



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**

ВЛАДИМИР Б. СТЕФАНОВИЋ

**Модулација цитокинског профила гингивалне
течности применом различитих апроксималних
денталних испуна**

Докторска дисертација

Крагујевац 2023.



**UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES**

VLADIMIR B. STEFANOVIC

**Modulation of the cytokine profile of gingival fluid by the
application of different approximal dental fillings**

Doctoral Dissertation

Kragujevac 2023.

Аутор
Име и презиме: Владимир Стефановић
Датум и место рођења: 01.08.1974.
Садашње запослење: Специјалиста болести зуба и ендодонције, Клиника за стоматологију, Војномедицинска Академија, Универзитет Одбране, Београд
Докторска дисертација
Наслов: Модулација цитокинског профила гингивалне течности применом различитих апроксималних денталних испуна
Број страница: 118
Број слика: 15 слика, 10 табела, 40 графикона
Број библиографских података: 92
Установа и место где је рад израђен: Медицински факултет Војномедицинске Академије Универзитета Одбране у Београду
Научна област (УДК): Медицина
Ментор: Др Бојан Јовичић , доцент Медицинског факултета Војномедицинске Академије Универзитета Одбране у Београду, за ужу научну област Пародонтологија и орална медицина
Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 10.02.2022. године
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-14/12 од 19.01.2023.године
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњеност услова кандидата: 1. Проф. Др Милица Поповић , ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Болести зуба и ендодонција, председник; 2. Проф. Др Мирјана Ђукић , редовни професор Фармацеутског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Токсикологија; члан 3. Доц. Др Марко Милосављевић , доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Стоматолошка протетика, члан
Комисија за оцену и одбране докторске дисертације:
Датум одбране дисертације:

Author
Name and surname: Vladimir Stefanovic
Date and place of birth: 01.08.1974.
Current employment: Specialist of Restorative dentistry and endodontics, Clinic for stomatology, Military Medical Academy, University of Defence, Belgrade
Doctoral Dissertation
Title: Modulation of the cytokine profile of gingival fluid by the application of different approximal dental fillings
No. of pages: 118
No. of images: 15 images, 10 tables, 40 graphs
No. of bibliographic data: 92
Institution and place of work: Medical Faculty of Military Medical Academy, University of Defence, Belgrade
Scientific area (UDK): Medicine
Mentor: Bojan Jovicic , Assistant Professor of Medical Faculty of Military Medical Academy, University of Defence, Belgrade, scientific domain: Periodontology and oral medicine
Grade and Dissertation Defense
Topic Application Date: 10 th February 2022.
Decision number and date of acceptance of the doctoral: IV-03-14/12 from 19 th January 2023.
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate:
1. Prof. Milica Popovic , Associate professor of the Faculty of the Medical Sciences, University of Kragujevac, scientific domain: Restorative dentistry and endodontics, president;
2. Prof. Mirjana Djukic , Full Professor of Faculty of Pharmacy, University of Belgrad, scientific domain: Toxicology, member;
3. Marko Milosavljevic , Assistant Professor of the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, scientific domain: Dental Prosthetics, member
Commission for evaluation and defense of doctoral:
Date of Dissertation Defense:

Изјаве захвалности

Срдачно захваљујем свом ментору доц. др Бојану Јовичићу, као и уваженим професорима, проф. др Милицы Поповић, проф.др Мирјани Ђукић и доц.др Марку Милосављевићу, на великом и несебичном ангажовању у реализацији овог пројекта.

Велику захвалност дугујем проф.др Данилу Војводићу, др сци.мед Александри Петковић – Ћурчин и драгим пријатељима са Института за медицинска истраживања, Војномедицинске Академије на огромном залагању у техничком и логистичком смислу.

Посебну захвалност дугујем мојим драгим колегама и првим сарадницима са Клинике за стоматологију ВМА, на челу са начелником, пуковником проф. др Зораном Лазићем, који су самном поделили све оно што прати израду докторске тезе, на указаном поверењу и разумевању у тренуцима када је било тешко.

Мојим родитељима, мајци Биљани, оцу Братиславу, сестри Ивани (1980 – 2018), супрузи Катарини и мојим синовима Петру и Растку, без чије љубави и подршке не бих био оно што јесам, велико хвала.

Апстракт:

Увод: Дентални каријес је једно од најпревалентнијих обољења у људској популацији, које за последицу има и продукцију бројних цитокина.

Материјал и методе: Утврђивана је концентрација цитокина, методом проточне цитофлуориметрије, у GCF према степену каријеса и врсти примењеног денталног материјала за привремену или трајну рестаурацију зуба код апроксимално локализованих кавитета. 90 испитаника је подељено према степену лезије каријеса и према врсти коришћеног ДРМ, а чији су узорци GCF узимани су у 3 термина.

Резултати: Код испитаника групе К III, пре терапије, у узорцима GCF уочен је пораст IL-2, IFN- γ и IL-4 а месец дана након лечења и пораст IL-22, IL-1 β и TNF- α . У К IV групи пре рестаурације детектован је пораст IL-9, а после месец дана пораст IL-9 и IL-12. Код К V групе, пре започете терапије забележен је пораст IL-12, IL-5, IL-10, IL-13, IL-22, IL-1 β и TNF- α , а након месец дана IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13. Код привремених испуна значајно је већи пораст IL-2.

Закључак: Пре терапије, код III степена каријеса доминира профил Th1 одговора, док је Th2 профил детектован код V степена каријеса. Различити ДРМ индуковали су посебне профиле цитокина у GCF. Примена GJC као и CPC је индуковала пораст по 7 цитокина, док је примена CFC пораст искључиво IL-9. Третман са БЕА индуковао је значајан пораст IL-12, IFN- γ , IL-22 и IL-9. Испуни са АМА били су повезани са значајним порастом IL-10 и TNF- α , док је ТЕС индуковао пораст IL-10.

Кључне речи: каријес, дентални материјали, гингивална течност, проточна цитофлуориметрија, цитокини.

Abstract:

Introduction: Dental caries is one of the most prevalent diseases in the human population, which results in the production of numerous cytokines.

Materials and Methods: The concentration of cytokines of were determined by flow cytofluorimetry in GCF according to the caries grade and the type of applied dental material for temporary or permanent tooth restoration in proximally localized cavities. 90 patients, whose GCF samples were taken in 3 appointments, were divided into groups according to the degree of caries lesion and the type of DRM used.

Results: Among patients of the K III group, before therapy, an increase in IL-2, IFN- γ and IL-4 was observed in GCF samples, and a month after treatment, IL-22, IL-1 β and TNF- α levels were increased as well. In the K IV group, an increase in IL-9 was detected before restoration, and an increase in IL-9 and IL-12 was observed after one month. In the K V group, before the start of therapy, an increase in IL-12, IL-5, IL-10, IL-13, IL-22, IL-1 β and TNF- α was recorded, and after a month, IL-5, IL-6, IL-10 and IL-13 demonstrated higher levels. In the case of temporary fillings, there is a significantly higher increase in IL-2 levels.

Conclusion: Before therapy, the Th1 response profile dominates in caries stage III, while the Th2 profile is detected in caries stage V. Different DRMs induced particular cytokine profiles in GCF. Application of GJC as well as CPC induced an increase in 7 cytokines each, while CFC application increased only IL-9. Treatment with BEA induced a significant increase in IL-12, IFN- γ , IL-22 and IL-9. Application of AMA materials increase in IL-10 and TNF- α , while TEC induced an increase in IL-10.

Keywords: dental caries, dental materials, gingival crevicular fluid, flow cytofluorometry, cytokines.

