fil	ГЙЦ – бързотвърдяващ се за обтуриации	ESPE
4.	Chelon-silver	ГЙЦ – кермет за изграждане и обтуриации	ESPE
5.	Adhesor	Цинкоксифосфатен цимент	Spofa Dental
6.	Carboxy Adhesor	Поликарбоксилатен цимент	Spofa Dental
7.	Basic L	Калциево-хидроксиден цимент	Vivadent
8.	DYRACT	Компомер	DeTrey DENTSPLY

9.	Herculite XRV	микрохибриден композит фотополимеризиращ	KERR GLENDORA CA
10.	Grandio Flow- NDT	Течен композит	VOCO Cuxhaven,Germany
11.	Opti Bond Solo Plus	праймер и адхезив	KERR, GLENDORA CA

### **1.1. Материали по задача № 1**

*Изследване на медико-биологичните качества на глас-йонимерните цименти, използвани като подложки при obtуриране на дълбоки апроксимални кариеси на дъвкателните зъби.*

#### **1.2.1. In vitro изследване на цитотоксичността на ГЙЦ върху клетъчни култури**

Изследването е проведено върху клетъчни култури на човешки кожно-мускулни ембрионални фибробласти (диплоидни клетки)- около 100 000 клетки на един милилитър. Хранителната среда съдържа диплоиден EAGLE-90 % 25 µg/ml гентамицин, 50 µg/ml пеницилин, 50 µg/ml стрептомицин и 1,25 µg/ml амфотерицин В и телешки серум - 10 %. Изследвани са следните дентални цименти: 1.цинкоксифосфатов цимент – Adhesor (като контрола); 2.поликарбоксилатен цимент – Carboxy Adhesor (като контрола); 3.глас-йонимерен цимент Ketac-bond; 4.глас-йонимерен цимент Chelon –Silver; 5.глас-йонимерен цимент Chelon –Fil; 6.глас-йонимерен цимент Fuji LC II; 6.калциево-хидроксиден цимент Basic –L (като контрола).

#### **1. 2. 2. In vivo изследване на тъканната реакция на ГЙЦ върху опитни животни**

Изследването е проведено върху 140 мъжки бели плъхове порода ‘Wistar’ с тегло около 120 грама.

Животните са разделени в седем групи по четири плъха и третирани както следва: 1.Цинкоксифостатов цимент; 2.Поликарбоксилатен цимент; 3.Ketac-bond; 4.Chelon-silver; 5.Chelon – Fil; 6.Fuji LC II; 7.Контролна група, оставена на храна и вода ad libidum.

### **1. 2. Материали по задача № 2**

Изследване на степента на херметизация на апроксимални кавитети на дъвкателните зъби в зависимост от наклона на емайловия ръб при отворени „сандвич” obtурации е проведено върху 72 интактни екстрахирани постоянни молари без кариеси и дефекти. Използвани са следните пилители:

фисурни турбинни борчета – № 841 014 и 835 012 (Meisinger, Germany) и кръгли стоманени борери за обратен наконечник – 012 (Meisinger, Germany) № НР310104001001/3 за обработка на дентина. За оформяне на емайловия ръб са използвани фисурни диамантени борери за обратен наконечник № RA 857806204110524 (Meisinger, Germany).

Използваните материали в изследването са: композит- модифициран ГЙЦ - FUJI –LC II (GC Dental Industrial Corporation); компомер – DYRACT с Prime & Bond NT (DeTrey DENTSPLY) и ФКМ - Herculite (KERR).

### ***1. 3. Материали по задача № 3***

В изследване на степента на херметизация на апроксимални кавитети на дъвкателните зъби кавитета при затворени „сандвич” obtурации са използвани 120 екстрахирани човешки некариозни молари. Използваните пилители са както в задача № 2.

#### ***1. 3. 1. Материали по задача № 3. 1***

Изследване на наклона на емайловия ръб на гингивалната основа на апроксимални кавитети при затворени „сандвич” obtурации е проведено върху 72 интактни екстрахирани постоянни молари без кариеси или други дефекти. Използваните материали в изследването са - композит-модифициран ГЙЦ - FUJI –LC II (GC Dental Industrial Corporation); компомер – DYRACT с Prime & Bond NT (DeTrey DENTSPLY) и ФКМ - Herculite (KERR).

#### ***1.3. 2. Материали по задача № 3. 2***

Сравнителното изследване върху КМГЙЦ и ФЦ като материали за подложки на апроксимални кавитети при затворени „сандвич” obtурации е проведено върху 20 екстрахирани некариозни постоянни молари без налични дефекти. Използваните материали са: композит- модифициран ГЙЦ FUJI – LC II (GC Dental Industrial Corporation); цинкоксифосфатов цимент Adhesor (Spofa) и ФКМ Herculite (KERR).

#### ***1.3. 3. Материали по задача № 3. 3***

В изследване на вида и дебелината на подложката при затворени „сандвич” obtурации на апроксимални кавитети са използвани 28 некариозни екстрахирани интактни молари и дентални материали - композит- модифициран ГЙЦ - FUJI –LC II (GC Dental Industrial Corporation); течен композит - Grandio Flow–NDT (VOCO –Cuxhaven, Germany) и ФКМ - Herculite (KERR).

#### **1.4.1. Материали по задача № 4. 1**

В СЕМ изследване на влиянието на различни средства с краткотрайно антибактериално въздействие върху замърсяващия слой на дентина са използвани 30 екстрахирани интактни човешки молари. Средствата за обработка на замърсяващия слой са различни разтвори: 1. 3 % кислородна вода и 70 % спирт; 2. изотоничен разтвор (ITS) в прескрипция по В. Causton, N. Johnson [1982]:  $\text{CaCl}_2$  – 0.200 g/l;  $\text{KCl}$  – 0.200 g/l;  $\text{NaCl}$  – 8.00 g/l;  $\text{NaHCO}_3$  – 1.00 g/l;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  – 0.05 g/l - 0.05 g/l;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  – 0.05 g/l; Glucose – 1.00 g/l.; 3. CHELATEX (15% двунатриева сол на ЕДТА – комплексон III, 0.75% цетил-триметил-амониев бромид и ексципиент довеждащ до pH 7,3 [Б. Инджов]; 4.10 % воден разтвор на полиакрилова киселина. Използвани пилители: диамантен сепаратор 90-120 $\mu\text{m}$  (Meissinger, Germany-916DH806900327544) и диамантен сепаратор 150-180 $\mu\text{m}$  (Meissinger, Germany-916DH806900327544).

#### **1.4. 2. Материали по задача № 4. 2**

За идентифициране на микроорганизми от апроксимален зъбен кариес и определяне на повлияването им от някои антибактериални средства, използвани за обработка на дентина са изследвани 15 пациенти на възраст от 25 до 35 години с апроксимални кариеси на премолари или молари. Подбрани са индивиди, развили повече от два нови кариеса за последните 30-36 месеца, след като са били санирани. На всички са направени тестовете за оценка на състоянието на слюнката (Saliva check тест, GC Corporation, Japan).

#### **1.5. Материали по задача № 5**

В рентгенографско изследване за определяне вида на гингивалната основа са изследвани 356 пациенти от амбулатория за първична дентална помощ със „сандвич“ obtурации на апроксимални повърхности на дъвкателни зъби на възраст от 25 до 45 години. Рентгенографски са изследвани 1155 зъба с 1361 obtурации. Гингивалните основи на медиодистооклузалните obtурации са описани самостоятелно независимо дали са изработени като една или две отделни obtурации. Подборът на пациентите, включва апроксимални композитни obtурации, които имат гингивална основа над ЕЦГ с ръб разположен в емайла, запазен междузъбен контакт със съседния зъб и които не са свърхконтурирани.

## **2. Методи**

1. Цитотоксичност върху клетъчни култури-описана в задача № 1.1.
2. Хистологични методи-описани в задача № 1.2.
3. Оцветителна методика за микропросмукване-описана в задача № 2 и задача №3.
4. Сканираща електронна микроскопия на повърхностни зъбни срезове-описана в задача № 4.1.
5. Микробиологични методи-описани в задача № 4.2.
6. Тестове за оценка на слюнката-описани в задача № 4.2.
7. Статистически методи.

### **Методи по задачи**

#### **2.1. Методи по задача № 1.**

*Изследване на медико-биологичните качества на глас-йономерните цименти, използвани като подложки при obtуриране на дълбоки апроксимални кариеси на дъвкателните зъби.*

##### **2.1.1. In vitro изследване на цитотоксичността на ГЙЦ върху клетъчни култури**

Материалите са подготвени съгласно инструкцията на фирмата производител и чрез аналитична везна са измерени парченца с големина  $0.00200 \pm 0.00050$  грама. Така изготвените образци по 10 броя от материал се поставят в термостат за 24 часа при  $37^{\circ}\text{C}$  при 50 % влажност, за да завършат процесите на втвърдяване. Опитните образци се поставят в центъра на петриева паничка. Подготвят се по десет петрита за всеки материал. Резултатите се отчитат на 24-тия и 72-рия час.

Изследването е повторено след една година по същата методика. Използвани са същите дентални материали. За ГЙЦ опаковките са същите. През този период от тях са изработвани подложки и obtурации. Съхранявани са на стайна температура.

Измененията в културелната среда се наблюдават под инвертен фазовоконтрастен микроскоп на едно и също увеличение ( $\times 160$ ). Резултатите се отчитат по следните параметри :

1. Относителен растеж на клетките в културата – изчислява се в проценти;
2. Морфология на клетките;

3. Адхезия на витални клетки към свободната повърхност на материала.

Клетъчните култури се оцветяват с трипаново синьо. Проницаеми за оцветителя са само мъртвите клетки.

### ***2.1.2. In vivo изследване на тъканната реакция на ГИЦ върху опитни животни***

#### ***Методи на хистологично изследване***

Изследването се провежда по методика на J. W. Stratford. Материалите за изследване се разбъркват съгласно инструкциите на производителя и се поставят в пласмасови тръбички с два отвора (5мм x 0.5мм x 0.25 мм), които се имплантират асептично в подкожната съединителна тъкан за 1-вия ден, 3-тия ден, 10-тия ден, 30-тия ден и 60-тия ден субскапуларно. От животните се взима материал за хистологично изследване от участъка, намиращ се в непосредствен контакт със свободния отвор на тръбичката.

Материалите се фиксират в 10% неутрален формалин. На парафинови срези с дебелина 5 микрона се провеждат оцветявания с: хемалаун еозин (ХЕ); по Ван Гизон за съединителна тъкан и Гомори за ретикулни влакна.

Електронно-микроскопско изследване: Материалите се обработват по стандартен метод с предварителна фиксация в 4% глутар алдехид, 2% OsO и включване в дуркопан. Отчитат се вариациите в степените на дистрофични, възпалителни, пролиферативни и некробиотични процеси.

Възпалителните елементи са броени чрез окулярна мрежа (20 мм x 20 мм) на светлинен микроскоп (NU – 2) в 25 полета от препаратата.

### ***2.2. Общи използвани методи по задачи № 2 и №3***

#### ***Метод за изследване на микропросмукването по оцветителна методика***

Изготвените и obtурираните образци са съхранявани в дестилирана вода за 48 часа при 37<sup>0</sup>С и 100 % влажност, след което се подлагат на термоциклиране за 300 цикъла. Един цикъл включва 30 секунди на температура 5<sup>0</sup>С±5<sup>0</sup>С и 30 секунди на температура 55<sup>0</sup>С± 5<sup>0</sup> С с трансферно време 5 секунди.

Специално за целите на изследването бе създаден по наше предложение апарат за термоциклиране от фирма „Марвел – ООД”. Апаратурата осигурява и поддържа в един контейнер температура от 5<sup>0</sup>С

$\pm 5^{\circ}\text{C}$ , а в друг температура от  $55^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ . На предната част на апарата е оставен дисплей за отчитане на температурата. Чрез механична ръка и електронно настройване образците, поставени в контейнер, могат да се потапят последователно в контейнерите с различна температура. Съобразно заданието задържането на образците в топлия и студения контейнер може да бъде задавано точно. Времето за трансфер на образците също така е регулируемо. За задвижване на механичната ръка е необходим съгъстен въздух от компресор под налягане. Броят на необходимите цикли също така може да се програмира. На фигура № 1 е показана изработената уникална апаратура за термоциклиране на експерименталните образци.



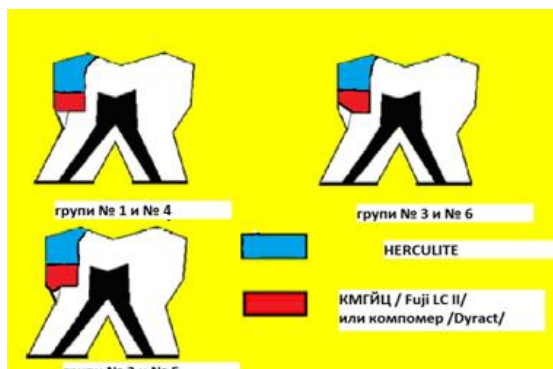
**Фигура №1.** Апарат за термоциклиране на образци с програмиране на циклите и механично, автоматизирано потапяне (механична ръка)

След това образците се подсушават, апикалните им части се запечатват със самополимеризираща пластмаса (PreVision CB-Heraeus Kulzer, Germany) и се намазват с лак, който оставя непокрита около 1 мм около ръбовете на obturациите. Потопяват се в 0.5% воден разтвор на метиленово синьо при температура  $37^{\circ}\text{C}$  и 100 % влажност за шест часа. Образците се промиват, разрязват се надлъжно по аксиалната ос на зъба в медиодистална посока през obturацията и се наблюдават под светлинен микроскоп на 20 пъти увеличение (D.F.Vasconcellos S.A. – Brasil). Пенетрацията на багрилото се оценява по следната скала както за гингивалната, така и за оклузалната стена на кавитета : 0-няма проникване на багрило; 1-проникване на багрилото в емайла до 1/3 от дълбочината на

кавитетната стена; 2-проникване на багрилото след емайло-дентинната граница и до половината от гингивалната стена; 3-проникване на багрилото до гингивоаксиалния линеен ъгъл на кавитета; 4-проникване на багрилото след гингивоаксиалния линеен ъгъл към пулпата.

### 2. 2. 1. Методи по задача № 2

За изследване степента на херметизация на апроксимални кавитети на дъвкателните зъби в зависимост от наклона на емайловия ръб при отворени „сандвич” obtурации върху дисталните апроксимални повърхности на моларите се препарират II клас кавитетни форми със следните размери: медио-дистална ширина 3 мм, аксиален размер 5 мм при дълбочина на оклузалната част 2 мм от емайло-дентиновата граница. Гингивалният ръб на кавитета е разположен в емайл. Емайловият ръб на гингивалната основа се обработва по три начина: под ъгъл  $90^{\circ}$  спрямо апроксималната повърхност на зъба, с наклон от около  $45^{\circ}$  спрямо апроксималната повърхност или около  $45^{\circ}$  към аксиалната стена на кавитета (фигура №2 и таблица №2).



Фигура № 2. Експериментални групи зъби съобразно обработката на гингивалната основа и отворени „сандвич” obtурации

Таблица №2. Експериментални групи зъби

Материали ГО Групи	Подложка		Обтурация	Конфигурация на Гингивалната Основа		
Гр. №1	КМГЙ Ц		КМ	под 90 <sup>0</sup>		
Гр. №2			КМ		с фаза апрокси мално	
Гр. №3			КМ			с вътрешен наклон пулпарно
Гр. №4		компо мер	КМ	под 90 <sup>0</sup>		
Гр. №5			КМ		с фаза апрокси мално	
Гр. №6			КМ			с вътрешен наклон пулпарно

Зъбите са разпределени в шест групи по 12 зъба и се obturират чрез отворена „сандвич” техника. За подложка в групите №1, №2, №3 е използван КМГЙЦ, в останали три групи №4, №5, №6 - компомер. Окулзално се аплицира КМ с дебелина около 2 мм.

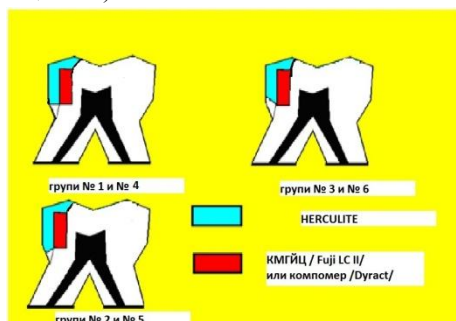
Като средство за отстраняване на замърсяващия слой от кавитетите на зъбите obturирани с КМГЙЦ/КМ е използван 10% воден разтвор на полиакрилова киселина за 10 секунди.

След поставяне на подложката емайловите ръбове на кавитетите се ецват за 15 секунди, промиват се 30 секунди, подсушават се и се нанася адхезивната система - Opti Bond Solo Plus. Последната се разнася в тънък равномерен слой чрез разсеяна въздушна струя и се фотополимеризира за 20 секунди. Композиционният материал се нанася чрез инкрементална техника на три порции. Всички материали са приготвени съгласно инструкциите на производителите и са фотополимеризирани с лампа ELIPAR II ( ESPE) за 40 секунди.

За изследване на микропросмукването е използвана описаната в т.2.2. оцветителна методика.

### 2. 2. 2. Методи по задача № 3. 1

В изследване значението на наклона на емайловия ръб на гингивалната основа на апроксимални кавитети при затворени „сандвич” obtурации зъбите са подготвени с препарирани кавитети както в задача №2. Obtурирани са чрез затворена „сандвич” техника. Върху аксиалната стена на кавитета се нанася до емайлодентиновата граница КМГЙЦ Fuji LC II на образците в три от групите или компомер Dyract на образците в останалите три групи и се покрива с композит HERCULITE по инкрементална техника (фигура № 3 и таблица № 2).



**Фигура № 3.** Експериментални групи зъби с различни наклони на гингивалните основи и obtурации затворен „сандвич”

Образците се разделят в 6 групи по 10 зъба.

Средството за отстраняване на замърсяващия слой от дентина за образците от групите № 1, №2 и №3 е 10% воден разтвор на полиакрилова киселина за 10 секунди.

В групи №1, №2, №3 се поставя КМГЙЦ като подложка до ЕДГ и се фотополимеризира за 40 секунди. В групи №4, №5, №6 по инструкциите на производителя се поставя бондът предвиден за компомера и след това самия компомер като подложка. КМ се поставя както в задача №2. За оценка на микропропускливостта се използва скалата описана по-горе.