САДРЖАЈ:

1. УВОД.....	1
1.1. ДЕНТАЛНИ КАРИЈЕС И РЕСТАУРАЦИЈА	2
1.1.1. Дентални каријес	2
1.1.2. Патогенеза денталног каријеса	3
1.1.3. Компликације.....	5
1.1.4. Развој запаљенског процеса на пулпи.....	5
1.1.5. Улога имунског одговора у денталном каријесу и пулпитису	6
1.2. МАТЕРИЈАЛИ ЗА ДЕНТАЛНЕ ИСПУНЕ.....	9
1.2.1. Композити.....	9
1.2.2. Полимеризација композитних материјала.....	13
1.2.3. Цитотоксичност композитних материјала за денталне испуне	14
1.2.4. Амалгам.....	15
1.2.5. Цинк-фосфатни цемент	17
1.2.6. Цинк-поликарбоксилатни цемент	18
1.2.7. Глас-јономери	19
1.3. ПРОИНФЛАМАТОРНИ ЦИТОКИНИ КАО БИОМАРКЕРИ	20
1.3.1. Цитокини као биомаркери запаљења.....	20
1.4. ЦИТОКИНИ ИНФЛАМАЦИЈСКОГ ПРОЦЕСА ПУЛПЕ	21
1.5. ХИПОТЕЗЕ И ЦИЉЕВИ СТУДИЈЕ	24
1.5.1. Радне хипотезе	24
1.5.2. Циљеви студије.....	25
2. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ.....	25
2.1. ВРСТА СТУДИЈЕ	25
2.2. ПОПУЛАЦИЈА КОЈА СЕ ИСТРАЖУЈЕ	25
2.2.1. Врсте материјала за денталне испуне	25
2.2.2. Критеријуми за избор врсте материјала:	26
2.2.3. Клинички параметри који ће бити праћени	27
2.3. УЗОРКОВАЊЕ	28
2.3.1. Узорци гингивалне сулкусне течности.....	28
2.3.2. Динамика узимања узорака.....	29
2.3.3. Одређивање концентрација цитокина у гингивалној сулкусној течности	30
2.4.ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СЕ МЕРЕ У СТУДИЈИ	30

2.5. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА.....	30
2.6. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА	30
3. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА	31
3.1 Утицај степена захваћености зубног ткива каријесом на PI, IKG, GI и DGS.....	31
3.2 Повезаност степена оштећења зубног ткива и вредности цитокина у GCF	33
3.3. Тежина денталних испуна и вредности цитокина у GCF.....	49
3.4. Врста материјала за денталне испуне и вредности цитокина у GCF.....	66
3.5. Гингивални индекс, индекс крварења гингиве, плак индекс и дубина гингивалног сулкуса и вредности цитокина у GCF.....	78
3.5.1. Гингивални индекс и концентрација цитокина у GCF.....	78
3.5.2. Дубина гингивалног сулкуса и концентрација цитокина у GCF	80
3.5.3. Индекс крварења гингиве и концентрација цитокина у GCF	82
3.5.4. Вредности цитокина у GCF и плак индекс	83
4. ДИСКУСИЈА.....	85
4.1. Утицај степена оштећења зубног ткива на локални имунски одговор.....	85
4.2. Утицај плак индекса, гингивалног индекса и дубине гингивалног сулкуса на локални имунски одговор.....	88
4.3. Утицај врсте денталних материјала	89
4.3.1. Утицај тежине материјала за денталне испуне.....	90
5. ЗАКЉУЧЦИ	91
6. ЛИТЕРАТУРА.....	94

1. УВОД

Од обољења која су међу најзаступљенијим и представљају социјално-медицински проблем у целом свету, значајно место заузимају дентални каријес и запаљење денталне пулпе. Као последица нелеченог и или компликованог каријесног процеса могуће је и запаљење денталне пулпе - пулпитис. Каријесна лезија настаје као последица метаболичке активности оралних микроорганизама денталног плака који ферментацијом угљених хидрата утичу на настанак киселинских продуката (превасходно млечна и пропионска киселина) који деминерализују глеђ и отварају пут ширења процеса. Међу метаболичким продуктима оралних микроорганизама, осим киселинских, ослобађају се и бактеријски ензими и токсини који доспевају у пулпу кроз дентинске тубуле. Настала локална инфламација је резултат дејства медијатора продукованих и ослобођених из различитих неимунских и имунских ћелија из пулпе зуба. Одговарајућим лечењем које подразумева, уклањање захваћених делова дентина, као и елиминацију штетних узрочника и продуката имунског одговора, процес запаљења се смањује и коначно регулише, репарацијом и регенерацијом. Међутим, у случајевима пролонгираног и опсежног оштећења дентина, запаљење добија хроничан ток са присутним инфламаторним ексудатом у пулпи, што може условити развој некрозе и гангрене пулпе.

Показано је да инфламаторни процеси у пулпи зуба утичу на повећање продукције бројних цитокина (1). Новија истраживања патогенезе каријеса указују да одонтобласти продукују бројне медијаторе. Основна улога одонтобласта у физиолошким условима је продукција секундарног дентина, која траје читавог живота. Функционални одговор одонтобласта на каријес или терапијску стимулацију је стварање физиолошке баријере за ширење каријесног процеса формирањем репараторног или терцијарног дентина. Недавним истраживањима на *in vitro* и *ex vivo* моделима показано је да одонтобласти могу посредовати у инфламаторном одговору код каријеса непосредном продукцијом антимикробних пептида и цитокина и индиректно активацијом миграторних имунских ћелија (2).

На основу познатог, претпостављамо да величина и трајање каријесног процеса одговарају интензитету инфламаторних процеса у пулпи. Узорке пулпног ткива у овом стадијуму инфламације у клиничкој пракси није могуће узети као дијагностички материјал.

Гингивална цревикуларна течност (*gingival crevicular fluid*, GCF) представља течни садржај гингивалног сулкуса. У физиолошким условима гингивална сулкусна течност је трансудат гингиводенталних крвних судова. Међутим у патолошким условима, у току запаљења пародонцијума, проток гингивалне сулкусне течности расте до тридесет пута и представља инфламаторни ексудат који садржи различите медијаторе, ензиме, неурохормоне, продукте кисеоничног метаболизма и цитокине. Истраживањима је показано да концентрације појединих цитокина и/или азотног оксида (NO) прецизно одражавају интензитет локалног запаљења (3).

Постоје резултати *in vitro* истраживања, да материјали који се користе за денталне испуне покрећу имунски одговор који зависи од врсте примењеног материјала и начина финалне обраде материјала (4). Пошто GCF даје увид у стања пародонталног ткива, нивои цитокина у гингивалној течности би могли бити прецизни биомаркери исхода утицаја денталних испуна и у процесу репарације оштећења зуба (1).

1.1. ДЕНТАЛНИ КАРИЈЕС И РЕСТАУРАЦИЈА

1.1.1. Дентални каријес

Дентални каријес је локализовано, мултифазно обољење тврдых зубних ткива, центрипеталног тока, поливалентне етиологије. Настаје као резултат међусобног деловања каузалних и предиспонирајућих фактора (1). Настанку каријеса претходи деминерализација глеђи која може перзистирати у виду беле каријесне мрље (*macula cariosa alba*) на чијем месту ће се у даљем току обољења јавити каријесна кавитација или доћи до заустављања каријесног процеса.

Дентални каријес представља локалну деструкцију тврдых зубних ткива метаболичким продуктима микроорганизама денталног плака. Ферментацијом угљених хидрата, настају кисели продукти који започињу процес деминерализације зубне глеђи. Каријес је заправо резултат интеракције кариогене флоре усне дупље, ферментабилних угљених хидрата као и специфичних и неспецифичних фактора одбране (5). Епидемиолошки подаци показују да је преваленца нелеченог каријеса око 37% на глобалном нивоу (5). Без обзира на узраст и пол као и поднебље, епидемиолошки подаци указују да је дентални каријес једно од најраспрострањених обољења у свету (6).

За настанак денталног каријеса, као мултикаузалног обољења, описани су различити фактори који се у основи могу поделити на опште и локалне (7).

Општи предиспонирајући фактори су:

- наслеђе
- исхрана (делује и на зубе у развоју, уколико је храна дефицитарна минералима, као што су калцијум, фосфор и флуор, те утиче на слабију минерализацију чврстих зубних ткива) (5)
- општа обољења (ТБЦ, луес, дијабетес, анемија)
- ендокрини поремећаји (смањена функција паратиреоидне жлезде која утиче на метаболизам калцијума, слаби минерализацију зуба и њихову отпорност)
- пубертет и гравидитет (физиолошка стања организма у којима су честа обољења меких ткива усне дупље, што уз лошу хигијену уста и зуба погодује настанку каријеса)

У локалне, предиспонирајуће факторе спадају:

- структура зуба
- орална хигијена
- хигијенско дијететске навике
- количина и проток пљувачке
- пуферски капацитет пљувачке
- положај зуба у зубном низу
- облик зуба
- лоши конзервативни и протетски радови (7).

Смањена продукција и лучење пљувачке умањују ефекат физиолошког самоочишћења зуба и њену протективну улогу. Вискозност пљувачке се повећава, она постаје густа и лепљива, а њена рН вредност смањена, што ствара идеалне услове за развој каријеса (8).

1.1.2. Патогенеза денталног каријеса

Разни предиспонирајући фактори средине стимулишу напредовање деминерализације глеђи, као почетног момента у настанку клиничког каријеса. Присуство денталног плака (биофилма) на површини зубне глеђи, где је из одређених разлога онемогућено физиолошко самоочишћење као што су, тескоба у зубном низу, појачана киселост у усној дупљи код пацијената који болују од гастроезофагеалног рефлукса, сувоћа усне дупље у склопу аутоимунских и реуматских обољења, као и код пацијената на зрачној терапији нарочито, главе и врата, доприноси убрзаној деминерализацији глеђи метаболитима које стварају микроорганизми. У току овог процеса долази до локалне деминерализације, праћене губитком површних слојева глеђи. Кариогене бактерије из биофилма ферментују угљене хидрате из хране и стварају органске киселине – млечну и пропионску киселину (9).

До поремећаја равнотеже у микросредини долази након одређеног периода деловања биофилма и пада рН испод критичне вредности и то од 5.5 за глеђ, а 6.2 за дентин, отпуштања калцијумових и фосфатних јона из глеђи и/или дентина, и настанка процеса деминерализације (10). Као резултат преваге деминерализационих процеса, настају кавитације прво и најчешће на каријес предилекционим местима, а то су јамице и фисуре бочних зуба, физиолошка удубљења на непчаним површинама горњих латералних секутића, као и апроксималне површине фронталних и бочних зуба. Локалном применом преперата флуора, процесом измене хидроксилних јона, јонима флуора настаје флуоропатит, који ојачава кристалну решетку глеђи која постаје отпорнија на дејство киселина. Присуство мале количине флуоридних јона у пљувачци омогућује њихово поновно таложење на деминерализоване површине зубне глеђи и она се на тај начин реминерализује.

Апроксимални каријес (Слика 1.) развија се испод контактних тачака два суседна зуба. Пацијенти се јављају стоматологу када примете промену боје зубне крунице, крварење из интерденталне папиле или осетљивост на термичке и осмотске надражаје.



Слика 1. Апроксимални каријес лоциран на мезијалној површини доњег левог првог премолара (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

Каријесна лезија развија се често до гингивалног сулкуса (9). Најпре се јавља бела каријесна мрља (*macula cariosa alba*), каријесна лезија без кавитета, која у даљој еволуцији, може постати смеђа (*macula cariosa fusca*), због преципитације пигмената из хране, воде, обојених напитака као и активности хроматогених микроорганизама, што не мора да буде показатељ прогресије каријеса. У фази пребојености апроксималне каријесне лезије, дефект се боље уочава интраоралним прегледом.

Динамика развоја каријеса, разликује се у глеђи и дентину, због разлика у минералном саставу и цитоархитектоници ова два зубна ткива. Глеђ је минерализованије, компактније зубно ткиво, састављено од густо збијених глеђних призми и интерпризматичне супстанце. Садржи око 95% неорганских материја у виду хидроксил апатита. Дентин је прожет дентинским каналићима (који су испуњени одонтобластичним продужецима и дентинским ликвором), са око 70% неорганских материја и колагеном типа II. Динамика каријеса, у зависности од клиничког тока, који може бити акутан или хроничан, обухвата минерално растварање, (деминерализацију) тврдих зубних ткива под дејством метаболичких продуката микроорганизама, а реминерализација, као вид репараторног механизма, одвија се флуоридима из пљувачке или локално апликованим флуоридним препаратима (9).

Развој каријеса дентина протиче другачије од каријеса глеђи, зато што дентин садржи мање минерала и има дентинске тубуле (каналіће), којима продиру бактеријски ензими и токсини. Слабија отпорност дентина на органске киселине омогућује брже напредовање каријесног процеса у дентину. Пулпо-дентински комплекс реагује на дејство штетних нокси покретањем процеса реминерализације и затварањем дентинских тубула пратећи развој каријесне лезије (1).

Каријес зуба индукује урођени и адаптивни имунски одговор домаћина. У реакцији преовлађују неутрофили, макрофаги, Т и В лимфоцити, мастоцити, остеокласти, остеобласти, фибробласти. Иmunске ћелије синтетишу велики број проинфламаторних цитокина укључујући интерлеукине IL-6, IL-4, IL-1 β , IL-1 α , фактор туморске некрозе (TNF- α) и лимфотоксин- α (11). Код периапексних лезија на анималним моделима (12) као и у хуманој популацији је показано да је концентрација ових цитокина повећана у гингивалној течности (13).

Несаниран и дуготрајан каријесни процес свакако смањује адаптационе и компензаторне механизме пулпо-дентинског комплекса, у смислу квалитативне и квантитативне продукције репараторног дентина па се смањују и урођени имунски механизми, чији су носиоци одонтобласти (11).

1.1.3. Компликације

Запаљење денталне пулпе, пулпитис је углавном узрокован инфекцијом пулпе коменсалним, оралним микроорганизмима (9). Узроци настанка пулпитиса могу бити: инфективни, јатрогени и трауматски. Главни инфективни агенси зубне пулпе и перирадикуларних ткива су исти они микроорганизми који се налазе у каријесу дентина и глеђи. Међу њима су бројни родови и врсте микроорганизама, нарочито *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* и *Actinomyces*, које имају велики кариогени потенцијал. Ове бактерије продукују токсине и ензиме који продиру у пулпу кроз дентинске тубуле. Микроорганизми доспевају у пулпу, преко отворених дентинских каналића, када каријесни процес надвлада капацитет репараторног дентина. Иmunски одговор реакцијом полиморфонуклеарних леукоцита од којих су највише присутни неутрофили, који у конфронтацији са микроорганизмима, њиховим токсинима и ензимима стварају подручја влажне некрозе у денталној пулпи. Ток инфламације у правцу иреверзибилног процеса или некрозе зависи од више фактора као што су: вируленција бактерија, способност продукције проинфламаторних цитокина, ниво интрапулпарног притиска, количина протока крви и лимфна дренажа, као и имунски одговор домаћина.