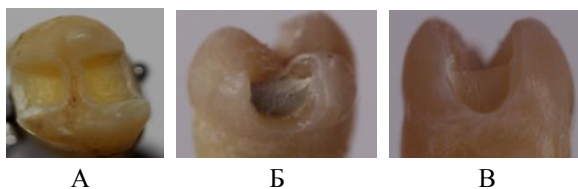
### 2.2.3. Методи по задача № 3. 2

В сравнителното изследване на КМГЙЦ и ФЦ като материали за подложки на апроксимални кавитети при затворени „сандвич” obtурации са изработени апроксимални кавитетни форми със следните размери: вестибуло-лингвален размер 4 мм, медио-дистална ширина 3 мм, аксиален размер 3 мм. Оклузално емайловите ръбове на кавитетите се абразират

(фигура №4). Емайловият ръб на гингивалната основа не е взет във фаза. Зъбите са разделени в две групи по 14 кавитета във всяка група.

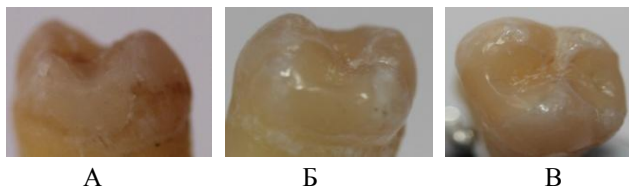
- Група 1. Fuji-LC II (цвет A3) и Herculite XRV (цвет A3);
- Група 2. Adhesor и Herculite XRV (цвет A3);

Разликите между първа и втора групи са във вида на материала за подложка. При използване на ГЙЦ замърсяващият слой е отстранен с 10% полиакрилова киселина, докато при поставянето на ФЦ обработката на дентина е с 3% кислородна вода и 70% спирт. Подложките се изработват до емайлодентиновата граница съответно от КМГЙЦ (група №1) и ФЦ (група №2).



**Фигура № 4 А.** Експериментален образец на препарирани втори клас кавитет с взети във фаза оклузални ръбове. **Фигура № 4 Б.** Експериментален образец на втори клас кавитет от група №2 непосредствено след нанасяне на цинкоксифосфатния цимент до емайлодентиновата граница. **Фигура № 4 В.** Експериментален образец на втори клас кавитет от група №1 непосредствено след нанасяне на глас-йомерен цимент като подложка до емайлодентиновата граница

Обтурациите от фотокомполит се изработват както в задача № 2.(фигура № 5А). Готовите обтурации се финират и полират с Venus Supra (Polisher Refill 0197 – Heraeus Kulzer GmbH, 63450 Hanau Germany), видимо на фигура № 5Б и №5В.



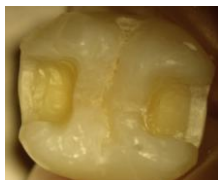
**Фигура № 5 А.** Експериментална обтурация на втори клас кавитет от група 2 непосредствено след нанасяне на КМ. **Фигура № 5 Б.** Експериментална обтурация на втори клас кавитет от група 2 непосредствено след полиране, изглед от апроксимално. **Фигура № 5 В.**

Експериментална obtурация на втори клас кавитет непосредствено след полиране с изглед от оклузално

За изследване на микропросмукването е използвана описаната оцветителна методика.

#### **2.2.4. Методи по задача № 3. 3**

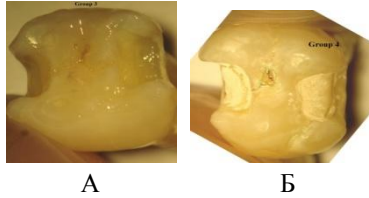
За изследване на вида и дебелината на подложката при затворени „сандвич“ obtурации на апроксимални кавитети са изработени медио-оклузални и дисто-оклузални кавитети на 28 екстрахирани молари с размери: вестибуло-лингвален 4 мм, медио-дистален 3мм и аксиален размер 4мм. Емайловият ръб е скосен по всички ръбове на кавитета, включително и по гингивалната основа с широчина 0.5 - 1.0 мм.



**Фигура № 6.** Вид на изработените експериментални кавитети за провеждането на изследването

Зъбите са разделени в четири групи по 14 кавитета и са obtурирани както следва.

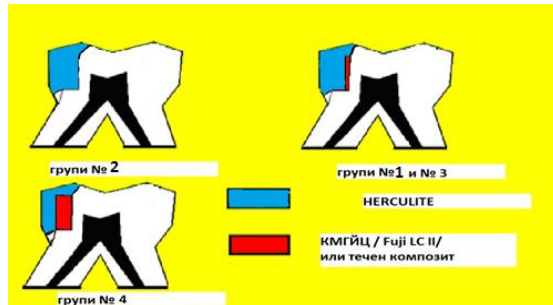
**Група 1.** Цялостно ецване на кавитета с 37% ортофосфорна киселина за 15 секунди, промиване и подсушаване. Следва аплициране на течен композит Grandio Flow–NDT (VOCO,Cuxhaven,Cermany) като подложка само по аксиалната стена на кавитета в слой около 1 мм и фотополимеризиране за 20 секунди с халогенна лампа. **Група 2.** Почистване с 3% кислородна вода и 70% спиртен разтвор, след което нанасяне на ецващ гел за 15 секунди, **Група 3.** Почистване с 3% кислородна вода и 70% спиртен разтвор. Аплициране на 10% полиакрилова киселина в кавитета за обработка на замърсяващия слой за 10 секунди, промиване и подсушаване. Нанасяне на подложка от глас-йономерен цимент Fuji II LC в тънък слой, така че да остане 2 мм свободна повърхност (дентин и емайл). **Група 4.** Почистване с 3% кислородна вода и 70% спиртен разтвор. Нанасяне на 10% полиакрилова киселина в кавитета за обработка на замърсяващия слой за 10 секунди, промиване и подсушаване. Аплициране на подложка от глас-йономерен цимент Fuji II LC, така че само емайлът да остане непокрит



**Фигура № 7 А.** Образец от група 3 с поставена подложка от тънък слой КМГЙЦ и аплициран адхезив на композита **Фигура № 7 Б.** Образец от група №4 с поставена подложка до емайлодентиновата граница от КМГЙЦ.

За всички групи е използвана системата Opti Bond Solo Plus чрез втриване (20 секунди) и облъчване за 20 секунди съгласно инструкциите на производителя. Нанасянето на фотокомпозиционния материал Herculite е както в задача №2.

Експерименталните групи кавитети са представени схематично на фигура №8 и таблица №7.



**Фигура № 8.** Експериментални групи зъби съобразно дебелината на подложката и вида на кавитета

**Таблица № 3.** Експериментални групи

Материали ГО Групи	Подложка	Обтурация	Конфигурация на Гингивалната Основа
Гр. №1	Течен КМ	КМ	с фаза апроксимално
Гр. №2	Няма подложка	КМ	
Гр. №3	Тънък слой КМГЙЦ	КМ	
Гр. №4	Дебел слой КМГЙЦ	КМ	

Група № 2 е obtурирана само с КМ, без подложка. Група №1 и група №3 се различават по вида на нанесената подложка – съответно течен композит или глас-йонимер, но имат еднаква дебелина около 1 мм по аксиалната стена на кавитета. Група № 4 е obtурирана с КМГЙЦ като подложка достигаща до ЕДГ и покрита с КМ.

За изследване на микропросмукването е използвана описаната оцветителна методика.

### **2.3.1. Методи по задача № 4. 1**

За изследване на влиянието на различни средства с краткотрайно въздействие върху замърсяващия слой на дентина чрез сканираща електронна микроскопия екстрахираните зъбите се потапят за 24 часа в 10% разтвор на формалин, измиват се с четка и вода и се съхраняват във физиологичен разтвор в хладилник до един месец.

Замърсяващият слой се създава по методиката на D.H. Pashley и съавтори. Първоначално 25 зъба се срязват с диамантен сепаратор при 24 000 оборота напречно на зъбната коронка и на около 3 мм под най-дълбоката фисура, но без да се достига до зъбната пулпа. Самият замърсяващ слой се получава като се обработва два пъти повърхността по 10 секунди с диамантен сепаратор с едрина на частиците 90-120 μm (Meissinger, Germany) при 6000 оборота в минута с междинно потапяне във физиологичен разтвор за 30 секунди (групи № 1, 2, 3, 4 и 5).

На пет зъба замърсяващият слой се получава чрез двукратно обработване на повърхността по 10 секунди с диамантен сепаратор 150-180 μm (Meissinger, Germany) при 6000 оборота в минута с междинно потапяне във физиологичен разтвор за 30 секунди (група № 1a).

Зъбите се разделят в пет групи по пет зъба както следва: 1 група - без обработка на замърсяващия слой (същият е получен с диамантен сепаратор 90-120μm); 1a група- без обработка на замърсяващия слой (същият е получен с диамантен сепаратор 159-180μm); 2 група – замърсяващият слой е obtрит на повърхността с 3 % кислородна вода и 70 % спирт (трикратно с кислородна вода- по 5 секунди и накрая еднократно със спирт за 5 секунди); 3 група- замърсяващият слой е obtрит с ”изотоничен” разтвор (ITS) по прескрипция по В. Causton и N. Jonhson за две минути (разтворът е създаден, за да подобри връзката на ГЙЦ с дентина на ТЗТ); 4 група – замърсяващият слой е obtрит с Chelateх за три секунди; 5 група –

замърсяващият слой е обтрит с 10 % воден разтвор на полиакрилова киселина за 10 секунди;

Образците в групи №1 и 2 са контроли. Обработените зъбни повърхности се измиват с воден и въздушен шпрей по 5 секунди. Така изготвените образци се изсушават под вакуум за два часа, покриват се с 300 Å злато. Наблюдават се под сканиращ електронен микроскоп SEI 0 PHILLIPS на увеличение 2500 и 20 000 при волтаж 30 kV.

### **2.3.2. Методи по задача № 4. 2**

За целите на изследването е подготвена индивидуална карта (виж приложение №1), в която са включени е нанесен само крайният резултат от следните данни:

1. Зъбен статус - брой налични зъби, брой обтурации и нови кариеси;
2. Орално хигиенен индекс (ОHI) по оцветителна методика за оценяване на оралната хигиена [Green-Vermilion].;
3. Папила блийдинг индекс (PBI) за оценяване на състоянието на пародонталните тъкани [Saxer]. Стойностите му са: 0- липса на кръвене; 1- наличие на единична кръвяща точка; 2- наличие на тънка линия кръв на гингивалния ръб или няколко кръвящи точки; 3- изпълване на интерденталния триъгълник с кръв; 4- профузно кръвене. Сондира се по квадранти I квадрант – палатинално; II квадрант – от вестибуларно, III ти квадрант – от лингвално, IV ти квадрант – от вестибуларно.
4. Тест за оценка състоянието на слюнката (Saliva check Buffer -GC Corporation, Japan) по следната схема:

Тест 1 –Визуално определяне на *нивото на хидратация*- чрез измерване на времето, за което се формират капчици слюнка върху изхода на жлезите на долната устна: 1.ниско ниво на хидратация (повече от 60 секунди); 2.нормално ниво на хидратация (за време до 60 секунди);

Тест 2 – *Консистенция на слюнката*:1.повишена вискозност (лепкава, пенеста слюнка); 2.средно изразена вискозност (пенеста слюнка с мехурчета); 3.нормална визкозност (водниста слюнка);

Тест 3 –Пациентът събира слюнката в съответна мерителна чашка за 5 минути, след като е дъвкал парче восък в продължение на 5 минути. Измерване на *количеството на стимулираната слюнка* се определя по- скалата: 1.много ниско - до 3.5 ml; 2.ниско – 3.5 до 5 ml.; 3.нормално –над 5 ml.

Тест 4 – измерване на рН на слюнката: висока киселинност – 5.0 - 5.8; умерена киселинност – 6.0 - 6.6; нормална киселинност – 6.8 - 7.8;

Тест 5 – изследване на *буферния капацитет на слюнката*: много нисък буферен капацитет – 0-5; нисък буферен капацитет – 6-9; нормален буферен капацитет – 10 -12 .

Изследването е извършено в две посещения на пациентите. В първото е направен преглед, обследване и диагностика, данните са нанесени в изготвена карта (приложение №1). Подбрани са зъби с диагноза caries profunda. Във второто посещение кариозното огнище е разкрито и е взет материал за микробиологично изследване от избраната дълбока апроксимална кариозна лезия.

Проба №1 за микробиологично изследване се взема с приготвен стерилен кръгъл стоманен борер № 012 (Meisinger, Germany) от избраната кариозната маса. Постава се в транспортна хранителна среда.

Проба №2. След окончателното отстраняване на кариозната тъкан и последователно обтриване със стерилни тупфери с 3 % кислородна вода е взета проба №2. Взетият материал се поставя в транспортна хранителна среда.

Проба №3. Така изработения кавитет се обработва с озон за 6 секунди (продължителността на озонирането е съгласно инструкциите на производителя на апарата) и се взема проба за микробиологично изследване. Използван е озонгенератор – Prozone (TIP TOP TIPS Sarl, Switzerland) с корононакрайник за директна дезинфекция на кавитета.

Взетите микробиологични проби се поставят в транспортна среда на Stuart и се изпращат в Анаеробна лаборатория на НЦЗПБ.

#### **2.4. Методи по задача № 5**

За рентгенографското изследване на „сандвич” обтурации на апроксимални кавитети на дъвкателни зъби са направени ретроалвеоларни рентгенови снимки по Дик в областта на естетичните обтурации на дъвкателните зъби на избраните пациенти по стандартните центражи.

Оценката на всяка обтурация е съобразно конфигурацията на гингивалната основа: 1-хоризонтална гингивална основа на кавитета спрямо аксиалната ос на зъба; 2-наклонена гингивална основа на кавитета към междузъбното пространство; 3-конкавна гингивална основа на кавитета с вдълбнатина по посока на зъбния корен и изразен изпъкнал ръб към емайловия ръб на гингивалната основа.

На всяка рентгенова снимка е оценена плътността на гингивалната зона по следната скала: 0-няма процеп по гингивалната основа на кавитета; 1-има процеп по гингивалната основа на кавитета; 2-има оформено кариозно огнище.

### **2.5. Статистически методи**

Данните бяха въведени и обработени със статистическия пакет IBM SPSS Statistics 19.00. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза, бе избрано ( $p < 0.05$ ). Бяха приложени следните анализи [29]: 1. *Вариационен анализ* - изчисляване на оценките на централната тенденция и разсейване. 2. *Графичен анализ* – за визуализация на получените резултати. 3. *Корелационен анализ*- за проверка на наличието на линейна зависимост между количествени признаци. 4. *T-тест на Student-Fisher* – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки. 5. *Непараметричен тест на Mann-Whitney* – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.

## **IV. Резултати**

### **1. Резултати по задача № 1**

*Изследване на медико-биологичните качества на глас-йономерните цименти, използвани като подложки при obtуриране на дълбоки апроксимални кариеси на дъвкателните зъби.*

#### **1.1. In vitro изследване на цитотоксичността на ГЙЦ върху клетъчни култури**

**Степен на относителен растеж.** Резултатите от проведеното изследване са за два периода – период А след отваряне на опаковките от изследваните материали (съответно 24-ия и 72-ия час) период Б след една година (съответно 24-ия и 72-ия час). Статистическата обработка на резултатите между 24-ия и 72-ия час доказва ниво на значимост  $p < 0.05$ .

Резултатите за цинкоксифосфатовия цимент показват, че няма статистически значима разлика за отделните времена в период А и в период Б, както и при сравняване на резултатите между различните периоди. При този материал се запазва ниска степен на относителен растеж на клетките (13-14,6%). Вероятно е свързано с по-дълготрайното излъчване на токсични вещества от състава му. Ортофосфорна киселина се излъчва до 6 ден от втвърдяването му.

Данните за поликарбоксилатния цимент показват ниска степен на относителен растеж, като за период А разликата между 24-ия и 72-ия час е статистически значима ( $p=0.009$ ). Резултите се влошават статистически ( $p=0.009$ ) между 24-ия час на периодите - първоначално и след употреба на материала от опаковката в продължение на една година.

Резултатите за калциевохидроксидния цимент показват висока степен на относителен растеж (87,8% до 97,8%). За изследваните периоди не се достигат 100%, въпреки че калциевохидроксидните цименти се считат за златния стандарт в пулпопокривните средства. Има статистически значима разлика между 24-ия и 72-ия час както за период А, така и за период Б ( $p=0.009$ ). Не се установява статистически значима разлика първоначално и след употреба на материала от опаковката в продължение на една година. Вероятно тук значение има видът на опаковката не позволяващ замърсяване на материала, тъй като е в тубички.

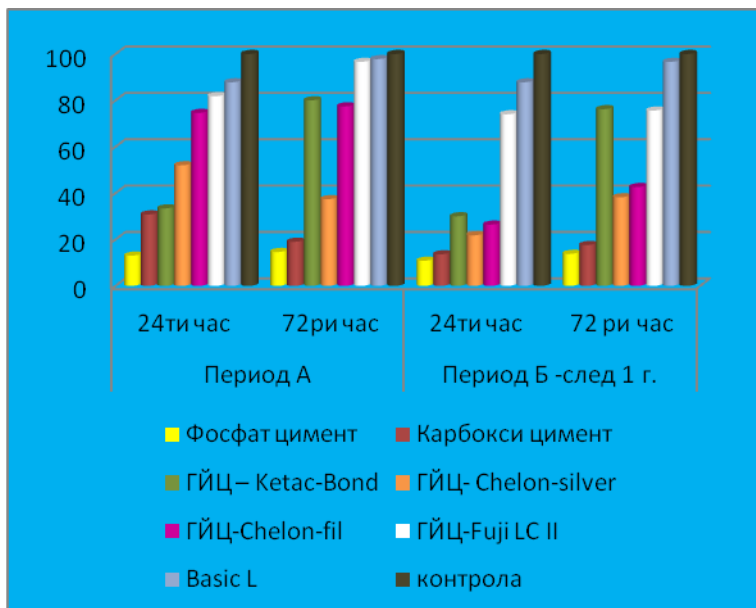
Данните за Chelon-silver (кермет) сочат значително по-ниска степен на относителен растеж за 24-ия час и за 72-ия час. Резултатите достоверно се влошават на 24-ия час за двата изследвани периода - първоначално и след употреба на материала от опаковката в продължение на една година (52% до 21,8%) ( $p=0.009$ ).

Резултатите за КМГЙЦ- Fuji-LC II показват добри показатели относно степента на относителен растеж на клетъчните култури на 24-ия и на 72-ия час (81,8% до 96,6%) ( $p=0.009$ ) на период А. За втория изследван период Б (употреба на материала от опаковката в продължение на една година) резултатите се влошават (74% до 75,6%), като няма статистическа значимост между 24-ия и 72-ия час на опита. Сравняването на резултатите след отваряне на опаковката и след употреба на материала в продължение на една година, показва статистически значимо намаляване на степента на относителен растеж на клетъчните култури ( $p<0.05$ ).