Најважнији механички иританси који могу угрозити пулпу су дубока препарација кавитета турбином без ваздушно воденог хлађења, неадекватно подлагање кавитета пре конзервативне санације, разни видови микротрауматизација због високих испуна, лоших конзервативних и протетских радова, оклузална траума, киретажа пародонталних џепова, прекомерна употреба ортодонских сила (1, 13). Хемијска иритација пулпе настаје неадекватном применом средстава за десензибилизацију, дезинфекцију и чишћење дентина, денталних лакова, привремених и трајних испуна. Такође, испуни који се користе без одговарајуће подлоге могу изазвати топлотне и хемијске иритације и оштећење пулпе. Композитни материјали носе ризик микроцурења дуж рубова кавитета уз појаву секундарног каријеса и оштећење пулпе зуба.

1.1.4. Развој запаљенског процеса на пулпи

Када је дентин експониран, долази до реакције пулпе због слободног кретања дентинског ликвора кроз дентинске каналиће (9). Дентински каналићи постају пропустљиви за бактеријске продукте који се крећу према пулпи и могу да активирају имунски одговор и продукцију цитокина. Уколико настане одумирање одонтобласти, долази до

диференцијације нових одонтобласта из недиферентованих мезенхималних ћелија субодонтобластног слоја пулпе, који синтетишу нови репараторни дентин (13).

Због специфичне анатомске локализације пулпе, терминалног крвотока и уског анатомског форамена кроз који пролази неуроваскуларни сноп, у стању инфламације, ткиво пулпе се не понаша као остала везивна ткива. Веома брзо настаје вазодилатација крвних судова пулпе, праћена екстравазацијом крвних елемената и плазме, конгестијом и стазом, порастом интрапулпарног притиска, формирањем појединачних, а потом и мултиплих микроабсцеса. С обзиром да је дентална пулпа смештена у коштаном кавуму, а да преко анатомског отвора није могућа лимфна дренажа и елиминација продуката запаљења, пацијент клинички реагује јаким боловима у пределу одређеног зуба.

1.1.5. Улога имунског одговора у денталном каријесу и пулпитису

Зубна глеђ покривена је симбиотским, микробским заједницама које чине, углавном сапрофитске *Gram +* бактерије. Ове заједнице стварају биофилм који препокрива и њих и глеђ, и који представља препреку непропустљиву за микроорганизме, на тај начин штити пулпо-дентински комплекс и надаље денталну пулпу. Међутим, када се нађу у окружењу богатом шећерима, специфичне бактеријске популације из ових заједница продукују киселине које прогресивно деминерализују глеђ и тако се ствара кавитација којом кариогене бактерије продиру и продукују додатне киселине, које прогресивно продубљују лезију даље у дентину. Ширењем и метаболичком активношћу ових микроорганизама, ослобађају се и друге бактеријске компоненте које дифундују кроз денталне тубуле према пулпи. Деминерализација дентина такође може да омогући ослобађање биоактивних молекула из дентинског матрикса (13).

Бактеријски антигени препознају антиген презентујуће ћелије распоређене на граници дентин-пулпа, што покреће механизме имунског одговора који може елиминисати бактеријску инфекцију у раној фази и спречити даљу прогресију болести. Учестале инвазије бактерија резултирају хроничном инфламацијом пулпе што може водити некрози. Када такво некротично ткиво населе микроорганизми, инфекција каналикуларног система зуба може узроковати и развој периапексних запаљења и лезија (9). Адекватним третманом пулпитиса може се утицати на смањење продукције проинфламаторних цитокина у периапексу (14).

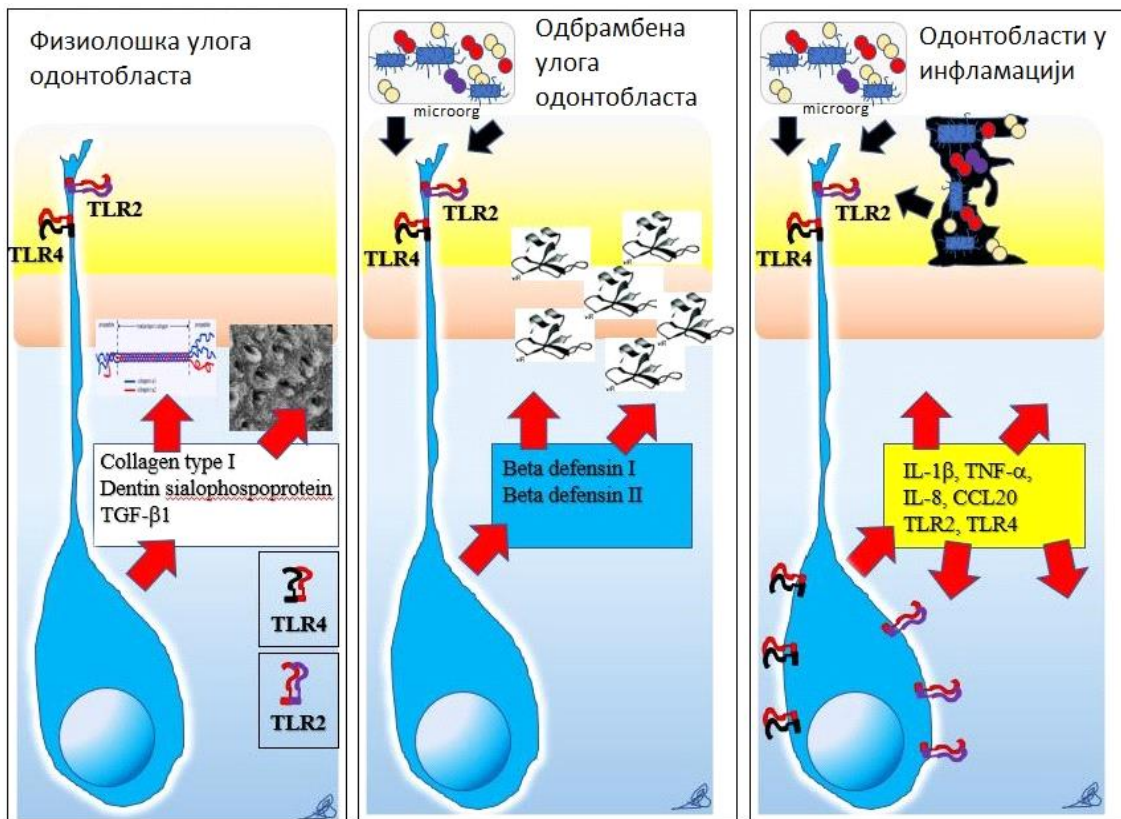
Када каријесна лезија доспе до границе дентин-пулпа развија се пулпитис који убрзо добија хроничан ток трајним губитком функције ткива уз смањење потенцијала имунског одговора. У неким случајевима брзо санирање инфламације омогућава потпуну репарацију пулпе формирањем баријера реактивног дентина који продукују преживели одонтобласти и/или репаративног дентина од ново-диференцираних одонтобластних ћелија, што је показано у животињским моделима (15).

Новоформирани дентин има заштитну улогу и смањује ризик од трајне иритације спољашњим бактеријским или хемијским агенсима. Важно је идентификовати потенцијалне биомаркере који би омогућили увид у стање и даљи ток инфламације и указали на адекватан третман којим се може утицати на инфламацијске реакције у зубној пулпи, стимулишући санирање инфекције и успостављање хомеостазе ткива (14).

Микробни агенси, њихови ензими и токсини иритирају пулподентински комплекс, а дебљина дентина који одваја дно каријесне лезије од пулпе, може утицати на интензитет

реакције. Уколико одонтобласти буду ирверзибилно оштећени настају прекиди у слоју који они стварају па се инфламација шири у субодонтобластни слој, односно развијају се класични знаци запаљења: вазодилатација, инфилтрација леукоцитима, едем и повећање интрапулпног притиска.

Одонтобласти представљају прву биолошки активну линију одбране пулпе, укључују се у борбу против бактеријске инвазије и покрећу урођене и стечене имунске реакције (Слика 2). На продужецима ових ћелија су исказани рецептори за молекулске обрасце патогена (енгл. Pattern Recognition Receptor, PRR) који препознају и за себе везују ове молекуле (енгл. Pathogen - Associated Molecular Pattern, - PAMPs), што је пресудно за покретање и даље одвијање читавог имунског и инфламацијског одговора. Међу најважнијим рецепторима ове групе су рецептори фамилија Toll-like (енгл. Toll-like receptors, - TLRs) која је есенцијална за покретање имунског одговора (16). TLR-2 и TLR-4 су укључени у препознавање *Gram+* и *Gram-* бактерија. Одонтобластична ћелије здраве пулпе исказују оба типа рецептора, што указује да су одонтобласти способни да препознају ове патогене када дифундују кроз дентинске тубуле током каријесног процеса (17).



Слика 2. Различите улоге одонтобласта у физиолошким и патолошким стањима чврстих зубних ткива (љубазношћу проф. др Данила Војводића)

Једна од главних последица активације ових ћелија преко, TLR-а синтеза и секреција антимикробних агенаса и проинфламацијских цитокина и хемокина који регрутују и активирају инфламационе ћелије. Истраживањима је показано да одонтобласти производе неколико антибактеријских агенаса, од којих се као посебно значајни издвајају β-дефензини и азот моноксид. β-дефензини (BD) су мали, катјонски, антимикробни пептиди који

формирају микропоре у ћелијском зиду микроорганизама нарушавајући тако интегритет мембране микроорганизама и индукују смрт и ослобађање њиховог садржаја (18). Резултати неколико студија *in vitro* показују да су β -дефензини укључени у одбрану пулпе против кариогених микроорганизама (18, 19). Студијама је показано да ови агенси имају антибактеријску активност и у зрелим биофилмовима који садрже патогене бактерије. Сматра се да β -дефензин типа 2 (BD-2) регулише продукцију IL-6 и *in vitro* служи као лиганд за IL-8 у ћелијама сличним одонтобластима (20, 21). У култивисаним хуманим ћелијама пулпе су уочени механизми повратне спреге између проинфламацијских цитокина и BD-2, чија је експресија утицала на IL-1 α и фактор туморске некрозе α (TNF- α) (20). Скорашњим истраживањима је показано да се током инфламације пулпе концентрација азот монооксида (NO) нагло повећава што је последица синтезе индуцибилне NO синтетазе (iNOS). Активација iNOS подстиче акумулацију неутрофила и макрофага на пацовском моделу (22). Недавно је *in vitro* доказано да диференцирани одонтобласти снажно појачавају синтезу NOS и NO у одговору на активацију TLR2. Показано је да NO инхибише раст *Streptococcus mutans*-а (13).

Бројним *in vitro* студијама је такође показано да након активације PAMP-ом, Gram+ бактерија, одонтобласти производе проинфламацијске цитокине и хемокине (23, 24).

Хемокини потекли из субодонтобластног слоја привлаче, групишу и акумулирају дендритске ћелије, које препознају патогене својим рецепторима за молекулске обрасце патогена, активишу се и приказују антигеске пептиде Т лимфоцитима (25). У интактној пулпи, су идентификоване две популације антиген презентујућих ћелија: CD11c+ ћелије присутне на граници пулпе и дентина, испод оклузалних пукотина, док су F4/80+ ћелије концентрисане у периваскуларном региону унутрашње пулпе и субодонтобластог слоја. CD11c+ дендритске ћелије исказују TLR рецепторе: TLR2 и TLR4. F4/80+ ћелије мигрирају из унутрашњости пулпе, пролиферишу и експримирају рецептор CD86 (13). Ове ћелије имају значајну улогу у продукцији проинфламацијских цитокина.

Везивање, PAMP-а и PRR-а активирају се сигнални путеви у антиген презентујућим ћелијама што за једну од последица има синтезу проинфламацијских цитокина.

Прогресија каријесног процеса и развој пулпитиса повећава инфлукс имунских ћелија и концентрације маркера инфламације (26). Проинфламацијски цитокини покрећу низ функција укључујући регрутовање лимфоцита њихову, екстравазацију, активацију, диференцијацију као и производњу антитела. Најдетаљније је испитана улога IL-1 α , IL-1 β и TNF- α , током имунског одговора у пулпи као и периапексним лезијама (27). На концентрације инфламацијских медијатора значајно утичу и састојци дентина ослобођене дејством бактеријских метаболита током процеса деминерализације (13). Региструју се, у ткиву пулпе, током каријесног процеса и повећане концентрације и других цитокина укључујући IL-4, IL-6, IL-8 и IL-10 (26). Ови цитокини су одговорни и за развој хроничног иреверзибилног пулпитиса.

Макрофаги као и дендритске ћелије уносе у себе патогене, прерађују их и приказују Т лимфоцитима што је нарочито важно у ефекторској фази имунског одговора. Дендритске ћелије привучене хемокинима које продукују одонтобласти мигрирају у регионалне лимфне нодусе и ту активирају CD4+ Т ћелије у ефекторске CD4+ Т помоћне (Th) лимфоците или индуковане регулаторне Т (iTreg) лимфоците (29). Након активације антигеном исказаним на антиген презентујућим ћелијама, а у зависности од цитокинске мреже у окружењу CD4+

T лимфоцити се развијају у правцу: Th1, Th2 и Th17 ефекторских лимфоцита (28). Th1 лимфоцити продукују IFN- γ који подстиче све аспекте активације макрофага, а нарочито фагоцитозу, док Th2 лимфоцити продукују IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 и IL-14 од којих су неки есенцијални за функцију B лимфоцита односно синтезу антитела, Th17 секретују IL-17, IL-8, IL-21 и IL-22 што за последицу има њихово регрутовање и активацију (29).

Колико је нама познато, до сада је у само једној студији приказана регенерација пулпе на ирверзибилном моделу пулпитиса након инхибиције IL-6 секреције матриксном металлопротеиназом (ММП-3). Аутори су предложили да би контрола активности IL-6 од стране ММП-3 могла смањити Th2 одговор и индукцију Th17 ћелија (30).

1.2. МАТЕРИЈАЛИ ЗА ДЕНТАЛНЕ ИСПУНЕ

1.2.1. Композити

Применом денталних материјала обнављају се функција, анатомија и естетика зубних површина захваћених каријесом. Препарати који се користе за директне рестауративне процедуре обухватају широку палету материјала који се разликују по физичко – хемијским, биолошким и естетским карактеристикама.

Композити су стоматолошки материјали намењени за дефинитивну рестаурацију зуба. Назив „композит“ користи се код комбинације два или више разнородних материјала, који сједињени дају производ са многоструко бољим својствима од појединачних компоненти које улазе у његов састав.

Композити садрже органску компоненту (матрикс), неорганску компоненту (пунило), органско – неорганску компоненту (силан), која повезује честице пуниоца са органском смолом, затим активаторе и иницијаторе неопходне за полимеризацију, стабилизаторе, који обезбеђују стабилност материјала, инхибиторе који спречавају превремену полимеризацију као и пигменте који композитима дају различите нијансе боја.