При проведеното *in vitro* изследване глас-йонмерният цимент Ketac-Bond позволява растеж на клетъчните култури от 30% до 80% от 24-ия до 72-ия час на периодите А и Б. При този цимент клетъчните култури се развиват сравнително по-добре ( $p<0.05$ ) на 72-ия час от изследването през двата периода А и Б. След употреба на материала от опаковката в продължение на една година статистически достоверно се влошава степента на относителен растеж на клетките на 24-ия и на 72-ия час на експеримента ( $p<0.05$ ).

При глас-йонимерът Chelon- fil се получава от 74,6% до 77,4 % относителен растеж в началния период на експеримента. Резултатите се влошават достоверно между 24-ия час и 72-ия час за двата изследвани периода ( $p < 0.05$ ).

Резултатите за степента на относителен растеж на клетъчните култури, получени от настоящото изследване са визуализирани на фигура №9.

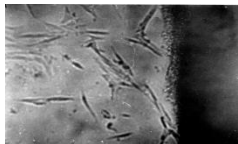


**Фигура № 9.** Степен на относителен растеж на клетъчните култури под влияние на изследваните материали на 24-ия и 72-ия час за двата изследвани периода

Една година след употреба на материала от опаковката ГЙЦ цименти Fuji LC II, Chelon Fil и Ketac-Bond провокират статистически значима по-ниска степен на относителен растеж на клетките в сравнение с първото изследване. След една година при поликарбоксилатния цимент и при кермета Chelon-Silver статистически значимо се влошават условията за развитие на клетките на 24-ия час.

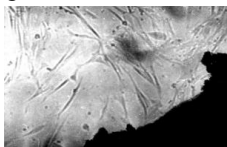
**Морфология на клетките.** В културите с калциево-хидроксиден, КМГЙЦ и бързовтвърдяващия се глас-йонимерен цимент Ketac –Bond няма цитопатичен ефект на клетките за 72-ия инкубационен период. При

другите два глас-йонимерни цимента Chelon-Fil и Chelon-silver, а също и при ФЦ и ПКЦ се наблюдава изразен цитопатичен ефект в протоплазмата на клетките - цитоплазматични грануляции, окръгляване и мултипленост на ядрото.



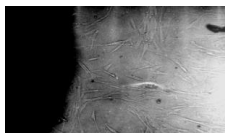
**Фигура №10.** Образец от глас-йонимерен цимент Fuji LC II на 24-тия час от изследването. Увеличение 160X

Клетките в съседство на материала Fuji LC II имат нормална морфология с правилна вретеновидна форма. В единични клетки се наблюдават окръглявания в протоплазмата.



**Фигура №11.** Образец от Chelon – Fil на 72-рия час от изследването. Увеличение 160X

В непосредствена близост до образеца на материала се виждат клетки с нормална морфология - запазена вретеновидна форма и единични клетки с окръглявания в протоплазмата.

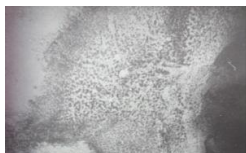


**Фигура № 12.** Образец от калциево хидроксидния цимент Basic-L на 24-ия час от изследването. Увеличение 160X

Напълно запазени и непроменени клетки се наблюдават в непосредствена близост до материала и върху него.

**Адхезия на клетки.** При калциево-хидроксидния цимент, КМГЙЦ (Fuji LC II) и Chelon-Fil се намират витални клетки (с правилна вретеновидна форма) както върху материала, така и прилепнали към него. Такива липсват при фосфат и карбоксилатния цименти, както и при от глас-йонимерния цимент кермет Chelon-silver.

В групите на Chelon-silver и по-малко на Chelon-Fil наблюдавахме размиване на самия материал и разпръснати частички от него сред клетъчната култура.



**Фигура № 13.** Образец от кермета Chelon-silver на 24-ия час от изследването. Увеличение 160X

Раздробяване и размиване на материала Chelon-silver. Материалът потъмнява, което вероятно се дължи на среброто в състава му. Няма никакви витални клетки в непосредствена близост до материала.

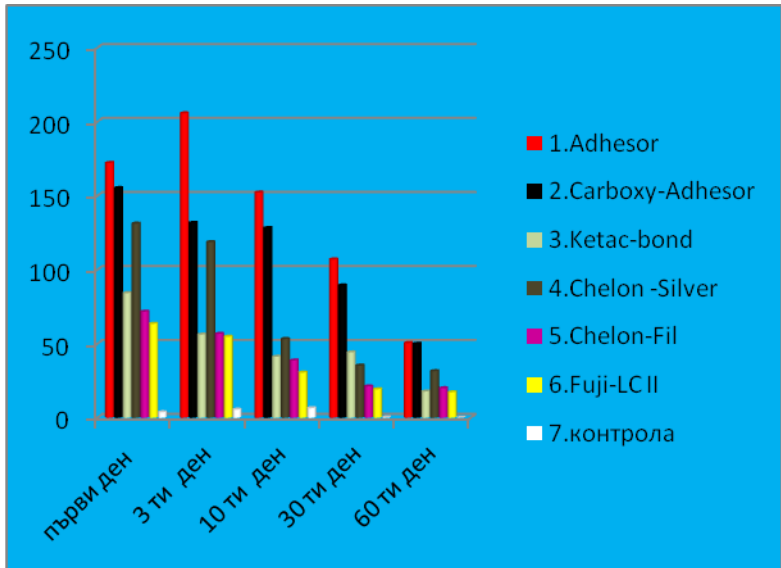
### ***1.2. Резултати по задача № 1. 2***

Резултатите от In vivo изследване на тъканната реакция на ГЙЦ върху опитни животни са показани на фигура № 14.

Резултатите от хистологичното проучване показват, че всички изследвани материали (цинкоксифосфатен, поликарбоксилатен, различните видове глас-йономерен цимент) дават статистически значима разлика между първия и шейсетия ден от експеримента, както и между 3-ия и 60-ия ден от експеримента. Резултатите варират в зависимост от вида на материала. Във всички изследвани образци се наблюдава прогресивно намаляване на възпалението.

Най-слаба възпалителна реакция се установява при КМГЙЦ FUJI-LC II и ГЙЦ – Chelon-Fil през всички периоди на изследване ( $p < 0.05$ ). Статистически достоверно най-силно изразено възпаление причиняват цинкоксифосфатовият, поликарбоксилатният цименти и керметът (Chelon-Silver) ( $p < 0.05$ ).

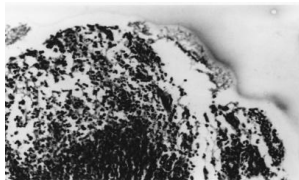
Сравняването на резултатите между изследваните цименти на 1-3 ден от експеримента показва статистически значимо изразена реакция на възпаление – силна за фосфат цимента, поликарбоксилатния и ГЙЦ-кермет, и значително по-слаба за ГЙЦ (Ketac –bond, Fuji-LC II, Chelon – Fil). Резултатите са съпоставими с получените от изследването за цитотоксичност (фигура № 9).



**Фигура № 14.** Графично изражение на абсолютния брой възпалителни клетки вследствие тъканната реакция на опитните животни под влияние на изследваните цименти

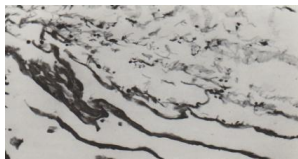
При всички изследвани дентални материали хистологичното изследване показва демонстративни отклонения в сравнение с контролите още на 24 тия час от опита. В зависимост от приложения материал реакцията преминава за различно време.

**Цинкоксифосфатен цимент (ADHESOR).** На първия ден от опита в контактната тъкан хистологично се установява микрофокална некроза с дебелина 0.05 мм, локализирана в непосредствена близост с цимента. Около нея се образува вал от полиморфонуклеарни левкоцити с пикнотични ядра, лимфоцити и плазмоцити. Кръвоносните съдове са дилатирани, с пролиферирали на места ендотел. Макрофагите и еозинофилите са единични.



**Фигура №15.** Тъканна реакция към цинкоксифосфатен цимент. Трети ден от опита. Оцветяване ХЕ. Увеличение 1,5X

Наблюдава се микрофокална некроза с вал от полиморфноклетъчни левкоцити, плазмоцити и макрофаги. На третия ден некротичните полета колабират и се превръщат в грануломи от възпалителни клетки. Между десетия и тридесетия ден възпалението хронифицира като доминират предимно лимфоцитите и фибробластните струпвания сред мрежа от тънки аргирофилни влакна.



**Фигура №16.** Тъкнна реакция към цинкоксифосфатен цимент. Шейсети ден от опита. Оцветяване Ван Гизон. Увеличение 1,5X

На шестдесетия ден процесът завършва със силно редуциран възпалителен инфилтрат сред аргирофилна мрежа от тънки колагенни влакънца.

**Поликарбокилатен цимент (Carboxy).** Некротични изменения не се установяват, но контактната тъкан е обхваната от средно до незначително изразена възпалителна реакция, състояща се от пикнотично променени левкоцити, лимфоцити и плазмоцити. Съдовата реакция е силна, капилярите са дилатирани с имбибирани от плазма стени и оскъдна пролиферация на съдов ендотел. Макрофагите са единични. Между тях се вплитат тънки колагенни нишки, а възпалителният инфилтрат рязко се ограничава в отделни клетъчни грануломи. На шейсетия ден по контактната повърхност се установява тънка капсула, състояща се предимно от аргирофилни и тънки колагенни влакна.

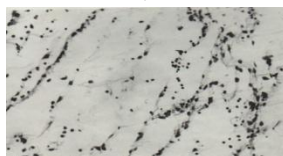
**Бързовтвърдяващ се ГЙЦ (Ketac –bond).** Хистологично на първия ден от опита контактната зона е обхваната от остър неспецифичен възпалителен процес, без видими некротични промени в тъканта.



**Фигура №17.** Тъкнна реакция към Ketac –bond. Трети ден от опита. Оцветяване ХЕ. Увеличение 1,5X

Наблюдават се перивазални клетъчни грануломи от полиморфоклетъчни левкоцити и плазмоцити.

Хлабавата съединителна тъкан е оточна, с разширени кръвоносни съдове, около които се формират по-малки или по-големи клетъчни грануломи от пикнотични полиморфоклетъчни левкоцити и плазмоцити. В близост със съдовите стени се локализируют единични групи от еозинофили. На третия ден реакцията е все още с остър характер, но между 10 тия и 30 тия ден тя хронифицира. Съдовата реакция намалява. Клетъчният инфилтрат се редуцира до отделни грануломи от лимфоцити и плазмоцити сред тънка мрежа аргирофилни и колагенови влакнца.



**Фигура № 18.** Тъканна реакция към Ketac –bond. Шейсети ден от опита. Оцветяване ХЕ. Увеличение 7,69X

На 60-ия ден има намаляване на възпалителния инфилтрат. Контактната повърхност е маргинирана от рехавата ретикулна мрежа с вплетени колагенни влакна.

**ГЙЦ кермет (Chelon-silver).** В контактната група на 24-тия час се установява умерено изразен инфилтрат от полиморфоклетъчни левкоцити в пикноза, валообразно обградени от лимфоцити и плазмоцити. Некроза не се наблюдава. Макрофаги не се установяват. На третия ден от опита възпалителният инфилтрат е силно редуциран, предимно за сметка на левкоцитарната реакция. Персистируют предимно лимфоцити под формата на малки огнища, повлекла от млади фибробласти и съдови ендотелии. Между 10-тия и 30-тия ден участъкът е обхванат от добре изразена аргирофилна мрежа с тънки колагенни влакна. Процесът на 60-тия ден завършва с образуване на рехавата фиброзна капсула, с оскъден възпалителен инфилтрат сред нея.

**Бързовтвърдяващ се ГЙЦ (Chelon – Fil).** Между първия и третия ден от опита хистологично се установява оток на рехавата съединителна тъкан около контактната повърхност с дилатация на капилярите и плазморагия. Възпалителната реакция е относително слабо изразена под формата на малки перивазални клетъчни маншони от левкоцити, лимфоцити, плазмоцити и единични еозинофили.



**Фигура № 19.** Тъкнна реакция към Chelon - Fil. Десети ден от опита. Оцветяване ХЕ. Увеличение 7,69Х

На 10-тия ден преобладава пролиферация на млади фибробласти с разрастване на аргирофилни влакна под формата на тънка аргирофилна мрежа.



**Фигура № 20.** Тъкнна реакция към Chelon - Fil. Десети ден от опита. Оцветяване по Van Gison. Увеличение 7,69Х

Подобна е хистологичната картина и между 30-тия и 60-тия ден от опита, като възпалителните изменения изчезват, но сред аргирофилните влакна се установяват тънки снопчета колагенни влакна, които свиват мрежата, формирайки млада фиброзна капсула.

**КМГЙЦ (Fuji-LC II).** Подобна е хистологичната картина и при този цимент. В началния период от опита (1-3 ден) възпалителната реакция е относително слабо проявена с отделни левкоцити или грануломчета от лимфоцити и плазматични клетки. Съдовата компонента (дилатация, плазморагия, оток) е умерено изразена. Освен разрастването на аргирофилна мрежа от влакна още на десетия ден се откриват единични или тънки снопчета колагенни влакна. На 60 тия ден се установява тънка, но добре изразена фиброзна капсула.

## **2. Резултати по задача № 2**

Резултатите от изследването на степента на херметизация на апроксимални кавитети на дъвкателните зъби в зависимост от наклона на емайловия ръб при отворени „сандвич” obturации са представени на фигура № 21.

Статистическите резултати от сравняването на микропросмукването между оклузалните и гингивалните ръбове в изследваните групи показва

значими разлики ( $p=0.000$ ) с изключение на група № 5 (с фаза на гингивалната основа) и обтурация от компомер и КМ ( $p=0.455$ ). Оклузалното просмукване на багрилото е статистически значимо ( $p=0.000$ ) по-ограничено отколкото гингивалното (с изключение на група № 5). Сравняването на оклузалното просмукване между всички изследвани групи не показва статистически значими разлики ( $p>0.05$ ).

Когато се изработи хоризонтална основа с ръб, който е перпендикулярен на емайловата повърхност за група № 1, обтурирана с КМГЙЦ и КМ резултатите показват най-малка степен на микропропускливост по гингивалната основа ( $p<0.05$ ) в сравнение с другите две групи № 2 и №3 с идентично възстановяване с КМГЙЦ и КМ, но с различно оформяне на емайловия гингивален ръб на кавитета.

Най-малка степен на микропропускливост по гингивалната основа на обтурираните с компомер и КМ (групи № 4, № 5 и № 6) експериментални кавитети установихме в група № 5 с изработена фаза на емайловия ръб на гингивалната основа ( $p=0.000$ ). Това са и най-добрите резултати за цялата експериментална серия. Група № 4 с фаза на емайловия ръб на гингивалната основа на кавитета за същите обтурации показва статистически по-добри резултати в сравнение с група № 6 (неподплатен с дентин), но в сравнение с група № 5 е със статистически значимо по-неблагоприятни резултати.

Статистически значими разлики има между изследваните групи по отношение на степента на гингивално микропросмукване ( $p<0.05$ ). Различия не се установяват между групи № 1 и №4. Тези групи са с перпендикулярен на апроксималната повърхност емайлов ръб на гингивалната основа, но с различна подложка – в група № 1 от КМГЙЦ, група № 4 компомер. Няма статистически значима разлика относно степента на просмукване на гингивалната основа между групи № 2 и № 6-№ 2 с фаза и обтурирана с КМГЙЦ и КМ, а група № 6 с обратен наклон и обтурирана с компомер.

Както се вижда от получените резултати (фигура №21) с най-висока степен на гингивална микропропускливост са групи № 2, №3 и №6 ( $p<0.05$ ) съответно обратен наклон на емайловия ръб на гингивалната основа (№ 3 и № 6) и фаза на гингивалната основа (№2). Това са групи обтурирани с КМГЙЦ и КМ (№2 и № 3) и компомер и КМ (№6).

Група № 5 обтурирана с компомер и КМ и с фаза на гингивалната основа показва най-ниска степен на гингивално микропросмукване в

сравнение с останалите изследвани групи ( $p < 0.05$ ). Резултатите за гингивалното микропросмуване се доближават до резултатите за оклузално микропросмуване в същата група ( $p > 0.05$ ).



**Фигура № 21.** Микропропускливост при отворена „сандвич” техника

### 3.1. Резултати по задача № 3.1.

Резултатите от изследването на на значението на наклона на емайловия ръб на гингивалната основа на апроксимални кавитети при затворени „сандвич” obturации са представени на фигура № 22.

Сравнени са средните стойности за оклузалната и гингивалната микропропускливост на кавитетите obturирани чрез затворена „сандвич” техника, от които група № 1, № 2 и № 3 имат подложка от КМГЙЦ, а групи № 3, № 4 и № 5 от компомер. Различно е оформянето на емайловия ръб на гингивалната основа на експерименталните кавитети. В групи № 1 и № 4 емайловият ръб на гингивалната основа е под  $90^{\circ}$  спрямо апроксималната зъбна повърхност. При групи № 2 и № 5 емайловият ръб на гингивалната

основа е скосен във фаза, а в групи № 3 и № 6 е изработен обратен наклон към пулпната стена и емайловия рѐб не е подплатен с дентин.

Най-малко микропропускане се получава, когато гингивалната основа на кавитета за obtуриране чрез затворена „сандвич” obtурация (за групи № 1, №2 и №3) се изработи хоризонтално и емайловият рѐб е перпендикулярен на външната зѐбна повърхност (група № 1 – КМГЙЦ и КМ). Това са експерименталните групи obtурирани с КМГЙЦ и КМ. Резултатите са статистически значими ( $p < 0.05$ ). При тези групи има статистическа значимост между оклузалното и гингивалното микропросмукване. Микроскопското изследване на срязаните експериментални образци показва, че независимо от по-малката степен на пропускливост по-гингивалната основа багрилото прониква нагоре към оклузалната повърхност между цимента и obtурацията и достига почти до пулпоаксиалния ъгъл на подложката. В групата на експерименталните образци obtурирани с компомер (Dugact) и КМ - № 4, № 5 и №6 най-малка степен на гингивално просмукване е установена за група №5. При тези експериментални образци гингивалната основа е изработена с фаза на гингивалната основа. Резултатите са статистически значими ( $p < 0.05$ ).