Првобитни композитни материјали су добијени комбиновањем диметакрилата (епокси смоле и метакрилатна киселина) и силанизованог кварцног праха уведени су у стоматолошку праксу 1962. године. Бројна истраживања су вршена како би се унапредила функционална и хемијска својства композитних материјала. Напредак је добијен у смислу оптимизације величине, запремине, облика и дистрибуције честица пуниоца. Композитни материјали су почели да се примењују и за рестаурације зуба који се налазе изван линије осмеха тек након бројних лабораторијских и вишегодишњих клиничких истраживања којима је утврђивана отпорност под разним оптерећењима (слика 3).



Слика 3. Tetric Evo Ceram (Ivoclar, Vivadent) (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

Данас, са развојем индустрије стоматолошких материјала, нарочито нанотехнологије, композити су заузели примат у рестауративној стоматологији. Композитни материјали представљају сложене молекуле који имају тродимензионалну структуру сачињену од најмање две хемијски различите компоненте са јасном међусобном границом (31).

Диметакрилат је основа органског матрикса и изграђен је од различитих молекула мономера који се полимеризују. Савремене композитне смоле најчешће у саставу имају BIS GMA (бисфенол-А-глицидил метакрилат) и TEGDMA (триетиленгликол диметакрилат). Ове компоненте повећавају унакрсно повезивање полимерних ланаца, а тиме повећавају чврстоћу композитног материјала и смањују растворљивост у оралној средини (32). Главни недостаци композитних материјала углавном произилазе из органске компоненте. Најчешће су: полимеризациона контракција, висок степен термичке експанзије, порозност, апсорпција воде која узрокује секундарну волуметријску експанзију и ниску отпорност на трошење.

Органска маса може бити и силанизирана смола, изграђена из хидрофобног молекула силиксана и оксиранског прстена који је одговоран за физичка својства ових материјала и смањену полимеризациону контракцију. Овакви мономери отварају своју молекулску структуру са локалном волуметријском експанзијом, чиме се значајно компензује величина полимеризационе контракције. Студијом (Ricci -ја и сар.) из 2019. године потврђена је ниска полимеризациона контракција код композитних смола на бази силорана, која је износила мање од 1% (33). Такође, код ових материјала смањена је и апсорпција воде и растворљивост у њој.

Пунилац представља неоргански део композитних материјала, а чине га честице неорганског минералног порекла као што су кварц, боросиликатно стакло, литијум

алуминијум силикати, баријум флуориди, цирконијум, керамички прах или честице стакла. Основне функције неорганске компоненте су побољшање механичких својстава композитних материјала (чврстоћа, тврдоћа, отпорност на абразију). Већа количина пуниоца утиче и на смањење апсорпције воде, термичке контракције и експанзије (34).

Адхезивна компонента материјала обезбеђује добру везу између матрикса смоле и честица пуниоца. На овај начин је омогућено флексибилнијем полимерном матриксу да пренесе стрес ригиднијим честицама пуниоца. Ова компонента доприноси побољшању физичких и механичких својстава композитних материјала, али и спречава цурење течности дуж додирне површине матрикса смоле и пуниоца (35). Термичка својства се огледају у промени волумена композита у односу на промену температуре средине у којој се налази. Пораст температуре изазива волуметријску експанзију, док пад температуре доводи до волуметријске контракције композита.

Релативне вредности промене волумена композита у једној димензији узроковане променама температуре околине познате су као линеарни коефицијент термичке експанзије (LKTE). Разлика између вредности LKTE композита и LKTE чврстог денталног ткива, поред феномена полимеризационе контракције, доводи до формирања маргиналне пукотине између зида кавитета и испуна, што има за последицу продор микроорганизама и оралних флуида према пулпи, као и отицање дентинског ликвора у спољну средину.

Основне механичке карактеристике композитних испуна односе се на могућност реакције испуна на оптерећење. Композитни испуни се деформишу под оптерећењем посебно при жвакању мењајући облик и запремину. Полимеризација композита понекад лоше утиче на механичка својства испуна јер мења тврдоћу, затезну чврстину и савитљивост композитних материјала. Различити фактори из окружења делују на брзину и степен хемијске разградње испуна. Дифузија воде из околине испуна кроз полимерне мреже композита раздваја полимере ланаца уколико се молекула воде веже за хидрофилне групе, што може бити један од узрока стварања полимеризационе пукотине (36). (Слика 4.)



Слика 4. Композитни испун на зубу 16 (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

Биокомпатибилност композитних материјала може бити искомпромитована механизмима биодеградације, саливарним ензимима из група матрикс металопротеиназа, специфичних и неспецифичних естераза, при чему се ослобађају три групе слободних радикала: кисеонични, азотни и сумпорни (36).

Адхезивни системи имају главну улогу у остваривању микромеханичке везе материјала за испун са чврстим зубним ткивима. Јачина ове везе зависи од формирања микропростора, деловањем органских киселине на површини глеђи и дентина који ће омогућити пенетрацију адхезива унутар њих. Веза између адхезива и зуба се формира на два нивоа. Први ниво подразумева стварање микропродужетака смоле око глеђних призми или унутар дентинских тубула (37). Други ниво значајније доприноси свеукупној ретенцији и подразумева финију пенетрацију адхезивних нанопродужетака кроз глеђне кристале или унутар дентинског колагеног простора-интертубуларног дентина. Веза композитних испуна и глеђи се остварује на задовољавајући начин, али спој дентина и рестауративних материјала је још увек непотпуно решен проблем (38). У рестауративној стоматологији у највећем броју случајева као адхерент је дентин, па су својства дентина од изузетног значаја за остварење адхезивне везе (39).

Дентин слабије остварује адхезију него глеђ, зато што има слабију минерализацију, има више колагена, хидрофилан је, а његови тубули су испуњени одонтбластним продужецима и дентинским ликвором. Зато се пре апликације испуна врши кондиционирање дентина, чиме се мења површина дентина након препарације кавитета. Након препарације, често заостаје размазни слој који садржи остатке сеченог дентина, пљувачку и остатке крви. Просечна дебелина овог слоја је од 1 до 5 μm што зависи од врсте

ротирајућег инструмента, брзине ротације, примењеног притиска при препарацији, количине воденог хлађења и дубине дентина где се врши препарација (39). Размазни слој (*smear layer*) смањује пропустљивост дентина за око 86% и физички онемогућава цурење дентинског ликвора из препарацијом отворених дентинских каналића (40). Уколико се не уклони, спречава остварење адхезивне везе и формирање хибридног слоја (смолом ојачана зона дентина, која се састоји од колагена, хидроксиапатита и инфилтроване смоле).

Деминерализовање неорганске компоненте површног слоја интертубуларног дентина, омогућава пенетрацију смоле унутар експониране мреже колагених влакана и стварају се услови за формирање дентинско-полимерне структуре која се у научно- стручној литератури назива смолом ојачани слој дентина или хибридни слој. Он се састоји од колагена и хидроксиапатита инфилтрираног полимером. Дебљина хибридног слоја зависи од коришћеног адхезивног система и креће се од 0,5 до 2 μm (39).

1.2.2. Полимеризација композитних материјала

У току примене композитних материјала посебан проблем представља полимеризациона контракција. Најновији композитни материјали који се користе за денталне испуне показују полимеризациону контракцију 1-6%, у зависности од састава и услова полимеризационог процеса (40). Процес полимеризационе контракције зависи од хемијског састава органског матрикса. Мономери веће молекулске тежине ће узроковати мању контракцију него мономери мање молекулске тежине. Зато ће већи садржај пуниоца, који даје тврдоћу, узроковати настанак већег модулуса еластичности композитног материјала и мање изражену полимеризациону контракцију. Због тога однос матрикс/пунилац има значајну улогу у настанку напрезања и стреса унутар композитне структуре као и у пределу везе са површином зуба.

Полимеризациони процес води гелацији која повећава вискозност. Гел тачка се достиже преласком мономерно-олигомерног раствора из вискозно-пластичне фазе у чврсту вискозно-еластичну фазу. Полимеризациони процес доводи до физичког приближавања мономера који међусобно реагују преко слободних група радикала. Због тога се јавља димензиона, волуметријска контракција, карактеристична манифестација свих материјала који се полимеризују слободно-радикалским механизмом (41).

Контракција материјала утиче на настанак појаве стреса унутар самог материјала. У почетним стадијумима полимеризације, мономери и мањи ланци полимера се лако ослобађају стреса докле год су у могућности да се крећу. Што више мономера реагује, то се формира већа и компликованија мрежа полимера (гел тачка). Како процес умрежавања напредује, долази до јачег преплитања полимерних молекула чиме се смањује њихова покретљивост и материјал постаје ригидан (тачка витрификације).

Полимеризациона контракција узрокује смањење волумена композитног материјала и формирање напона истезања на адхезивном споју испуна и зида кавитета. Вредности напона током полимеризације крећу се у интервалу од 3,2 МПа до 23,9 МПа (42). Када вредност напона полимеризационе контракције композита надмаши јачину адхезивне везе композита и зида кавитета долази до пуцања адхезивне везе и настанка микропукотине на споју композитни испун-зуб. Стварање контракционе пукотине на споју зуба и испуна доводи до постоперативне осетљивости, микроцурења и настанка секундарног каријеса (Слика 5.)



Слика 5. Ивична пребојеност око композитних испуна на зубима 46 и 47, као последица полимеризационе микропукотине (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

Микроцурење је клинички неоткривено продирање течности, бактерија, молекула или јона између зида кавитета и испуна (43). Последице микроцурења су маргинална дисколорација испуна, развој секундарног каријеса, као и обољење пулпе. Да би се избегло стварање микроцурења и микропукотине мора се обезбедити дубља веза између дентина и материјала испуна. Применом дентин адхезивних материјала побољшан је квалитет ивичног затварања испуна што је довело до смањења стварања микропукотина и микроцурења (44). Композитни дентални материјали у оралној средини су изложени електрохемијским и хемијским реакцијама, дејству бактерија и биофилма, термодинамичким и механичким силама мастикације. Услед ових деловања материјал за денталне испуне се троши, мења састав, грађу, облик, квалитет површине и своја својства.

1.2.3. Цитотоксичност композитних материјала за денталне испуне

Композитни материјали могу отпустити мономере и честице испуна за време и након постављања испуна. У клиничким условима композити никада нису у потпуности полимеризовани (45). Мономере могу бити отпуштени из полимера деловањем механичког стреса, жвакањем и ерозијом. Старењем композита долази до стварања порозности у материјалу, и на тим местима се касније одвија апсорпција воде и хемијско/ензимска разградња (47). Полимери садрже естерске групе на које делују саливарне естеразе што доводи до распадања композита и отпуштања продуката по типу слободних радикала (кисеонични, сумпорни и азотни). Деструкцију материјала могу изазвати и бактерије из оралне средине које се нагомилавају у ивичним пукотинама.

Отпуштени мономере материјала испуна могу деловати токсично на локалном и системском нивоу. Највећи токсичан ефекат ови мономере изазивају на пулпи, гингиви и

оралној мукози (47). Композити базирани на BIS-GMA/TEGDMA смолама, као и они који у свом саставу поседују 4-МЕТА/ММА смоле показују бољу биокompatibilност у односу на композите који у свом саставу имају 2-хидрокси-етил-метакрилат (HEMA) (48). Метакрилатни мономери као TEGDMA, BIS-GMA, UDMA и 2-хидрокси-етил-метакрилат (HEMA) показују појачани генотоксични и цитотоксични учинак и могу узроковати запаљенске реакције у ћелијама пулпе.

Студијама *in vitro* и *in vivo* којима је испитивана цитотоксичност GJC материјала који се користе у стоматологији, „смолом модификовани“ и „металом ојачани“ GJC показана је значајно већа цитотоксичност *in vitro* (48), у поређењу са конвенционалним GJC, било да су у директном или индиректном контакту са зубном пулпом. *In vivo* дентин представља баријеру која штити ћелије зубне пулпе од токсичних ефеката GJC и због тога се потенцијално токсични GJC са „модификованом смолом“ и „ојачани металом“ никада не смеју примењивати директно на зубну пулпу (47).

1.2.4. Амалгам

Дентални амалгам је рестауративни материјал који се у стоматологији користи веома дуго. Назив „амалгам“ потиче од грчке речи α – не и $\mu\lambda\lambda\alpha\gamma\mu\alpha$ – смекшање. У стоматологијској пракси се дуго користио као материјал за испуне постериорних зуба. По хемијском саставу садржи смесу живе и других метала, сребра, калаја и бакра. Дентални амалгам најчешће садржи 43-54% живе а у остатку је највише сребра (25-30%), затим око 10% калаја и бакра, и око 2% цинка (49).

Основна предност амалгама је велика отпорност материјала на дејство мастикационих сила, мала цена, једноставна примена. Главни недостаци амалгамских материјала су потреба за опсежним брушењем здравог ткива, потенцијална токсичност живе и лош естетски ефекат.



Слика 6. Амалгамски дентални испун на зубу 47 (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

Записи о примени амалгама за денталне испуне потичу из 6. века п.н.е из дела Су Кунга (*Su Kung*), „*Materia medica*“. Након дужег времена Ј. Стокер (*J. Stocker*) је почео да употребљава смесу живе и витриола. У Француској је у 19. веку коришћен материјал који

је најсличнији по саставу савременом амалгаму. Прву смешу денталног амалгама на собној температури направио је Бел (*Bell*) у Енглеској 1819. године по којој је и добила назив „Белова паста“ (50).

Због различитог приправљања смеше и варијабилних састава смеше настао је „први амалгамски рат“ када је *American Society of Dental Surgeons* 1828. године забранило употребу амалгама у стоматолошкој пракси. То је условило потребу за стандардизацијом састава денталног амалгама, што је и урађено 1845. године тако да је амалгам поново добио атест за примену. Након тровања живиним парама, при употреби амалгама, професора хемије у Немачкој, почео је „други амалгамски рат“. Без обзира на све наведене недостатке амалгама, он се и даље користи у клиничкој пракси за рестаурацију бочних зуба, ван линије осмеха.

Међу најважнијим помацима у развоју денталног амалгама сматра се откриће „*non-gama 2*“ амалгама уз израду амалгама пакованог у капсулама чији је састав стандардизован (49). Међутим, у савременој медицини постоје озбиљне тежње за избацивање амалгама из употребе као материјала за денталне испуне. (Слика 7.)



Слика 7. Амалгам (Etracap D caps, Galenika, Србија) (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

Амалгами који се користе у денталној пракси класификују се на основу количинског удела бакра у саставу на конвенционалне који садрже до 3% бакра и амалгаме са великим уделом бакра и до 28%.

Стварање различитих формула амалгама иде у смеру изостајања *gama 2* фазе у амалгамизацији која је одговорна за редукцију чврстине и повећања склоности ка корозији материјала. Код амалгама са високим садржајем бакра нема фазе *gama 2*. Према начину производње, амалгамске честице се деле на струготинасте, кугласте, округле или мешовите. Кугласти облик амалгамских честица за разлику од осталих типова има низак степен кондензационе отпорности што је повољно за примене код испуна који подлежу деловању јачег оклузалног оптерећења (51).