Няма статистическа значимост за изследваните експериментални групи № 3 и № 6 с идентични неподплатени с дентин емайлови рѐбове на гингивалната основа, независимо от факта, че са с различни материали за подложки – група № 3 с подложка от КМГЙЦ, докато група №6 с подложка от компомер.

Няма статистически значима разлика относно степента на гингивална пропускливост между група № 1 и група № 4 отново с еднакъв вид на гингивалната основа с 90 градусов ъгъл, но с различен материал за подложка – съответно № 1 –КМГЙЦ и № 4 компомера Dugact.

Между получените данни за оклузалната и гингивална микропропускливост на изследваните групи има статистически значима разлика ( $p < 0.05$ ), с изключение на група № 5 с фаза на емайловия рѐб на гингивалната основа и obtурация от компомер и КМ.



**Фигура № 22.** Микропропускливост при затворена „сандвич” техника

На фигура №22 са представени графично степента на микропропускливост по гингивалните основи и оклузалните ръбове на препарирани кавитети. Резултатите от проведеното изследване показват, че оптималният вариант при използване на подложка от компомер е със скосен емайлов ръб на гингивалната основа. Има статистически значима разлика в степента на проникване на багрилото между гингивалната и оклузалната стена на кавитета и обтурацията.

### 3. 2.Резултати по задача № 3. 2

Резултатите от сравнително изследване върху ФЦ и КМГЙЦ(гр.1 – КМГЙЦ и гр.2 – ФЦ) като материали за подложки на апроксимални кавитети при затворени „сандвич” обтуриации на дъвкателни зъби са показани на фигури № 23-№ 25.

Сравнените резултати между оклузалното и гингивално микропросмукване вътре в изследваните групи са статистически значими ( $p=0.000$ ). Отнася се както за обтуриации с КМГЙЦ и КМ, така и за обтуриации от ФЦ и КМ.

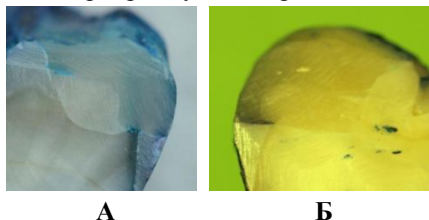
Сравнението на гингивалната пропускливост между група № 1 и група № 2 показва статистическа значимост ( $p < 0.05$ ). Гингивалното просмукване на втори клас obtурации, изработени с подложка от КМГЙЦ и obtурация от КМ е значимо по-малко в сравнение с obtурации на идентични втори клас кавитети, obtурирани с подложка от ФЦ и obtурация от КМ.

Статистически значима разлика се получава когато се сравнят данните за оклузална пропускливост в изследваните групи ( $p < 0.05$ ). Просмукването оклузално е значимо по-малко за композитни obtурации с подложка от КМГЙЦ, отколкото тези с подложка ФЦ.

Резултатите са нагледно представени на фигура №23.

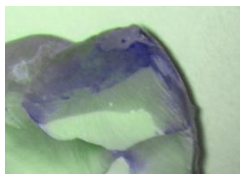


**Фигура №23.** Микропросмукване при два цимента за подложки



**Фигура № 24А.** Експериментален образец на obtурация на втори клас obtуриран с КМГЙЦ и КМ от група 1 след термоциклиране и оцветяване. **Фигура № 24 Б.** Друг експериментален образец на obtурация на втори клас obtуриран с КМГЙЦ и КМ от група 1 след термоциклиране и оцветяване

На фигура № 24А се вижда просмукване по гингивалната основа в рамките на емайла. Оклузално просмукването е в емайла и след емайло-дентиновата граница. Нееднородността на подложката от ГЙЦ показва начина на разбъркване – ръчно. На фигура № 24 Б се вижда значително просмукване както в емайла, така и след емайло-дентиновата граница по гингивалната основа на кавитета. Промяната на цвета на снимката в жълто -зелен цвят е направено, за да е по-ясно видимо просмукването на водния разтвор на метиленовото синьо.



**Фигура № 25.** Експериментален образец на обтурация на втори клас обтуриран с ФЦ и КМ (група №2) след термоциклиране и оцветяване

Вижда се висока степен на микропропускане оклузално и гингивално на изследвания експериментален образец. На фигура № 25 се забелязва ясно изразено просмукване над пулпното рогче. Това се дължи най-вероятно на факта, че е възможно просмукването на багрило откъм пулпата на зъба (нежелана реакция при провеждане на изследването). В зоната в непосредствена близост до зъбната пулпа според D.Pashley гъстотата на дентинните каналчета достига до 90000 на квадратен милиметър (за сравнение на ЕДГ гъстотата на дентиновите тубули е 45000 на квадратен милиметър). Съответно на това пропускливостта в тази зона е много силно изразена. Според Н.R.Stanley е около 22% над зъбната пулпа, докато на ЕДГ е около 2 %. Образуването на вторичен дентин намалява пропускането. Образецът ясно демонстрира възможни механизми за увреждане на пулпната тъкан чрез значителното просмукване между подложката от ФЦ и обтурацията от КМ както гингивално, така и оклузално.

### **3.3. Резултати по задача № 3. 3**

Резултатите за микропросмукването около затворени „сандвич” обтуриции на втори клас кавитети на дъвкателни зъби при различни по вид и дебелина подложки са представени на фигури №26 - № 28 включително.

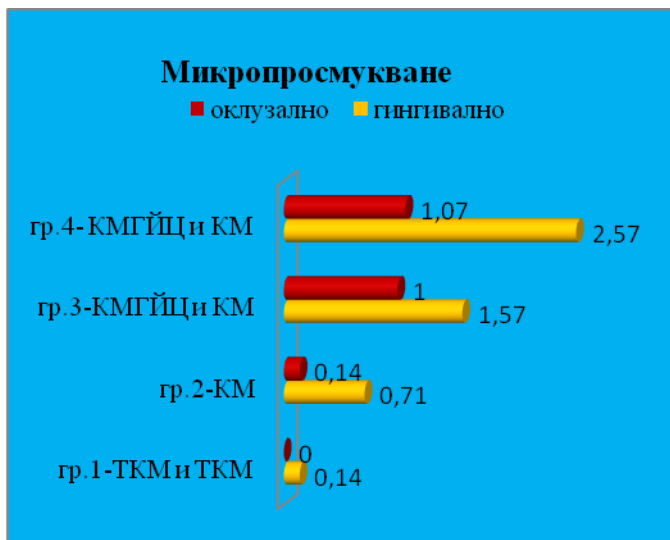
Статистически значима е разликата между гингивалната и оклузалната микропропускливост на изследваните затворени „сандвич” обтуриции ( $p < 0.05$ ). Правят изключение образците от група №1 с подложка

от течен композит, при които оклузалното просмукване е нула, гингивалното 0.14 и сравняването на тези величини не може да даде статистически значим резултат.

Гингивалното просмукване в групата без изолационна подложка (№ 2) и в тази с тънък слой течен композит (№ 1) е в ниска степен – само до 1/3 от ширината на гингивалната основа и е ограничена в емайла. Статистически значими са различията на гингивалната микропропускливост между всички изследвани групи ( $p < 0.05$ ).

По-голяма степен на микропропускливост има в групи №3 и № 4 ( $p < 0.05$ ). За група №3 с тънък слой подложка от КМГЙЦ тази степен е 1,57 след ЕДГР и до 1/3 от гингивалната основа на кавитета, а за група №4 с дебел слой КМГЙЦ е 2,57 и просмукването отива към аксиопулпарния ъгъл. Резултатите са статистически значими.

Статистически достоверни ( $p < 0.05$ ) са разликите между оклузалната микропропускливост на obtурациите от експерименталните групи № 1 и № 3, № 1 и № 4, № 2 и №3. Няма статистически значима разлика между проявената пропускливост около направените obtурации в групи № 1 и № 2 или групи №3 и №4.



**Фигура № 26.** Микропросмукването при втори клас затворен „сандвич” obtурации в зависимост от вида и дебелината на подложката

Получените резултати за гингивалното микропросмукване на изследваните групи са статистически значими както следва група № 2 ( $p < 0,001$ ), група № 3 ( $p < 0,0001$ ) и група № 4 ( $p < 0,0001$ ). За група № 1 статистическата значимост е ( $p < 0,16$ ). Приложен е статистически анализ – t-test на Student-Fischer.



**А**

**Б**

**Фигура № 27 А.** Образец от група 1 с подложка Grandio Flow и obtурация от Herculite. **Фигура №27 Б.** Образец от Група 2 obtурирана с фото композит Herculite, без подложка.

На фигура № 27 А се вижда образувана шупла на гингивалната основа. Микропросмукването е в част от емайла гингивално, както и частично в емайла оклузално. Гингивалното просмукване обхваща целия емайлов слой на фигура № 27 Б.



**А**

**Б**

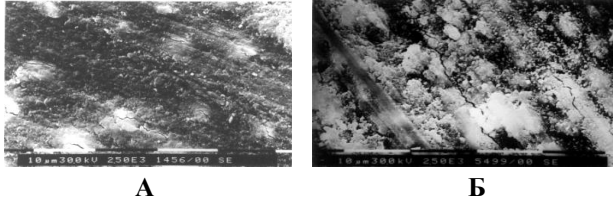
**В**

**Фигура № 28 А.** Образец от група 2 obtурирана само с КМ без подложка. **Фигура №28 Б.** Образец с изготвена obtурация от ГЙЦ и фотокомполит след оцветяване. **Фигура № 28 В.** Образец от група №4 с подложка от ГЙЦ до емайло-дентиновата граница

На фигура № 28 А гингивалното просмукване е частично в емайла. На фигура № 28 Б гингивалното просмукване засяга емайла на гингивалния ръб и до 1/3 от гингивалната основа. Оклузалното микропросмукване обхваща целия емайл. На фигура № 28 В има шупла по гингивалната основа на кавитета. Микропросмукването е по гингивалната основа до подложката и продължава оклузално между подложката и КМ.

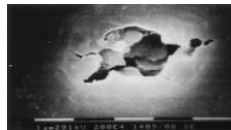
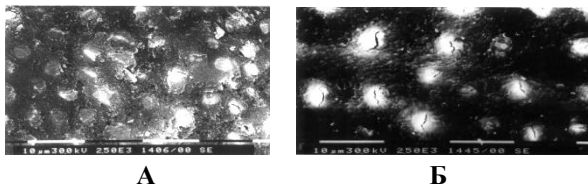
#### 4.1. Резултати по задача № 4. 1

Резултатите от изследване влиянието на различни средства с краткотрайно въздействие върху замърсяващия слой на дентина чрез сканираща електронна микроскопия са дадени на фигури № 29 до № 31 включително.



**Фигура № 29 А.** СЕМ на дентинна повърхност на образец от група №1 без обработка на ЗС. Увеличение  $\times 2500$ . **Фигура № 29 Б.** СЕМ на дентинна повърхност на образец от група № 1а без обработка на замърсяващия слой. Увеличение  $\times 2500$

ЗС на фигура № 29А е получен с диамантен сепаратор с големина на частиците  $90-120 \mu\text{m}$ . Срязаната дентинна повърхност наподобява инфектирана рана с финно гранулиран и аморфен вид. Отворени орифициуми на дентинни тубули не се виждат. ЗС е фин, на места слабо личат предполагаемите отвори на дентинните тубули. На фигура № 29Б е представена СЕМ на образец от група № 1а, получен чрез обработка с диамантен диск с по-грубо покритие (големина на абразивните частици  $150-180 \mu\text{m}$ ). Повърхността е значително по-грапава, с по-едри глобули и подчертано изразени неравности в сравнение с фигура №29А. Не се отличават отворите на дентинни тубули.



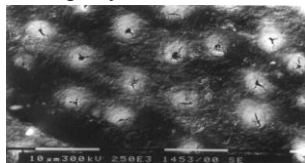
**В**

**Фигура № 30 А.** СЕМ на ЗС по дентинна повърхност на образец от група №2, обработен с 3 % кислородна вода и 70% спирт. Увеличение x 2500.

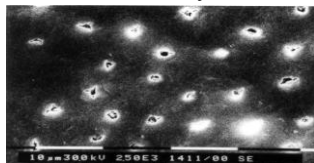
**Фигура №30 Б.** СЕМ на образец от група № 3. ЗС е третиран с изотоничен разтвор по В.Е. Causton и N.W.Johnson за 2 минути. Увеличение x2500.

**Фигура № 30 В.** СЕМ на отвор на дентинов канал от образец от група №3, обработен с изотоничен разтвор. Увеличение x 20000

Скенограма на образец от група № 2 (фигура №30 А) показва ЗС след последователната обработка на дентинната повърхност с 3% кислородна вода и 70 % етилов алкохол (оттриване). В нашата страна то е ежедневна дентална манипулация за отстраняване на замърсяващия слой. Такъв вид третиране на дентина показва частично отстраняване на замърсяващия слой. Контурът на отворите на дентиновите тубули е покрит със замърсяваща тапа, частично и много слабо разпукана на места. Зъбната повърхност след тази обработка е гранулирана, на места люспеста и почти не се виждат чисти участъци дентин. ЗС е остранен частично в сравнение с фигура № 29 А и № 29 Б, но дентинната повърхност не е достатъчно открита. Фигура № 30 Б показва скенограма на образец от Група №3. ЗС се обработва чрез двуминутната апликация на разтвор по прескрипция на В.Е. Causton и N.W. Johnson [1982]. Дентинна повърхност е значително по-чиста в сравнение с фигура № 30 А, но не напълно. Тапата върху дентиновите тубули е в различна степен на отваряне. На фигура № 30 В се вижда отвор на дентинов канал от образец от група №3, обработен с изотоничен разтвор на голямо увеличение. Тапата върху отвора на дентиновия тубул е разкъсана и в нея прозира отвореният дентинов канал. Повърхността на дентина около отвора на прерязания дентинов тубул е сравнително чиста. Но в дълбочина се вижда, че стената на дентиновия канал не е гладка. По-всяка вероятност има част от ЗС в дълбочина (част от замърсяваща тапа) и вероятно дентиновият тубул не е напълно пропусклив за течности откъм зъбната пулпа.



**А**



**Б**

**Фигура № 31 А.** СЕМ на дентинна повърхност на образец след апликация и промиване с Chelateх. **Фигура № 31 Б.** СЕМ на дентинна

повърхност на образец,обработен с 10 % воден разтвор на полиакрилова киселина за 10 секунди. Увеличение x2500

Фигура № 31 А е скенограма на образец от група №4 е обработена за 10 секунди чрез нанасяне на разтвор на Chelateх и промивка с воден шпрей. Обработката на дентинната повърхност на образците с Chelateх показва относително по-добра картина от изотоничния разтвор (фигура № 30 Б). Дентинната повърхност е много слабо гранулирана и отворите на дентиновите канали се виждат по-добре, на места се забелязват оформени празнини на мястото на лумена на дентиновите канали. Фигура № 31 Б е скенограма на образец от група № 5. Обработката на ЗС на дентина е направена чрез апликация на 10 % воден разтвор на полиакрилова киселина за 10 секунди. Вижда се чиста дентинна повърхност в сравнение с фигури № 30 А и № 30 Б. Рядко се наблюдава пълно отваряне на дентиновите тубули. Ясно се вижда наличие на запушалка в отворите на дентинновите тубули. Наблюдението на подготвените образци показва сравнително равномерна находка в различните им части.

#### ***4.2.Резултати по задача № 4. 2***

За идентифициране на микроорганизмите от апроксимален зъбен кариес на дъвкателни зъби и определяне повлияването им от някои антибактериални средства, използвани за обработка на дентина са изследвани са 15 пациенти със средно  $26,47 \pm 2.475$  (налични зъби), от които obturации имат средно 14,67 зъба. На пациентите са установени  $4,93 \pm 0.594$  нови кариеса, 30 -36 месеца след като са били санирани.

Средните стойности на ОНІ =  $2.256 \pm 0.05$  показват наличие на значително количество плака, съпроводено със значително възпаление на тъканите на пародонта РВІ =  $75.773\% \pm 12.80$  по разпространение. Пациентите имат лоша орална хигиена и гингивално възпаление.

Резултатите от изследването на слюнката на пациентите показват, че изследваните пациенти имат предимно ниска степен на хидратация според тест № 1 (1.2) при нестимулиран слюнчен ток. Слюнката им е предимно силно визкозна тест №2 (1.47). Стимулираният слюнчен ток показва количество на слюнката между 3.5 и 5 мл – тест № 4.

Изследваните пациенти имат рН на слюнката средно (тест 3)  $5,933 \pm 0.4047$ .

Таблица № 4. Разпределение на изследваните съобразно рН на слюнката

Параметри на рН слюнка		рН на слюнката	
		N	%
Киселинност на слюнката			
Силна киселинност	рН 5.0 -5.8	6	40
Умерена киселинност	рН 6.0 - 6.6	9	60
Нормална киселинност	рН 6.8 -7.8	0	0
		15	100

При изследваните пациенти рН на слюнката е между умерено киселинна (60%) и такава със силна киселинност (40%). Няма пациенти с нормално рН на слюнката.

Буферният капацитет на слюнката на изследваните пациенти е средно  $5.8 \pm 1.568$ . Разпределението на пациентите съобразно стойностите на буферния капацитет е както следва. При 46.7% от пациентите буферният капацитет е много нисък, останалите 53.3% от тях имат нисък буферен капацитет. В изследваната група не са отчетени пациенти с нормален буферен капацитет.

Таблица № 5. Корелационен коефициент на Пийърсън между резултатите на тест 3 (рН на слюнката) и тест 5 (буферен капацитет на слюнката)

	Тест 3	Тест 5
Тест №3 Коефициент на Pearson	1	0,518
P		0,048 <sup>a</sup>
N	15	15
Тест №5 Коефициент на Pearson	0,518	1
P	0,048 <sup>a</sup>	
N	15	15

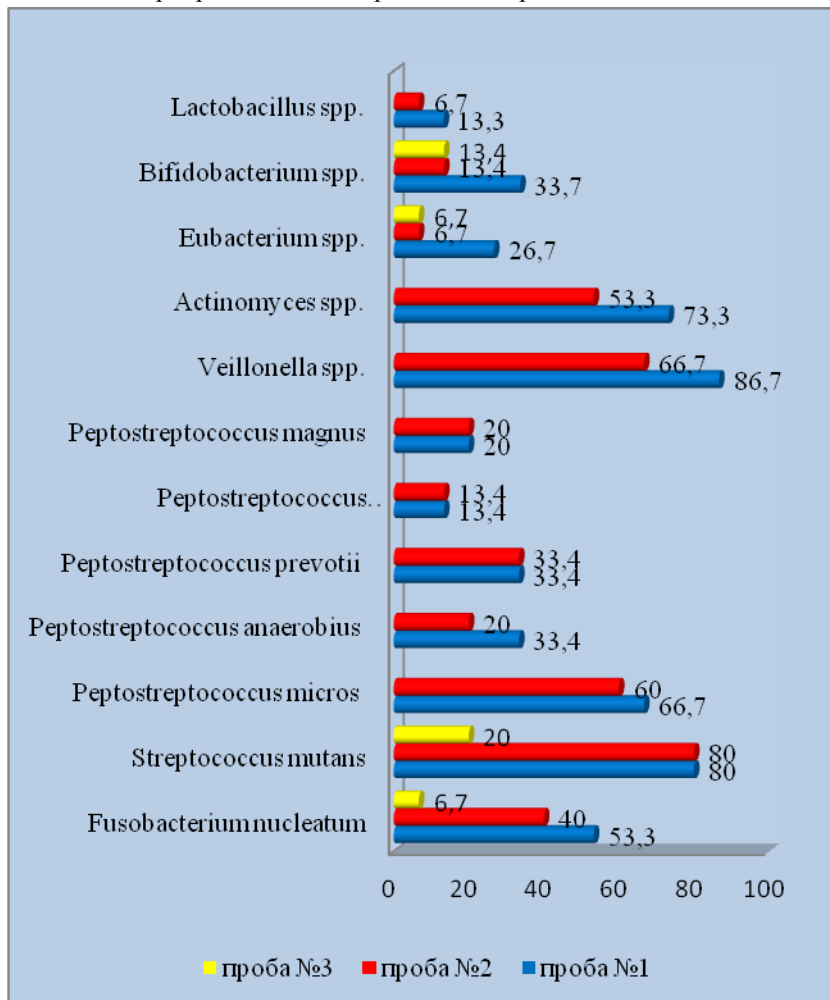
Съществува силно изразена корелационна връзка между киселинността на слюнката и буферния ѝ капацитет ( $p=0.048$ ).

Резултатите от микробиологичното изследване са показани в таблици № 6, № 7, фигури № 32 и № 33.

Таблица № 6. Обобщени микробиологични резултати от трите проби по видове изолирани микроорганизми

Проби от изследваните зъби	Проба №1 N = 15		Проба №2 N = 15		Проба №3 N = 15	
	N	%	N	%	N	%
Изолирани микроорганизми						
Грам-отрицателни						
непорообразуващи анаероби						
<b>1. <i>Fusobacterium nucleatum</i></b>	8	<b>53,3</b>	6	<b>40</b>	1	<b>6,7</b>
Грам-положителни коки						
<b>1. <i>Streptococcus mutans</i></b>	12	<b>80</b>	12	<b>80</b>	3	<b>20</b>
<b>2. <i>Peptostreptococcus micros</i></b>	10	<b>66,7</b>	9	<b>60</b>	0	0
<b>3. <i>Peptostreptococcus anaerobius</i></b>	5	<b>33,4</b>	3	<b>20</b>	0	0
<b>4. <i>Peptostreptococcus prevotii</i></b>	5	<b>33,4</b>	5	<b>33,4</b>	0	0
<b>5. <i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i></b>	2	<b>13,4</b>	2	<b>13,4</b>	0	0
<b>6. <i>Peptostreptococcus magnus</i></b>	3	<b>20</b>	3	<b>20</b>	0	0
Грам-отрицателни коки						
<b>1. <i>Veillonella spp.</i></b>	13	<b>86,7</b>	10	<b>66,7</b>	0	0
Грам-положителни						
непорообразуващи анаероби						
<b>1. <i>Actinomyces spp.</i></b>	11	<b>73,3</b>	8	<b>53,3</b>	0	0
<b>2. <i>Eubacterium spp.</i></b>	4	<b>26,7</b>	1	<b>6,7</b>	1	<b>6,7</b>
<b>3. <i>Bifidobacterium spp.</i></b>	5	<b>33,7</b>	2	<b>13,4</b>	2	<b>13,4</b>
<b>4. <i>Lactobacillus spp.</i></b>	2	<b>13,3</b>	1	<b>6,7</b>	0	0

Проба № 1 дава резултатите за изолираните микроорганизми от първичното кариозно огнище, проба № 2- микроорганизми изолирани след отстраняване на кариозната маса и обтриване с 3% водороден пероксид и проба № 3- микроорганизми изолирани след обработка с озон.



**Фигура № 32.** Видове изолирани микроорганизми по вид и разпределението им при пациентите (%) в трите микробиологични проби

Разпределението на микроорганизмите е следното: *Veillonella spp.* се изолира при 13 пациенти, *Streptococcus mutans* се изолира при 12

пациенти, *Actinomyces spp.* се изолира при 11 пациенти, *Peptostreptococcus micros* се изолира при 10 пациенти, *Fusobacterium nucleatum* се изолира при 8 пациенти

От резултатите представени на фигура № 32 се вижда, че след обработка с кислородна вода се запазва значително микробно разнообразие при изследваните пациенти с висок риск от развитие на кариес.

Видовото разпределение на микроорганизмите изолирани от кариозните огнища (проба №1) е показано на фигура №33.



**Фигура № 33.** Процентно разпределение на микроорганизмите изолирани от проба № 1

*Veillonella spp.* се наблюдава при 86,7% от изследваните пациенти в пробите от кариозното огнище в умерено до голямо количество (6,7% - четири плюса, 40%-три плюса и 40% два плюса). След отстраняването на кариозната маса и обработката на кавитета с 3% водороден прекис има

растеж при 67,70% от изследваните случаи, но с по-ниска степен (един плюс 40,0% и два плюса 26,7%). След озониране няма бактериален растеж.

Като основен кариес-патоген се счита *S.mutans*. *Streptococcus mutans* в пробите от кариозното огнище показва в умерено до голямо количество растеж при 80 % от изследваните случаи (два плюса 40%, три плюса 26,7% и четири плюса 13,3%). След отстраняването на кариозната маса и обработката на кавитета с 3% кислородна вода има растеж също при 80% от изследваните случаи, но с по-ниска степен (един плюс 46,7% и два плюса 33,3%). Едва след обработката с озон се наблюдава растеж само при 20% от случаите (един плюс).

*Peptostreptococcus micros* (по-ново наименование *Parvimonas micra*) се изолира при 66,7%от изследваните в умерено до голямо количество (6,7% четири плюса, 26,7% три плюса,26,7% два плюса и 6,7% един плюс). След отстраняването на кариозната маса и обработката на кавитета с 3% кислородна вода има растеж също при 60% от изследваните случаи, но с по-ниска степен (един плюс 33,3% и два плюса 26,7%). След обработка с озон няма растеж.

*Actinomyces spp.* се изолира при 73,3% от изследваните в умерено до голямо количество (6,7%-четири плюса, 26,7%-три плюса, 26,7% два плюса и 13,3% един плюс). След отстраняването на кариозната маса и обработката на кавитета с 3% кислородна вода има растеж също при 53,3% от изследваните случаи, но с по-ниска степен (два плюса 33,3% и един плюс 20%). След озониране няма растеж.

*Fusobacterium nucleatum* се изолира при 53,3% от изследваните в умерено до голямо количество (13,3%-четири плюса, 26,7%-три плюса, 13,3% два плюса). След отстраняването на кариозната маса и обработката на кавитета с 3% кислородна вода има растеж също при 40% от изследваните случаи, но с по-ниска степен (два плюса 20% и един плюс 20%). След обработка на кавитета с озон има растеж в 6,7% макар и в малко количество.

*Lactobacillus spp.* се изолира при 13,3% от изследваните в умерено количество (13,3% два плюса). След отстраняването на кариозната маса и обработката на кавитета с 3% кислородна вода има растеж също при 6,7% от изследваните случаи (един плюс). След озонирането на дентина не се отчита бактериално развитие.

*Bifidobacterium spp.* се изолира при 33,7% от изследваните в умерено количество (6,7% четири плюса, 6,7 три плюса, 20% два плюса).

След отстраняване на кариозната маса и обработка на кавитета с кислородна вода има растеж също при 13,3% от изследваните случаи (един плюс). След обработката с озон показва растеж в 13,3% .

Други анаеробни коки изолирани от изследваните пациенти са показани в таблица № 7.

Таблица № 7. Разпределение на другите изолирани микроорганизми в трите проби

Вид анаероб честота на изолиране	П Р О Б А	Липса на		Един плюс		Два плюса		Три плюса		Четири плюса		общо
		растеж										
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
<i>Peptostreptococcus Anaerobius</i> 33,4%	№1	10	66,6%	1	6,70%	1	6,70%	3	20%	0	0	100%
	№2	12	80%	2	13,30%	1	6,70%	0	0	0	0	100%
	№3	15	100%	0	0	0	0	0	0	0	0	100%
<i>Peptostreptococcus Prevotii</i> 33,3%	№1	10	66,70%	0	0	0	0	3	20%	2	13,3%	100%
	№2	10	66,70%	2	13,30%	3	20%	0	0	0	0	100%
	№3	15	100%	0	0	0	0	0	0	0	0	100%
<i>Peptostreptococcus Magnus</i> 20%	№1	12	80%	0	0	0	0	3	20%	0	0	100%
	№2	12	80%	2	13,30%	1	6,70%	0	0	0	0	100%
	№3	15	100%	0	0	0	0	0	0	0	0	100%
<i>Peptostreptococcus Asaccharolyticus</i> 13,4%	№1	13	86,60%	0	0	1	6,70%	1	6,70%	0	0	100%
	№2	13	86,60%	1	6,70%	1	6,70%	0	0	0	0	100%
	№3	15	100%	0	0	0	0	0	0	0	0	100%
<i>Eubacterium spp.</i> 26,7%	№1	11	73,30%	1	6,70%	3	20%	0	0	0	0	100%
	№2	14	93,30%	1	6,70%	0	0	0	0	0	0	100%
	№3	14	93,30%	1	6,70%	0	0	0	0	0	0	100%

Получените резултати за другите изолирани микроорганизми са както следва: *Peptostreptococcus anaerobius* 33,4%, *Peptostreptococcus prevotii* 33,3%, *Peptostreptococcus magnus* 20%, *Peptostreptococcus asaccharolyticus* 13,4%, *Eubacterium spp.* 26,7%. Както се вижда от таблица № 7, нито един от тях не се отстранява напълно след обтриване с 3% водороден перексид. А *Eubacterium spp.* остава и дава растеж в 6,7% дори и след прилагане на озон.

### 5. Резултати по задача № 5

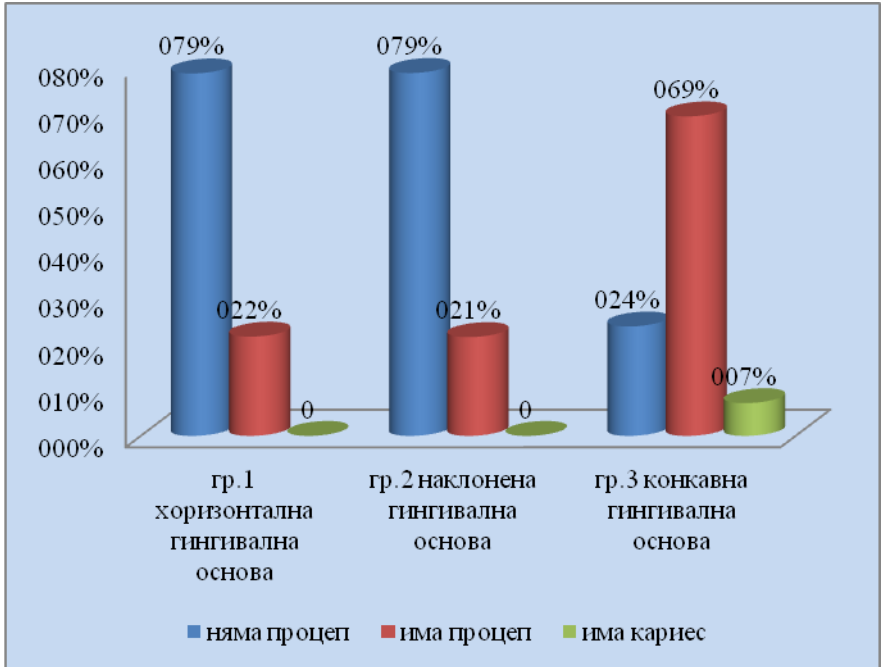
Резултатите от проведеното рентгенографско изследване на гингивалната основа при „сандвич” obtурации на дъвкателни зъби са показани на таблица № 8 и фигури № 34- № 39.

По-голяма част от проследените obtурации 783 (57,5%) показват хоризонтално разположена гингивална основа. При 256 obtурации (26%) гингивалната основа е конкавна.

От изследваните 1361 „сандвич” obtурации на апроксимални кавитети 875 (64,3%) не показват рентгенографски установим процеп. Такъв се наблюдава гингивално на 461 (33,9%) от obtурациите. Оформена е кариозна лезия около гингивалните основи на 25 (1,8%) от рентгенографски обследваните „сандвич” obtурации.

Таблица № 8. Взаимовръзка между вида на гингивалната основа на кавитета и състоянието ѝ

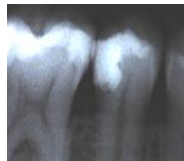
Плътност на obtурацията гингивално	0-няма процеп		1-има процеп		2-има кариес		Общо	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Вид на гингивалната основа								
Гр.1-хоризонтална гингивална основа	615	<b>78,5</b>	168	21,5	0	0	783	100
Гр.2-наклонена гингивална основа	176	<b>78,6</b>	48	21,4	0	0	224	100
Гр.3-конкавна гингивална основа	84	23,7	245	<b>69,2</b>	25	7,1	354	100
	875	64,3	461	33,9	25	1,8	1361	100



**Фигура № 34.** Графично онагледяване на резултатите

Резултатите показват статистически значими разлики относно липсата на процеп по гингивалната основа на композитните obturacii в група № 1 и № 2 и наличие на процеп по гингивалната основа в трета група от композитни obturacii.

Резултатите по разпределението на изследваните пациенти по групи са статистически значими. Стойности на Pearson Chi-Square и Contingency Coefficient са .000 т.е. под 0.05.



**Фигура № 35.** Рентгенография на зъби 45 и 46 на пациента Г.Г. със „сандвич” obturacia

На представената рентгенография се вижда obturacia по дисталната повърхност на 45. По аксиалната страна на кавитета на зъб 45 се

наблюдава празнина, вероятно свързана с поставяне на калциево-хидроксиден цимент преди две години. Гингивалната основа има конкавна повърхност с процеп по нея. По гингивалната основа има шупли между подложката и obtурационния материал.

Медиалната obtурация на зъб 46 има конкавна гингивална основа с дефект. Клиничният преглед не установява дефекти по obtурацията.

На фигури № 36, № 37 и № 38 са показани obtурации с конкавна гингивална основа, без процеп (№ 36 А) и с кариес (№ 36 Б, № 37).



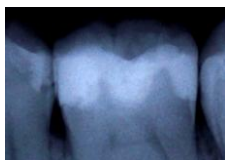
**А**

**Б**

**Фигура № 36 А.** Рентгенография на зъби 24 „сандвич” obtурации с конкавна ГО и без процеп. **Фигура № 36 Б.** Рентгенография на зъб 25 с конкавна ГО и наличие на кариес.

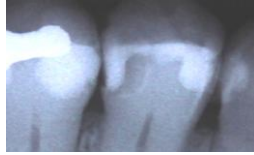


**Фигура № 37.** Зъб 35 на същата пациентка след отстраняване на композитната obtурация. Вижда подложката от ФЦ с кариес под нея.



**Фигура № 38.** На зъб 46 медиално композитната obtурация е с конкавна гингивална основа без процеп по нея, докато дистално ГО е наклонена без процеп.

Като илюстрация на случаите с хоризонтална ГО е представената рентгенография на фигура № 39:



**Фигура № 39.** Хоризонтална гингивална основа на зъб 14

Резултатите от така проведеното изследване потвърждават експерименталния модел от задача № 3.1. Хоризонталната гингивална основа дава статистически най-добри резултати относно херметизирането на кавитета. При изработване на конкавна гингивална основа вероятността за процеп и последващо развитие на кариес е статистически достоверна.

***V.Обсъждане***

***1. Обсъждане по задача № 1***

*Изследване на медико-биологичните качества на глас-йономерните цименти, използвани при obtуриране като подложки на дълбоки апроксимални кариеси на дъвкателните зъби.*

***1.1. In vitro изследване на цитотоксичността на ГЙЦ върху клетъчни култури***

Характерно за групата на глас-йономерните цименти е, че има разлика в степента на относителния растеж на клетъчните култури на 24 тия час в сравнение със съответния на 72 рия час на инкубация. Тя е по-ниска за КМГЙЦ Fuji-LC II за Chelon-Fil и е близка до съответната на калциево-хидроксидния цимент. Независимо от времето на инкубация, най-изразен цитотоксичен ефект оказват фосфат и карбоксилатните цименти както на 24тия час, така и на 72 рия час. За отбелязване е фактът, че Ketac-bond и керметът показват по-голяма цитотоксичност към 24 тия час, почти идентична с тази на фосфат цимента и поликарбоксилатния цимент. На 72 рия час от изследването резултатите са по-добри за ГЙЦ Ketac-bond, но не толкова колкото при калциево-хидроксидния цимент ( $p>0.05$ ). Резултатите относно цитоксичността на керметът Chelon-Silver се влошават на 72 рия час от изследването.

Калциево-хидроксидният цимент е използван като положителна контрола. Тази група цименти се считат за „златния стандарт” на пулпопокривните средства. Те са с алкално рН и стимулират образуването на защитен дентин. При взаимодействие на калциевия хидроксид с буферите на тъканната течност, се получават фазови трансформации. С това

се нарушава механичната устойчивост на калциево-хидроксидния цимент. В резултат на което, циментът дезинтегрира след време [Kitasako, Y. 2008]. Образуват се празнини на мястото на поставянето му (фигура № 35), което е неблагоприятно при лечението на зъбния кариес. Под калциево-хидроксидните цименти се образува дентинен мост с наличие на тунели в него и дентинът не е плътен, а в пулпата се образуват множество калцификати, което представлява сериозно затруднение при бъдещо ендодонтско лечение [Parolia, A. 2010, Ribeiro, D, 2006]. Калциево-хидроксидните цименти не прилепват адхезивно към дентина, дезинтегрират се след ецване и след около две години от поставянето им, биха могли да нарушат адхезивната връзка на материалите за obturации, а оттам и да се увеличи микропропускливостта. Това днес довежда до търсенето на алтернативни материали като пулпопокривни средства – минерален триоксиден агрегат, прополис, биодентин . За последните има данни, че се образува дентинен мост при повече зъби в сравнение с калциево-хидроксидните цименти [Кузманова, Я. и Ив. Димитрова, 2012; Parolia, A. 2010].

Изследвания на Muller върху цитотоксичността на калциевохидроксидните цименти установява различна степен на относителен растеж на тъканни култури при Dyract и KERR [1990]. До третия ден на експеримента тя е между 75%-99% (степен 4 по индекс на Nacamura, 1983). Според J. Muller за по-късните срокове на изследване – шестия и деветия ден на експеримента цитотоксичността на Dycal се влошава от 25% до 49% [1990]. Нашите резултати за Basic L на 24тия час са в 87% и за 72 час -96%.

Цитотоксичността на керметите, намерена в настоящото изследване, потвърждава от изследванията на E. Osorio и съавтори за Ketac-Silver [1998]. Намерената висока цитотоксичност на материала се обяснява със среброто в състава му. G. Schmalz също установява степен на относителен растеж на тъканните култури 28% при кермета Ketac-Silver [1996].

Добрите биологични качества, изразени с по-ниска цитотоксичност на Fuji Lining LC II се доказват и от A. Bakapoulou и съавтори [2008], но по отношение на други КМГЙЦ (Vitrebond и Rely-X luting) и резултатите не са толкова добри.

Други изследвания върху излъчването на НЕМА от КМГЙЦ показват, че излъчването на този вредна за тъканите субстанция е в пряка

зависимост от времето на фотополимеризиране на материала и излъчването намалява с удължаване на времето [Nikoloson, J., 2008].

Изследването на D.A.Ribeiro и съавтори доказва цито- и генотоксичност на течния компонент на ГЙЦ [Ribeiro,D.,2006].

В дизайна на нашето изследване не е заложено проучване на отделните компоненти на ГЙЦ, но тъй като съвпада с вида на изследваните ГЙЦ трябва да се отбележи – с най-изразена цитотоксичност са конвенционалните ГЙЦ

Наблюдаваните от нас цитотоксични ефекти върху клетъчните култури не се дължат на промени в рН, тъй като при избраната методика материалите се поставят на 24 тия час в клетъчните култури (след като са минали 24 часа от разбъркването и втвърдяването им) и първоначалните промени в рН не оказват влияние върху експерименталните резултати. Дизайнът на проведеното изследване не позволява да правим заключения относно ранната цитотоксичност след непосредственото разбъркване на материалите, както и по отношение на цитотоксичността на различните им съставни елементи. Според P.Sousa ранната цитотоксичност на денталните материали се дължи на киселинността им [2006].

Изследването е повторено по същата методика след период от една година със същите материали, разбъркани ръчно и от същите опаковки. За периода между двете изследвания материалите са използвани в клинични условия и съхранявани при стайна температура. При второто изследване КМГЙЦ Fuji LC II показва статистически значима по-висока степен на цитотоксичност в сравнение с първия период (при първоначалното изследване качествата на материала са близки до калциево-хидроксидния цимент). Подобно статистически значимо влошаване на резултатите се наблюдава и при Chelon-Fil, както при сравняване на 24 ти час така и при сравняване на 72 рия час. Вероятно при употребата на материалите, остатъкът в опаковките им се замърсява бактериологично и това влошава медико-биологичните им качества. Калциево-хидроксидният цимент, използван като положителна контрола, в това изследване не променя стойностите си след една година използване от същата опаковка и вероятно се дължи на опаковката му, непозволяваща замърсяване (тубички).

Цинкоксифосфат циментът, карбокси циментът и Chelon-silver в по-малка степен, при тези експериментални условия, причиняват ниска степен

на относителен растеж на клетките в културите и съответно на това имат изразен цитотоксичен ефект.

### ***1.2. In vivo изследване на тъканната реакция на ГЙЦ върху опитни животни***

Въз основа на проведения експеримент върху плъхове може да се твърди, че при всички изследвани дентални цименти се проявява най-висока реактивност на виталните тъкани в началния период на опита (1-3-ти ден). Възпалителната реакция е строго локализирана в непосредствена близост с контактната повърхност на отворения край на имплантата. Най-тежки възпалителни изменения, стигащи до некроза, предизвиква цинкоксифосфатовият цемент. Това би могло да се обясни със съдържащата се в него ортофосфорна киселина, която се излъчва до шестия ден от втвърдяването. Персистирането на микрофокални некрози именно до този ден от опита потвърждава посочената връзка. Естествено при този цемент е и най-силно изразената възпалителна реакция между първия и 10-тия ден. Карбоксициментът съдържа полиакрилова киселина, която по литературни данни не притежава некротичен ефект върху тъканите, но е със силно дразнещо действие и бурна, остра възпалителна реакция от страна на контактната с нея тъкан в началния период на изследването (1-10ти ден).

Резултатите отнасящи се за 1-3 ден на изследването показват силна възпалителна реакция на цинкоксифосфатовия цемент, поликарбоксилатния и ГЙЦ-кермет, която е статистически значимо по силна в сравнение с тези при ГЙЦ – Chelon –Fil, Fuji LC II и Ketac-bond. Тези резултати съпоставени с резултатите от изследване на цитотоксичността на същите цименти показват идентични отнасяния (фигури № 9 и № 14).

Следователно до 1-3 ден цинкоксифосфатовият цемент, поликарбоксилатният цемент и керметът проявят значителна цитотоксичност. Резултатите от настоящото изследване се потвърждават и от резултати от хистохимични проучване на мезенхимна тъкан на плъхове под действието на различни видове дентални цименти [Буркова, Т. и Кирилова, Ж., 1992].

Използуваните от нас в експеримента ГЙЦ (Chelon –Fil, Fuji LC II Ketac-bond) не проявяват некротично действие върху контактните с тях тъкани.

Исключение за групата на ГЙЦ прави керметът, тъканната реакция се доближава до тази на поликарбоксилатния цимент, вероятно поради среброто в състава му.

## **2. Обсъждане по задача № 2**

*Изследване на степента на херметизация на апроксимални кавитети на дъвкателните зъби в зависимост от наклона на емайловия ръб при отворени „сандвич” obtурации.*

Отвореният „сандвич” obtурация е създаден за пациенти с висок риск от кариесно заболяване [Van Dijken,G., 1999]. Приема се, че при този вид obtурация се използват успешно положителните качества на КМГЙЦ:

- адхезията към дентина (особено когато гингивалната основа на проксималният кавитет е под ЕЦГ);
- излъчването на флуор;
- техниката на поставяне на КМГЙЦ е много по-малко чувствителна от тази на КМ;
- КМГЙЦ имат нисък модул на еластичност и могат да играят роля на еластичен буфер между ТЗТ и КМ;
- Играят роля на стрес бариера между КМ и ТЗТ като облекчават механичния стрес.

В проведеното от нас изследване най-добри резултати в групата с obtурации от КМГЙЦ и КМ чрез отворена „сандвич” техника са получени, когато емайловият ръб на гингивалната основа е перпендикулярен на външната зъбна повърхност. Получените резултати са статистически значими както за оклузалното просмукване вътре във всяка изследвана група, така и по отношение на гингивалното просмукване при сравнение между групите. Obtурираните образци с обратен наклон или с фаза на гингивалната основа дават резултати, които статистически достоверно са по-неблагоприятни.

Оформянето на емайловия ръб на гингивалната основа на апроксималните кавитети на дъвкателни зъби е важно и влияе на качествата на готовата obtурация. Предвид факта, че настоящото изследване е върху експериментални кавитети и е проведено *in vitro* са необходими клинични доказателства.

При отворената „сандвич” техника най-малка пропускливост се наблюдава, когато КМГЙЦ е нанесен върху гингивална основа, която е перпендикулярна на апроксималната зъбна повърхност. В *in vitro* условията

на проведеното изследване изработването на наклон на гингивалната основа насочен в аксиална посока влошава статистически значимо качествата на отворената „сандвич” obtурация.

Статистически значими са разликите на гингивалното микропросмукване с наклон на гингивалния емайлов ръб (фаза). Много по-голямо е микропропускането в гингивалната зона на кавитета в сравнение с оклузалната. Сравняването на отворени „сандвич” obtурации с различен тип подложка и еднаква хоризонтална гингивална основа (групи № 1 и № 4) не дава статистически значими разлики ( $p > 0.05$ ).

Най-голямо е просмукването на багрилото, когато емайловият ръб на кавитета е с обратен наклон (подкопан). По всяка вероятност се обяснява с композитната матрица на компомерите, начинът им на свързване с емайловата тъкан подобно на КМ и необходимостта за създаване на по-голяма контактна повърхност.

Емайлт, който покрива зъбната коронка има различна дебелина в различните ѝ участъци. В областта на туберкулите е около - 2.5 -3.0 мм. Но в зъбната шийка дебелината на емайла достига 1мм на около 1,5мм от ЕЦГ, след което бързо намалява [Freedman,G.,2012]. Изследвания доказват, че емайлт на моларните зъби има различна твърдост по зъбната коронка. Така например по оклузалната повърхност твърдостта му е около 6 GPa, след което следва слой с около 5 GPa и прогресивно намалява, за да стигне в областта на туберкулите около 2.3 GPa [Freedman,G., 2012]. Намаляващата твърдост на емайловата структура (за 2.5 -3.0 мм) дава възможност на оклузалната зъбна повърхност на поеме дъвкателното налягане като амортизърна система и да не допусне фрактура на структурата по време на дъвкателния акт. Много твърдите структури са устойчиви на натиск, но не достатъчно устойчиви на удар. Така структуриран зъбният емайл оклузално, явно има известни възможности да поеме директни удари без да се фрактурира. В областта на зъбната шийка, обаче, ситуацията е различна. Там дебелината на емайла е 1мм, а твърдостта му е 5 GPa за целия слой на емайла. Нормално по-малката дебелина на емайла (в сравнение с оклузалния) е достатъчно устойчива за натоварването характерно за тази област (зъбната шийка). Прилагането на директен удар върху емайловата тъкан в тази област е почти изключено. Така създадената структура предпазва зъба ефективно по-време на дъвкателния акт. Когато обаче, зъбната структура е засегната апроксимално от кариесно заболяване и се

налага препариране на апроксимален кавитет на дъвкателен зъб и гингивалната основа е близо до ЕЦГ, ситуацията се променя. Оформянето на ГО на апроксимален кавитет на дъвкателни зъби за КМ, перпендикулярно на аксиалната ос на зъба, се извършва обикновено с диамантени турбинни пилители. Съвременните бързодвижещи се терапевтични турбинни наконечници развиват около 300 000 оборота в минута, което би могло да доведе до въздействие върху зъбния емайл с областта на зъбната шийка, подобно на удар върху структурата и дори да доведе ако не до фрактурирането му, по всяка вероятност до създаването на пукнатини в структурата му. D.J. Clark посочва, че пукнатините са фактор за унищожаване на зъба [2007]. Обтурираната зъбна структура с наличие на пукнатини по емайловата тъкан гингивално, най-вероятно е непълноценна. Емайлът в тази област остава неустойчив и предизвиква повишена пропускливост около obtуровъчния материал, а впоследствие развива и вторичен кариес. Влошената орална хигиена, свързана с недостатъчното отстраняване на апроксималната зъбна плака, както и недостатъчното повлияване на бактериалната флора биха могли да бъдат индивидуално утежняващите фактори, подпомагащи развитието на вторичен кариес в тази зона.

Следователно, когато се използват компомер и КМ като елементи от отворената „сандвич“ obtурация е желателно да се създава наклон на емайловия ръб на гингивалната основа спрямо апроксималната повърхност на зъба. В условията на *in vitro* изследване се доказва значението на начина на оформяне на емайловия ръб на гингивалната основа при отворени „сандвич“ obtурации.

Използването на отворена „сандвич“ obtурация, където ГЙЦ остават в контакт с гингивалните тъкани, при пациенти с повишен риск за кариес би създавало условия за по-малко задържане на плака и съответно на това ограничено развитие на микроорганизми [Van Dijken, J.,1999; Van Houte,J., 1980]. Авторът в обширно изследване доказва, че КМГЙЦ (а не конвенционалните ГЙЦ) увеличават качеството и дълготрайността на отворените „сандвич“ obtурации. Задържането на зъбна плака върху ГЙЦ е значително по-малко отколкото върху КМ както е доказано от P. Sousa [2006]. Формирането на бифилм върху ГЙЦ и КМ води до съществено разрушаване на повърхността на материалите. Клиничната манифестация на този феномен е развитието на кариес около и под obtурацията. Доказано е,

че върху ГЙЦ се образува по-тънък биофилм с малък процент живи бактерии, поради излъчването на флуор от състава им [Auschill, T., 2002]. Нивото на *S.mutans* и *S.sanguis* забележимо намалява [Busser, H., 2010].

### 3. Обсъждане по задача № 3.1

*Изследване на значението на наклона на емайловия ръб на гингивалната основа на апроксимални кавитети при затворени „сандвич” обтурации.*

Затворената „сандвич” техника за обтуриране на апроксимални дефекти на дъвкателни зъби е по-често използваната в клинични условия. В литературата се дискутират главно случаите, при които ГО е на ниво ЕЦГ или под нея. Когато обаче, гингивалната основа е над ЕЦГ в емайла има анатомични дадености, с които трябва да се съобразим. Например тънък, оскъден слой емайл, а в някои случаи и липсващ апризматичен слой на емайла, с микропукнатини в него. Освен това дебелината на емайла не е еднаква по цялото протежение на цялата гингивалната основа. Значение имат следните факти:

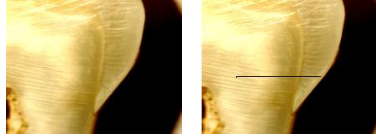
- медиално и дистално е по-голямо отстоянието на на оклузалната емайловата повърхност от ЕЦГ, докато в централната част на гингивалната основа оклузалният емайл е много по-близо до ЕЦГ и възможността за фрактурирането му нараства (фигура № 63 А и № 63 Б);
- Наличие на разнообразни анаеробни микроорганизми в кариозната тъкан ( съгласно с резултатите от задача № 4.2);
- Наличие на значително количество зъбна плака апроксимално и минималните възможности за отстраняването ѝ.
- Разположението на емайловите призми в апроксималната зона малко над ЕЦГ е с лек наклон  $10-20^{\circ}$  (фигура № 65 А и № 65 Б).



А

Б

**Фигура № 40 А.** Разположение на емайлоциментовата граница на екстрахиран 24 зъб. **Фигура № 40 Б.** Същият 24 зъб с очертан втори клас кавитет спрямо ЕЦГ



А

Б

**Фигура № 41 А.** Разположение на емайловите призми апроксимално на зъб 24 при напречен срез. **Фигура № 41 Б.** Вижда се наклон на емайловите призми с лек наклон апроксимално от  $10-20^{\circ}$  и вероятното разположение на ГО на бъдещия кавитет.

Анатомичното разположение на емайловите призми с лек наклон към апроксимално ( $10-20^{\circ}$ ) в шийката на дъвкателните зъби, малката дебелина на емайла в тази зона и бързото намаляване към нулиране на емайла (фиг.№65 Б) вероятно са една от причините за доказаното от нас намалено микропросмукване. Както се вижда от фигура № 33 и фигура № 35 при затворени „сандвич” obturации на апроксимални кавитети на дъвкателни зъби с изработване на фаза на емайловия ръб на ГО е най-малко микропросмукването в сравнение с емайлов ръб на гингивалната основа под  $90^{\circ}$ .

Резултатите от проведеното изследване показаха, микропросмукването при ГО зависи както от конфигурацията ѝ, както и от вида на материала за подложка. Най –добри резултати при ГО са получени за подложка от компомер с фаза, при подложка от КМГЙЦ с хоризонтална ГО и без фаза. Има статистически значима разлика в проникването на багрилото между гингивалната или оклузална стена на кавитета и obturацията.

В условията на настоящото изследване компомерите като подложка показват най-добри резултати при взимане във фаза на емайловия ръб на гингивалната основа.

В групата на подложката от КМГЙЦ има изместване на мястото на просмукване между подложката и obturационния материал, а не между подложката и ТЗТ. Вероятно се дължи на добрата адхезия между ГЙЦ и ТЗТ и последващата обмяна на йони между тях (биоактивен потенциал на ГЙЦ). Възниква въпросът дали дебелината на подложката влияе върху херметизирането на кавитета, което е обект на задача № 3.3.

При това експериментално изследване на затворени „сандвич” обтурации се доказва значението на конфигурацията на ГО за херметизирането на кавитета.

### **3.1. Обсъждане по задача № 3.2**

*Сравнително изследване на КМГЙЦ и ФЦ като материали за подложки на апроксимални кавитети при затворени „сандвич” обтурации.*

Представените резултати, както и онагледителният материал (фигура № 25) ясно показват изразено микропросмукване по гингивалната основа на кавитета и след емайло-дентиновата граница, а също и между подложката от цинкоксифосфатов цимент и дентина на зъба. Поради близостта на пулпното рогче се вижда ясно, че микропросмукването навлиза към зъбната пулпа и е възможен път за инфектирането ѝ. Дентинът в близост до зъбната пулпа има много повече дентинови тубули до 65000 на квадратен милиметър, и е с по-голяма пропускливост (22%), за разлика от разположения в близост до ЕДГ с 15000-20000 дентинови тубули на квадратен милиметър и пропускливост 1% [Stanley, H., 1990]. Освен това е различен и диаметърът на дентинните тубули към ЕДГ - около 0,5 -0,9  $\mu\text{m}$ , докато към зъбната пулпа се увеличава значително до 2,5 – 3,1  $\mu\text{m}$  [Stanley, H., 1990]. Образецът, на който се наблюдава просмукване откъм зъбната пулпа (фигура №31). Демонстрира цитираната анатомична особеност на дентинната тъкан, въпреки че то не е желано за целите на експеримента. Изследвания на D.Pashley и съавтори доказват различни зони на пропускливост на дентина по зъбната корона. В най-силно изразена е пропускливостта на дентина в зоната над пулпните рогчета при изследвания на неувредени от зъбен кариес екстрахиранни зъби [1989]. Оклузално просмукването е значително и в емайла, между подложката и дентина. Просмукване има и между подложката и обтурацията от фотокомполита. Промяната на цвета на снимката към зеления цвят е направено, за да е по-ясно видимо просмукването на водния разтвор на метиленовото синьо. В реални клинични условия и при хроничен кариес вероятно се отлага защитен дентин и се намалява пропускливостта. Образците в това изследване са некариозни екстрахиранни зъби и нямат такива изменения в дентина.

КМГЙЦ (Fuji LC II) показва много добра адхезия към дентина в настоящото изследване, което съвпада с резултатите получени и описани в задача №2 и №3.1. (отворени и затворени „сандвич” обтурации). Това вероятно се дължи на образуването на йонообменен слой смежду КМГЙЦ и

ТЗТ. Изследване на S.Sidhu и съавтори доказва образуването на значителен йонообменен слой между КМГЙЦ (Fuji LC II) и дентина [2001]. Доказването на този уникален по-своя характер йонообменен слой между ГЙЦ и ТЗТ дава основание на H.Ngo впоследствие да охарактеризира ГЙЦ като биоактивни материали [1997]. Тоест тези материали обменят йони с ТЗТ на граничната повърхност. Във връзка с това им уникално качество е особено важна обработката на замърсяващия слой върху дентина, за да се образува йонообменен слой. Ролята на средствата за отстраняване на замърсяващия слой е потвърдена в резултатите на задача № 4.1.

Осъществяването на химична връзка между ГЙЦ и дентина на зъба и липсата на такава между цинкоксифосфатовия цимент и дентина обяснява получените резултати. Нашите резултати съвпадат с тези на Б. Инджов и съавтори, които в лабораторно изследване доказват, че цинкоксифосфатовият цимент не само не се свързва с дентина на зъба, но и осъществява по-силна връзка с КМ (евикрол), поради което подложката от фосфат цимент се отлепя от дентина на зъба и се свързва здраво с КМ и създава условия за микропросмукване [1981]. Б.Инджов предлага при използване на цинкоксифосфатов цимент задължително да се създава механична ретенция в дентина на лекуваните зъби с цел предотвратяване на отлепването му [2006]. Това не променя факта, че връзката на цинкоксифосфатовия цимент към дентина е и се остава механична. Това вероятно е една от причините за повишена свръхчувствителност на лекуваните зъби със затворена „сандвич” техника, изразяваща се в болки от студено и при натиск. Макар и да не са известни задълбочени клинични изследвания потвърждаващи този феномен, в клинични условия смяната на подложка от фосфат цимент с ГЙЦ решава в повечето случаи въпроса за следоперативната чувствителност на лекуваните зъби. Също така не са редки случаите при смяна на композитна обтурация да се открива значително количество вторичен кариес под съществуваща подложка от цинкоксифосфатов цимент (фиг. 37). Резултатите от проведеното *in vitro* проучване доказват възможния път за развитие на вторичен кариес, за свръхчувствителност на лекувания зъб, за увреждане на зъбната пулпа чрез значителното просмукване под подложка от цинкоксифосфатов цимент (фигура № 25). В условията на това изследване кавитетите бяха изработени без ретенция в дентина.

Предвид резултатите от медико-биологичните изследвания от задача № 1 избрахме КМГЙЦ, а не други ГЙЦ, като бавновтвърдяващите се, керметите или бързовтвърдяващите се ГЙЦ. Тъй като Fuji LC II показва най-добри биологични отнасяния почти идентични с изследвания калциево-хидроксиден цимент Basic L.

Под obtурации от КМ (Herculite) е удачно прилагането на подложка от КМГЙЦ, но не и фосфат цимент.

### **3.2. Обсъждане по задача № 3. 3**

*Изследване на вида и дебелината на подложката при затворени „сандвич” obtурации на апроксимални кавитети.*

ГЙЦ се поставят под obtурации от КМ с цел да намалят риска от вторичен кариес, да предпазят зъбната пулпа и да реминерализират околните ТЗТ. По данни на Н.Ngo ГЙЦ са биоактивен материал и обменят йони с ТЗТ [2000]. Имат антибактериално действие, дължащо се на цинковите, stronциевите и флуорните йони в състава им [Foss,Н., 1990, Peutzfeldt, A., 1990].

Получените от нас резултати за КМГЙЦ потвърждават, че тънък слой цимент е с по-малка пропускливост, отколкото дебел слой такъв. Резултати на С.Bonifacio доказват, че КМГЙЦ трябва да е в течлива консистенция, т.е. например капсулните варианти, което съвпада с резултатите от цитотоксичността на ГЙЦ (задача № 1.1) [Bonifacio,С., 2010]. А според J.Mount единствената разлика между подложка и основа е в консистенцията на материала. Подложката е с по-плътна консистенция, а базата е течлива [2000].

Нашите резултати съвпадат с тези на М. Sadeghi, според които тънък слой от течен композит като подложка намалява значително микропросмукването при втори клас obtурации [2009].

А.Olmez също така намират по-малко микропросмукване при obtурации с подложка от ТКМ (независимо от вида на КМ) за втори клас кавитети за КМ [2004].

Резултатите, получени при избраните от нас експериментални условия и материали, са съизмерими с някои от изводите на N.J.M. Opdam и съавтори [2007]. Авторите в девет годишно клинично изследване констатират, че obtурации от КМ изработени без подложка и чрез тотално ецване имат по-голяма преживяемост в сравнение с obtурации изработени чрез затворена „сандвич” техника с подложка от КМГЙЦ [2007]. Като

основна причина за загубата на обтурации се приема фрактура на затворените „сандвич“ обтурации. Според изследването под съмнение трябва да се постави твърдението за предимството на еластичния слой под КМ обтурации. Обаче в методиката на проведеното клинично изследване няма данни за дебелината на подложката, както и за вида на гингивалната основа на клинично изработените кавитети.

#### **4. Обсъждане по задача № 4. 1**

*Изследване на влиянието на различни средства с краткотрайно въздействие върху замърсяващия слой на дентина чрез сканираща електронна микроскопия.*

От данните за двете групи (гр.1 с по-малка едрина на пилителите и гр.1А с по-голяма едрина на пилителите) изследвани със СЕМ без обработка на ЗС се вижда, че дебелината и морфологията на замърсяващия слой варира в зависимост от едрината на обработващия ротиращ инструмент (фиг № 29 А и №29 Б).

Получените резултати потвърждават тези на D.Pashley [1990, 1991], A. Peutzfeldt и съавтори [1990], Наджиба Шербаз [1993], цитираните от П.Ботушанов и съавтори [1997] и на С.Tani и W.Finger [2002] за силната зависимост на избраната методика за образуването на замърсяващия слой, според вида на използваните ротиращи инструменти, скоростта на машинната обработка, загряването на повърхността, охлаждането ѝ и други. Както се вижда механичната зъбна подготовка с различни ротиращи инструменти дава различен по морфология замърсяващ слой, а вероятно и с различна дебелина (например на фиг. №29 А може да се предположи къде са отворите на дентинните канали, докато на фиг. №29 Б не е ясно къде има отвори на дентинните тубули). Ротиращите инструменти с по-малка едрина на частиците образуват по-фин и с по-малка дебелина замърсяващ слой.

Орифициумите на дентинните тубули са запечатани плътно от запушалка (тапа) представляваща продължение на ЗС [Pashley, D.,1990]. По данни на изследване проведено от D, Pashley и съавтори тази запушалка стига до 1-10  $\mu\text{m}$  в дълбочина на дентинното каналче и е продължение на замърсяващия слой от повърхността [1988].

Върху образуването на ЗС с ротиращи инструменти влияе и отделящата се топлина при срязването, както и охлаждането на повърхността на дентина. При това счупените и фрагментирани хидроксилапатитни кристали заедно с фрагментирания и денатуриран

колаген образуват агрегати. В клинични условия към ЗС се добавят бактерии и гликопротеини на слюнката [Ruse,N., 1991, Smith, D., 1986]. Контаминирането с бактерии е важно, тъй като зъбният кариес е заболяване, причинено от микроорганизмите [Balakrishiman, M., 2000]. Ако не се въздейства върху образувания замърсяващ слой се създава благоприятна среда за по-нататъшно развитие на микрофлората по повърхността на ТЗТ и за развитие на вторичен кариес. Обработката на дентинната рана е от съществено значение за спиране на кариесния процес.

Глас-йономерните цименти имат по-слаба връзка с дентина на ТЗТ в сравнение с емайла [Upadhyay, S., 2011]. Те са единствения материал осъществяващ химична адхезия с дентина чрез йонообмен между хидроксилапатитните кристали на дентина и калция в състава на стъклените частици в състава му. За да се изяви максимално химичната адхезия на ГЙЦ като материал е необходимо наличие на чиста дентинна повърхност. За оптимално изявяване на химическата адхезия на ГЙЦ, към дентина обработката на ЗС с 3% кислородна вода и 70 % спирт не е достатъчна. Адхезията би била затруднена, намалена здравина на връзката на ГЙЦ с дентинна и оттам повишена микропропускливостта, възможността за вторичен кариес и увреждане на пулпата.

От друга страна в зъбната пулпа има постоянно осмотично налягане с големина от 20-70 см воден стълб. Дентиновете тубули са от 45000 до 90 000 на квадратен милиметър в близост до зъбната пулпа. Има разлика в гъстотата на дентинните тубули на квадратен милиметър в повърхностните слоеве на коронарния дентин и в слоя дентин,разположен в непосредствена близост до зъбната пулпа [Pashley, D.,1991, 1992]. Дентинните тубули в различните части на дентина се различава не само броя, а също и по диаметъра се от 0.5  $\mu\text{m}$  повърхностно до 3  $\mu\text{m}$  непосредствено до зъбната пулпа. Ако отворите на дентинните тубули са открити изцяло и почистени, както се случва след прилагане на силни киселини, през тях изтича тъканна течност под осмотичното налягане в зъбната пулпа. Пропускливостта на такъв дентин се увеличава до 90 %. На практика тази повърхност не може да се подсуши и се затруднява адхезията на КМ и ГЙЦ, увеличава се микропросмукването, а оттам и постоперативната чувствителност на лекуваните зъби (Хидродинамична теория). D. Pashley предполага, че когато дентинът е покрит с ятрогенно предизвикан слой и дентинните тубули

са запечатени със замърсяваща тапа изтичането на флуиди от пулпата върху дентинна е равно на нула [1991].

Отворените дентинни тубули са път за проникване на микроорганизми към зъбната пулпа и възпалението ѝ. Предимствата и недостатъците свързани с отстраняване на ЗС се дискутират от D. Pashley и се отбелязват като възможен път за увреждането на пулпата и феномена на свръхчувствителност на лекуваните кариозни зъби [1992].

Нашите резултати показват, че след прилагането на „изотоничен“ разтвор замърсяващият слой върху дентинната повърхност се променя, но не е отстранен напълно.

Повърхността на дентина в резултат на обработката на ЗС с „изотоничен“ разтвор (фиг. № 30 Б) е финно гранулирана, но в това изследване не може да се определи състава на запазващия се тънък филм върху дентин. Според авторите разтворът увеличава калциевите и фосфорни йони както в ЗС така и в подлежащите дентинни структури. Тези йони промотират минерализацията върху цинковите и алуминиеви йони на втвърдяващия ГЙЦ дифундирайки през повърхността му. Също така вероятно кристализират и колагеновите остатъци чрез тези йони и така също се подобрява връзката. Наличието на такива би обяснило подобрената якост на връзката между глас-йonomерните цименти и дентина както сочат литературните данни [Cooley,R., 1991].

Разтворът Хелатекс има ниско повърхностно напрежение и химическо въздействие върху замърсяващия слой, а също така и механическо почистване върху органичните елементи, които не са здраво свързани с подлежащата зъбна тъкан [Инджов,Б., 1993]. Действието на хелиращите разтвори за подобряване на връзката на глас-йonomерните цименти с дентина не е напълно изяснено. Има изследвания за негативното им влияние на тази връзка, дължащо се на образуването на разтворим калциев хелат.

Отстраняването на замърсяващият слой от дентина с Хелатекс е частично при условията на този експеримент и различията с други подобни изследвания показват силната зависимост от избрания протокол за прилагането на Хелатекса като средство за отстраняване на замърсяващия слой.

Водният разтвор на полиакрилова киселина отстранява ЗС, осъществява плитка деминерализация на ТЗТ и химическа реакция между

остатъците от полиакрилова киселина и хидроксилапатитните кристали [Van Dijken, J., 1999].

Обработката на дентина с 10 % воден разтвор на полиакрилова киселина с цел отстраняване на замърсяващия слой дава най-добри резултати от всички изследвани средства. Почти идентични са резултатите получени с ”изотоничен” разтвор и Chelatech. Въздействието на кислородна вода и спирт не е задоволително.

#### **4.1. Обсъждане по Задача № 4. 2**

*Индентифициране на микроорганизмите от апроксимален зъбен кариес на дъвкателни зъби и определяне повлияването им от някои антибактериални средства, използвани за обработка на дентина.*

Модерните изследвания показват, че лечението трябва да се базира на интерпретация на активността на кариозната лезия и оценка на риска от развитието на кариес [Манчорова-Велева, Н., 2011, Freedman, G., 2012]. Проведеното изследване е върху пациенти с висок риск от кариесно заболяване. Те имат средно 4.98 нови кариеси за последните 30-36 месеца, кисело рН на слюнката, което корелира статистически достоверно с буферния ѝ капацитет. Тези пациенти имат лоша орална хигиена (ОНИ-2,256) и гингивално възпаление с около 75% разпространение. Зависимостта между оралнохигиенното състояние и кариесната заболяемост у нас доказва Сн.Топалова-Пиринска.

Микробиологичното изследване на проби от кариозния дентин на лекуваните зъби показва наличие на значително количество и разнообразна анаеробна микрофлора. Преобладаващите микроорганизми са следните:

***Streptococcus mutans***. Счита се, че това е причинителят на кариозното заболяване. Ролята му на кариесен патоген е известна от 1924 от Clarke, но е потвърдена през 1960 година с експеримент върху плъхове и предизвикване на кариесно заболяване у опитните животни.

Резултатите от проведеното микробиологично изследване на дентина показват 80% растеж при пациентите. След обтриване на почистения дентин с 3% кислородна вода чрез микробиологично тестване се открива *S.mutans* в около 80%, но намалява степента му на растеж. А след озониране на дентина остават 20% със степен на растеж един плюс.

В условията на реална клинична ситуация *S.mutans* е един доста трудно поддаващ се на унищожаване бактериален вид. ГЙЦ, поставени върху дентина могат за повлияят *S.mutans*. В проучване на Е. De Schepper и

съавтори се изследват пет вида ГЙЦ и установяват антибактериална активност на ГЙЦ срещу *S.mutans* [De Schepper,E., 1991]. S.Meryon и S.Johnson доказват в експериментално изследване, че ГЙЦ имат антибактериална активност не само срещу *S.mutans*, но и срещу други микроорганизма като *Actinomyces viscosus*, *Rothia dentinocariosa* и *Corynebacterium spp.* [Meryon, S., 1989]. Авторите сравняват ГЙЦ с ФЦ и поликарбоксилатен цимент. Те считат, че статистически по-изразената антибактериална активност на изследваните ГЙЦ се дължи на флуора в състава им. По-нови изследвания доказват, антибактериалната активност на ГЙЦ се дължи на цинковите, алуминиевите, флуорните йони (ГЙЦ се считат флуорен резервоар), както и на стронциевия оксид в състава им [Hattab,F., 191, Hicks, M., 1986].

***Fusobacterium nucleatum.*** Свързва се с пародонтални възпаления (доказан пародонтопатоген), а също така и с халитозата в устната кухина [Попова, Хр.,2010]. В групата на изследваните пациенти се констатира гингивално възпаление, но не може да се определи произходът на *Fusobacterium nucleatum* в кариозното огнище. Дали е от възпалените гингивалните тъкани или е от кариозното заболяване. В проведеното от нас изследване достоверен е фактът, че и след отстраняване на кариозната маса и обтриване на кавитета с 3% кислородна вода количеството на този микроорганизъм в дентина намалява, но при 6 от изследваните пациенти (40%) остава минимално (един плюс). След въздействие с озон на дентина се открива в минимално количество при 1 пациент.

***Lactobacillus spp.*** Тези микроорганизми се свързват с прогресирането на кариесното заболяване при дълбоки емайлови лезии. И също така се намират в предния фронт на кариесния процес, особено в дентина [Bonecker,M.,2001]. При нашите пациенти (двама от тях) те са в незначително количество.

***Actinomyces spp.*** Тази група микроорганизми се свързва с апроксималния зъбен кариес, както и с кореновия зъбен кариес (изследвания in vivo и in vitro). Доказано е, че се увеличават при гингивити. Те са основен микроорганизъм в зъбната плака. Представители от тази група *Actinomyces odontolyticus* е установен в тясна връзка с най-ранните стадии на деминерализация и се свързва с прогресирането на малки кариозни лезии [Bizhang,M., 2011].

Грам-положителни анаеробни коки – *Actinomyces spp.* са изолирани при 73,3% от изследваните пациенти. След обработка с кислородна вода не се унищожават напълно, а намаляват по степен. Озонът ги унищожавя. Проведеното от нас изследване доказва високи нива на *Actinomyces spp.* при изследваните пациенти. Дали точно те съдействат за апроксималния зъбен кариес не може да се отговори в рамките на това изследване.

***Bifidobacterium spp.*** се свързват с доминиране при напреднали (дълбоки) кариес [Van Houte, J., 1980]. Наличието на този микроорганизъм допринася за развитие на рампантен кариеси. При пациентите, при които се установи *Bifidobacterium spp.* има и голямо количество – *S.mutans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Veillonella spp.*, *Actinomyces spp.*, *Peptostreptococcus Prevotii*. Изследвания на D.Beighton установяват *Bifidobacterium spp.* като кариес свързан микроорганизъм [2010]. Кариогенният потенциал на *Bifidobacterium spp.* установява още Van Houte в експеримент върху плъхове [1980]. А N.Takahashi и съавтори го свързват с кореновия кариес [2011]. Изследване на K. Rivinder върху нивото на *Bifidobacterium spp.* в слунката показва 95% разпространение при кариес-активни индивиди и само 5 % при пациенти, които не са кариес активни [2013].

***Peptostreptococcus micros (Parvimonas micra)*** се отнася към групата на грам-положителните коки. Изолира при 10 от изследваните пациенти (66,7%), а при 5 ма (половината от тях) с висока степен на растеж. Първото въздействие с кислородна вода не го унищожавя напълно и макар и в по-малко количество остава и се намира при 9 от изследваните пациенти (60%). Озонирането на деннината рана го унищожавя напълно.

***Peptostreptococcus micros*** заедно с ***Peptostreptococcus anaerobius*** и ***Peptostreptococcus magnus*** се свързват също с кариозния дентин, субгингивалната плака, денто-алвеоларните абсцеси и напредналите периодонтални заболявания [Bizhang, M., 2011].

Другите микроорганизми от групата на грам положителните анаеробни коки като *Peptostreptococcus anaerobius*, ***Peptostreptococcus Prevotii***, ***Peptostreptococcus asaccharoliticus*** и ***Peptostreptococcus magnus*** се изолират в при 5 и по-малко на брой пациенти, запазват се с по-малка степен на растеж след третиране с 3% кислородна вода, но изчезват напълно след обработка с озон (таблица № 8).

*Veillonella spp.* Намира 55% в кариозен дентин [Lima, K.,2011]. Свързва се с напредването на кариозните лезии [Wonecker, M.,2001]. При нашите пациенти се намира при почти всички изследвани пациенти - 13 от тях (86,7%). След прилагане на обработка с 3% кислородна вода се отчита при 66,7% от изследваните. Но озонът го унищожава напълно.

Значението на МОР в условията на устната кухина за развитие на зъбния кариес датира от 1890 с химико-бактериалната теория на Мюлер. Днес отново се подчертава и изследва значението им в етиопатогенезата на оралните заболявания.

В проведеното проучване върху промените на микробната флора в дентинната рана прилагането на 3% кислородна вода не унищожава напълно намерените микроорганизми, но ограничава техния растеж. Озонирането на дентина на лекуваните зъби за 6 секунди унищожава голяма част от анаеробните микроорганизми, но остават малко количество (един плюс) от *S.mutans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bifidobacterium spp.*, *Eubacterium spp.*.

Действието на озона за лечение на зъбния кариес се използва в Обединеното кралство при половин милион пациенти, за да се унищожат бактериите причиняващи кариес и да се стационари развитието му [Lynch, E., 1989]. Озонът унищожава МОР, чрез руптура на клетъчната им мембрана само за две секунди.

Изследване на G.Knight и съавтори установява върху експериментални модели, че след озониране върху дентин изложен на бактериални атаки (за четири седмици) не се образува плътен биофилм, както това се наблюдава при контролните образци, а се намират само единични предствители на *S.mutans* и *Lactobacillus acidophilus*. В условията на проведеното от нас изследване обработената с озон дентинна повърхност значително побеляваше и видимо изглеждаше изсушена, което вероятно е свързано с промени в дентина. Още през 1969 Glantz намира взаимовръзка между намаляването на омокрянето на дентина и намаляването на растежа на плака по него. Тъй като озонът е силно оксидиращ агент може да реагира с почти всички органични материали. Възможно е озонът да разрушава частично някои от органичните компоненти на дентина – например колагена [Knight, G.,2008].

Друг автор J.Holmes [2003] наблюдава значително реминерализиране на кореновия кариес при почистване на повърхността му и последващо озониране.

Оставането на незначително количество микроорганизми (при трима от изследваните пациенти) вероятно може да се обясни с недостатъчното време на експозиция на озона в случая – за 6 секунди (протокол на приложение от фирмата производител). Това се повърждава от изследване на A.Castillo и съавтори [2008] . Те изучават ролята и времето на експозиция на озона за намаляване на количеството на *S.mutans*. Тези автори намират достоверно намаляване на *S.mutans* по време на експеримента, но то е статистически значимо при по-дългата експозиция от 20 секунди в сравнение с 10 секундната апликация на озон. Вероятно при пациентите с висок риск от развитие на кариесно заболяване е необходима по-дълга апликация на озона за въздействие върху *Str.mutans*.

Предвид на установяването на незначителни количества от МОР след въздействие с озон, вероятно е необходима по-продължителна апликация – например 12 секунди (апаратът работи в режим -6 -12 -18 секунди).

Действието на озона върху кариеса се сравнява и с друг метод за въздействие върху микроорганизмите в кариозното огнище – фотоаквираната дезинфекция на кавитетите преди obtуриране, а също въздействието на излъчването на флуор от ГЙЦ [Forss,Н., 1990]. С.Trairatvorakul и съавтори изследват влиянето на ГЙЦ върху прогресирането на проксимални кариозни лезии чрез излъчването на флуор от тези материали [Trairatvorakul,С., 2011]. Авторите доказват статистически значимо регресирание на проксимални кариозни лезии при поставяне на ГЙЦ. Освен флуор в литературата се обсъждат като антибактериални агенти в състава на ГЙЦ стронция от стронциевото стъкло, а също наличието на цинк в състава им [Rezk-Lega,F., 1991].

Нашите резултати намират *S.mutans*, *Lactobacillus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Peptostreptococcus spp.* *Eubacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.* в изследвания кариозен дентин при пациенти с висок риск от кариес. Не намерихме *Propionibacterium* и *Rothia*. За разлика от други изследвания установихме голямо количество на *Fusobacterium nucleatum*. Вероятно голямото му количество се обяснява с лошата орална хигиена при изследваните пациенти, както и със стойностите на РВІ по разпространение – 75%±12%. Но това не омаловажава факта, че елиминирането му от кавитета след ескавация на кариозната маса е незадоволително с кислородна вода и дори след 6 секундна апликация на озон остава в минимално количество.

Значението на този микроорганизъм за развитието на зъбния кариес не е изяснено. Данните са противоречиви, но има и такива както настоящото изследване които откриват *Fusobacterium nucleatum* в значителни количества в слоевете кариозен дентин [Lima, K., 2011].

### **5.Обсъждане по задача № 5**

*Рентгенографско изследване на вида на гингивалната основа при „сандвич” obturации на дъвкателни зъби на апроксимални дефекти.*

Проведеното рентгеново изследване на „сандвич” obturации на дъвкателни зъби на апроксимални дефекти цели да провери как в реални клинични условия влияе конфигурацията на гингивалната върху херметичността на obturацията. Резултатите установяват, че при хоризонтална гингивална основа статистически достоверно няма рентгенографски процеп, докато при тези от obturациите, при които ГО е конкавна или вдълбната има процеп в 69,2% от случаите. Резултатите върху 224 obturации с наклонена апроксимално ГО показват статистически достоверно липса на процеп по нея в 78,6%.

Резултатите от настоящото клинично изследване потвърждават експериментално получените резултати в настоящата работа по задачи № 2 и задача № 3.1. касаещи хоризонтална ГО в сравнение с наклонена пулпарно ГО и обратен наклон на емайловия ръб. В експерименталното изследване са получени най-малко просмукване при взимане във фаза за затворени „сандвич” obturации с подложка от компомер, течен фотокомполит и тънък слой КМГЙЦ. В рентгенографско изследване на „сандвич” obturации не установихме такъв профил на ГО.

## **VI.Изводи**

Въз основа на така направените изследвания може да направим следните изводи:

1. Глас-йonomерните цименти проявяват добра биологична поносимост с разлики за различните им представители:

1.1. Композит модифицирания глас-йonomерни цимент Fuji LC II има статистически значима по-слаба цитотоксичност върху клетъчни култури в сравнение с останалите изследвани глас-йonomерни цименти и се доближава до съответната на калциево-хидроксидния цимент Basic L.

1.2. Глас-йonomерните цименти Fuji LC II, Chelon-Fil и Ketac-bond причиняват значимо по-слаба възпалителна тъканна реакция на опитни

животни без некроза в сравнение с фосфат цимента и поликарбоксилатния цимент. Статистически значима най-силна възпалителна реакция се установява при кермет Chelon-silver.

2. Степента на херметичност на отворени и затворени „сандвич” obturации на апроксимални кариозни лезии на дъвкателни зъби зависи от:

2.1. Наклонът на емайловия ръб на гингивалната основа, който трябва да бъде оформен с фаза за компомери и под ъгъл от  $90^0$  спрямо апроксималната зъбна повърхност за композит модифицирани глас-йономерни цименти.

2.2. Видът на материала за подложка. За затворени „сандвич” obturации на апроксимални кариозни лезии на дъвкателни зъби статистически значимо най-слабо е микропросмукването при подложка от тънък слой течен фотокомпозит, следвано от тънък слой композит модифициран глас-йономерни цименти Fuji LC II.

3. Доказано е, че образуването на замърсяващия слой върху дентина зависи от големината на частиците на пилителите. Сравнително най-изразен и равномерен ефект в отстраняването на замърсяващия слой е постигнат с прилагането на 10% полиакрилова киселина, следвана от „изотоничен” разтвор и ChelateX. Минимални резултати се получават при почистването на дентина с 3% Hydrogenium peroxidatum.

4. От кариозни апроксимални лезии на пациенти с висок риск от развитие на кариес се изолират предимно следните анаеробни микроорганизми: *Streptococcus mutans*, *Peptostreptococcus spp.*, *Veillonella spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Eubacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.* и *Fusobacterium nucleatum*.

4.1. Допълнителното приложение на озонен газ с подходяща продължителност е ценно средство за въздействие върху бактериалната флора в кариозната лезия. Обработката на дентина с 3% Hydrogenium peroxidatum недостатъчно повлиява микроорганизмите.

5. Статистически се доказва, че при естетични възстановявания на апроксимални кавитети на дъвкателни зъби чрез „сандвич“ obturации рядко

се наблюдават рентгенографски видим процеп около гингивалните основи, които са перпендикулярни на външната зъбна повърхност.

### *VII. Препоръки за целите на практиката*

**В резултат на настоящия дисертационен труд можем да направим следните препоръки за практиката:**

#### *1. Класификация на глас-йонимерни цименти*

Според състава и механизма на втвърдяване естетичните ГЙЦ условно се разделят на:

1. Конвенционални (бавновтвърдяващи се) ГЙЦ. Течността е полиакрилова киселина. Те се втвърдяват бавно и узряват до 24-тия час, за да достигнат максималните си физични качества. **Много важно е да се отбележи, че през този период са силно чувствителни към влага и изсушаване. Ако се намократ или пресушат до 24-тия час от втвърдяването и узряването им, техните физически качества се влошават значително.** Поради това трябва да се покриват с изолационен лак непосредствено след първоначалното втвърдяване. **Ако е необходима допълнителна обработка, същата трябва да се извърши след 24-тия час.** Това затруднява клиничното им приложение.

2. Бързовтвърдяващи се ГЙЦ. Течността е дестилирана вода, а полиакриловата киселина е в състава на праха. Те се втвърдяват за 4-7 минути и достигат максималните си физични качества. След този период не са чувствителни на намокряне и изсушаване. За разлика от конвенционалните, бързовтвърдяващите се ГЙЦ могат да бъдат обработвани след втвърдяване без да се влошат механичните и биологичните им качества.

3. Композит модифицирани глас-йонимерни цименти (КМГЙЦ). Към течността (полиакрилова киселина) е добавен фотоинициатор и мономери (НЕМА). Началното втвърдяване представлява фотополимеризация. По своята същност това са двойно втвърдяващи се ГЙЦ. За тях е характерно, че полученият цимент е с подобрени механични и физични качества и не е така чувствителен на влага както другите видове ГЙЦ, втвърдява се бързо. Подобрени са цвета, транспарентността и физичните характеристики.

4. Композит модифицирани нано глас-йонимерни цименти-нанойонимери. Те се втвърдяват както КМГЙЦ, към които се добавят

наночастици (с размери 100 nm сравнени с 30 µm в традиционните ГЙЦ). Тази комбинация води да материал с подобрени качества по отношение на устойчивост, полируемост, здравина, оптични качества и абразивна резистентност. Втвърдяват се много бързо, около 3 минути е времето за разбъркване, аплициране и оформяне. След което не се влияят от влага. Нанасят се в съвсем тънък слой.

## ***2.Препоръки при изработването на „сандвич” obtурации на дъвкателни зъби***

При лечение на апроксимален зъбен кариес на дъвкателни зъби със „сандвич” obtурация, когато ръбът на кавитета е малко над емайло-циментовата граница:

1. Гингивалната основа на кавитета трябва да се изработва хоризонтална и равна, а емайловият гингивален ръб с фаза.
2. Подложката трябва да е тънък слой течен композит или при много дълбок кариес тънък слой ГЙЦ от **индивидуална опаковка (компола)** нанесени по аксиалната стена на кавитета.
3. Преди поставяне на ГЙЦ като подложка не трябва единствено да се обработва с 3% кислородна вода – не се отстранява замърсяващия слой, не са унищожени микроорганизмите в дентина.
4. Задължително преди поставяне на ГЙЦ като подложка е да се обработи замърсяващия слой за 10 секунди с 10% полиакрилова киселина, за да се изият максимално химическата адхезия на ГЙЦ и да се образува йонообменен слой с дентина.
5. При пациенти с висок риск от кариесно заболяване за стационариране на кариеса е необходима подходяща по продължителност обработка с озон и поставяне на ГЙЦ като подложка.
6. При изборът на вида ГЙЦ като подложка трябва да се вземе в съображение фактът, че конвенционалните ГЙЦ изискват 24 часова втвърдяване, тъй като са силно чувствителни към влага. а КМГЙЦ (Fuji LC II) е отлично средство за херметизиране на дентина и е с биотолерантност към зъбната пулпа.

### ***VIII. Приноси***

#### ***Приноси с оригинален характер:***

1. Създадено е у нас високотехнологично устройство за термоциклиране на експериментални образци за целите на научни изследвания в областта на денталната медицина.
2. Изследвана е микрофлората от дентина при пациенти с акутно протичащ апроксимален кариес и висок риск за развитието на кариесно заболяване.
3. Доказано е, че обичайната антибактериална терапия е недостатъчна за премахване на масивна микробна инфекция при акутен апроксимален кариес при пациенти с висок риск от развитието на кариесно заболяване.
4. Установено е, че конфигурацията на гингивалната основа влияе на степента на микропросмукване около обтурациите на апроксимални кариозни лезии на дъвкателни зъби със "сандвич" обтурации и развитието на вторичен кариес.
5. Обоснована е необходимостта от индивидуални опаковки за еднократно ползване с ГЙЦ при лечението на дълбоки апроксимални кариозни лезии
6. Доказано е у нас значението на озона за унищожаване на микробна инфекция при акутен апроксимален кариес на пациенти с висок риск за зъбен кариес.

#### ***Приноси с потвърдителен характер:***

1. Потвърдена е необходимостта от третиране на дентина с 10% воден разтвор на полиакрилова киселина за отстраняване на замърсяващия слой спрямо недостатъчния антибактериален ефект на 3% кислородна вода.
2. Установено е значението на поставянето течен композиционен материал или глас-йономерен цимент в тънък слой върху дентина под обтурации на апроксимални кариозни лезии на дъвкателни зъби със "сандвич" обтурации.
3. Доказани са изразеният цитотоксичен ефект и силна тъканна реакция към фосфат цимента, поликарбоксилатния цимент и глас-

йономерния цимент – кермет спрямо други глас-йономерни цименти- Chelon-Fill, Ketac-bond и Fuji LC II.

4. Установено е недостатъчно херметизиране на дентина от фосфат цимента при лечение на апроксимални кариеси на двъкателни зъби със „затворени” сандвич obtурации.

## ***IX. Публикации във връзка с дисертационния труд:***

### ***Реални публикации:***

1. Дачев, Б. и **Ж. Кирилова**. Стъкло-йономерни цименти. I. Наименования, класификации, състав и получаване, индикации. – Стоматология, LXXIII, 1991, 2, 70 – 74.
2. **Кирилова, Ж.** и Б. Дачев. Стъкло-йономерни цименти. II. Физични свойства и механични качества. Начин на приготвяне.- Стоматология, LXXIII, 1991, 3, 63 – 69.
3. **Кирилова, Ж.** и Б. Дачев. Стъкло-йономерни цименти. III. Адхезия към емайла и дентина, към композиционните материали и Амалгамата.- Стоматология, 20, 1992, 2, 28 –30.
4. **Кирилова, Ж.** Биологична поносимост при стъкло-йономерните цименти.- Стоматологичен преглед, XXIV, 1993, 2, 1 –10.
5. **Кирилова, Ж.** Микропропускливост и стъкло-йономерни цименти – клинични аспекти.- Стоматология, 20, 1992, 3, 24 – 27.
6. **Кирилова, Ж.** Сканиращо електронно микроскопско изследване на действието на различни средства за отстраняване на замърсяващия слой.- Проблеми на стоматологията, XXI, 1993, 34 –43.
7. **Кирилова, Ж.** и Е. Величкова. Експериментално изследване на биологичната поносимост на различни видове цименти.- Проблеми на стоматологията, XXII, 1994, 20-26.
8. **Кирилова, Ж.** и Т. Буркова. Тъканен отговор към стоматологични цименти.- Проблеми на стоматологията, XXIII, 1995, 28 –35.
9. **Кирилова, Ж.** Вид на гингивалната основа и микропропускливост при II клас кавитетни форми.- Актуална стоматология, 1, 1997, 2, 28 – 31.

***Доклади и постери на български и международни конгреси:***

1. **Кирилова, Ж.** и Т. Буркова. Биологична поносимост на различни видове стоматологични цименти *in vivo*.- доклад изнесен на XVI Национален конгрес по стоматология- София, ноември 1992 г.- сборник резюмета стр.31.
2. **Кирилова, Ж.** и Е. Величкова. Експериментално изследване на биологичната съвместимост на стъклено-йонимерни цименти сравнени с фосфат и поликарбоксилатни цименти.- доклад изнесен на XVI Национален конгрес по стоматология- София, ноември 1992 г.- сборник резюмета стр.38.
3. **Кирилова, Ж.** и Б. Дачев. Изследване на микропропускливостта на различни видове стъклено-йонимерни цименти след термоциклиране.- доклад изнесен на XVI Национален конгрес по стоматология- София, ноември 1992 г.,сборник резюмета стр.57.
4. **Кирилова, Ж.** Микропропускливост при obtуриране на II клас кавитети.- постер изнесен на XVII национален конгрес по стоматология – София, октомври 1996, Резюме № 17 P- стр. 139.
5. **Kirilova, J.** and B. Indjov. Different techniques and microleakage of class II restorations with composite resin. – постер изнесен на 86 тия световен конгрес на FDI в Барселона, Испания – октомври 1998.- Int. Dent. J., 48, 1998, 5, 436.
6. **Kirilova, J.** Marginal leakage of class II sandwich restoration in different cavity design. - доклад изнесен на 86 тия световен конгрес на FDI в Барселона, Испания – октомври 1998.- Int. Dent. J., 48, 1998, 5, 427.
7. **Kirilova, J.** et Sn. Topalova-Pirinska. Microleakage of class two composite resin restoration with different lining materials. Proceedings of the 16-th Congress of BASS, Bucharest, Romania, April 28<sup>th</sup> May 1<sup>st</sup> 2011,p.155 ( poster).
8. **Кирилова, Ж.** и Сн. Топалова-Пиринска. Изследване на микрофлората при апроксимален зъбен кариес- кариес активни индивиди. –12 тия научен конгрес на БЗС, Бургас, 14-17.06.2012 (постер №33).