Као меру квалитета амалгама, ADA спецификација No.1 предлаже пет физичких својстава:

- Флуидност денталног амалгама (*creep*)
- Флуидност је деформација амалгама у дужину под одређеним притиском у одређеном времену изражена % и максимално допуштена флуидност је 3%.

- Отпорност на притисак
- Отпорност на притисак након једног сата износи 80 МРа. Она се може смањити услед недовољне амалгамизације, високог удела живе, недовољног притиска приликом уношења амалгама у испрепарисан кавитет и његове кондензације одговарајућим инструментом, споре апликације и појаве корозије.
- Промена димензије

Контракција денталног амалгама у првих двадесет минута је последица растварања живе.

Амалгам је отпорнији на притисак него на силе вучења и савијања. Због тога се кавитет мора формирати тако да испун буде изложен претежно силама притиска, а мање силама вучења и савијања.

Као и остали материјали за денталне испуне, амалгами су изложени различитим реакцијама под дејством хемијских, биолошких и механичких фактора у оралној средини. Услед ових реакција дентални амалгамски испуни мењају облик и својства. Корозија услед хемијских и електрохемијских реакција оштећује површински и слој испод површине испуна тако да испун постаје подложнији трошењу. Електролизом Sn_8Hg ослобађају се јони живе која реагује са честицама *gamma* фазе (Ag_3Sn) и ствара нову *gamma* фазу док се калај спаја са кисеоником и хлоридним јонима и ствара корозивне спојеве. Преостала жива доводи до меркуроскопске експанзије испуна. Овај прогресивни постепени процес изазива микрупукотине у облику латиничног слова V, што ствара повољне услове за депоновање плака и настајање секундарног каријеса, а касније и пулпитиса. Често се ствара и ивична пукотина која је чешћа код конвенционалних него код *non-gamma 2* амалгама, они у себи садрже изванредан проценат цинка који спречава корозију. Ретроспективно истраживање успеха рестаурације амалгамом је показало да се централне пукотине јављају код 4,3% испуна, а маргиналне код 1,3% (51).

Амалгамски испуни, као најстарији испуни за дефинитивно затварање зуба, још увек заузимају значајно место у стоматолошкој пракси. Уколико испун проминира изван рубова испрепарисаног кавитета, у субгингивалном делу долази до иритације гингиве и њене инфламације. То доводи до појачаног нагомилавања плака и остатака хране, који у присуству микроорганизама појачавају запаљенску реакцију. Уједно може доћи и до секундарне експанзије амалгама услед реакције цинка са водоник пероксидом који се ствара контактом са пљувачком и крви. Због тога је битно избећи контаминацију амалгама влагом. Сребро и жива, ослобођени из амалгама, инхибирају ензиме интеракцијом са њиховим сулфхидрилним групама. Тако настаје оштећење ћелија гингиве и пулпе, посебно фибробласта и одонтобласта (50). Применом најновијих адхезива за амалгам (*Amalgambond Plus, Parkell, USA*) редукују се недостаци настали димензионалним променама материјала.

1.2.5. Цинк-фосфатни цемент

Цинк-фосфатни цемент (CFC) представља један од материјала који се дуго користи у стоматолошкој пракси, као заштитна подлога и средство за цементирање фиксних протетских надокнада. Дугогодишња примена овог цемента у рестауративној стоматологији чини га „типичним цементом“ са чијим се особинама упоређују особине скоро свих цементних материјала.

Цинк-фосфатни цемент добија се мешањем праха и течности. Основни састојак цементног праха је калцинисани ZnO (75-99 мас%), док је главни модификатор MgO (7-13 мас%), са додацима као што су бизмут и силицијум оксиди. Цементна течност се углавном састоји од 37 % орто-фосфорне киселине (H₃PO₄), воде и алуминијум фосфата. Цинк има стимулаторни пролиферативни ефекат на остеобластне ћелије *in vitro* и инхибиторни ефекат на формирање ћелија сличних остеокластима (52). Познато је да биоматеријали који садрже калцијум фосфат дају добре ткивне одговоре.

Вредност рН цинк-фосфатног цемента је највећа у почетку мешања праха и течности, и тада износи 3.5, док рН вредност након седам дана износи 6.9. У току везивања цемента, долази до претварања цинк оксида у цинк фосфат уз ослобађање топлоте. Укупно везивање цемента зависи од интензитета мешања и брзине додавања праха у течност. Квалитетно везивање цемента у кавитету зависи од сувоће радног поља. Присуство влаге може да прекине везивање цинк-фосфатног цемента. Овај цемент има високи степен растворљивости што му је и главни недостатак. Растварање цемента доводи до дезинтеграције материјала и тиме се редукује његова заштитна улога.

Цинк-фосфатни цемент се користи за трајно цементирање круница и мостова и као подлога. Даје добру топлотну изолацију па се зато и користи испод амалгамских испуна. (Слика 8.)



Слика 8. Цинк-фосфатни цемент (Cegal B, Galenika, Србија) (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

1.2.6. Цинк-поликарбоксилатни цемент

Цинк-поликарбоксилатни цемент (CPC) спада у релативно нове синтетске биоматеријале за денталне испуне. Припада групи адхезивних цемената. Код овог цемента су модификована адхезивна својства и биокompatibilност стварањем великих полиакрилних молекула који тешко продиру у дентинске каналиће. Цинк поликарбоксилатни цемент садржи цинк оксид (50-90 мас%), полиакрилну киселину (40-50 мас%) и воду (50-60 мас%). Остатак садржи оксиде магнезијума, алуминијума и цинк флуорид. Дуги ланци полиакрилне киселине се спајају међусобно помоћу атома цинка. Са

карбоксилним групама полиакрилне киселине цинк ствара поликарбоксилате. Карбоксилне групе реагују и са калцијум из глеђи и дентина при чему настаје полиакрилни калцијумов комплекс који обезбеђује адхезију цемента и зубног ткива (54).

Цинк-поликарбоксилатни цемент се слабо раствара у води, али је контракција током везивања четири пута већа него код цинк-фосфатног цемента (53, 54). Дебљина слоја овог цемента је између 10 и 15 μm , што је далеко мање него код цинк-фосфатног цемента. Како овај цемент има мали модул еластичности он се може применити за цементирање круница само у подручјима мањег оклузалног оптерећења. (Слика 9.)



Слика 9. Цинк-поликарбоксилатни цемент (Hoffman, Harward, USA) (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

1.2.7. Глас-јономери

Глас-јономери представљају продукте ацидо-базне реакције праха на бази флуор-алумино-силикатног стакла и полиакрилне киселине. Глас-јономери су млађа група материјала за денталне испуне, које карактеришу добра адхезивна својства, хемијско везивање за чврста зубна ткива, каријес-протективни ефекат, биокомпатибилност и једноставно руковање. Willson их је усавршио 1969. године, а у стоматолошку праксу их уводи Mc Linn. Глас-јономери остварују дуготрајну хемијску везу са глеђи и дентином. Имају висок степен биокомпатибилности и отпуштају јоне флуорида који се могу додатно апсорбовати у структуру зуба. Модерни глас јономери представљају вискозне материјале који се користе у атрауматским рестауративним третманима. Уколико су модификовани смолом, глас-јономери поседују већу чврстину у односу на конвенционалне форме глас-јономера.

Глас-јономери се класификују према начину примене на:

Тип I – за цементирање фиксних протетских надокнада (круница и мостова) и ендодонтску употребу (за дефинитивну обтурацију коренских канала)

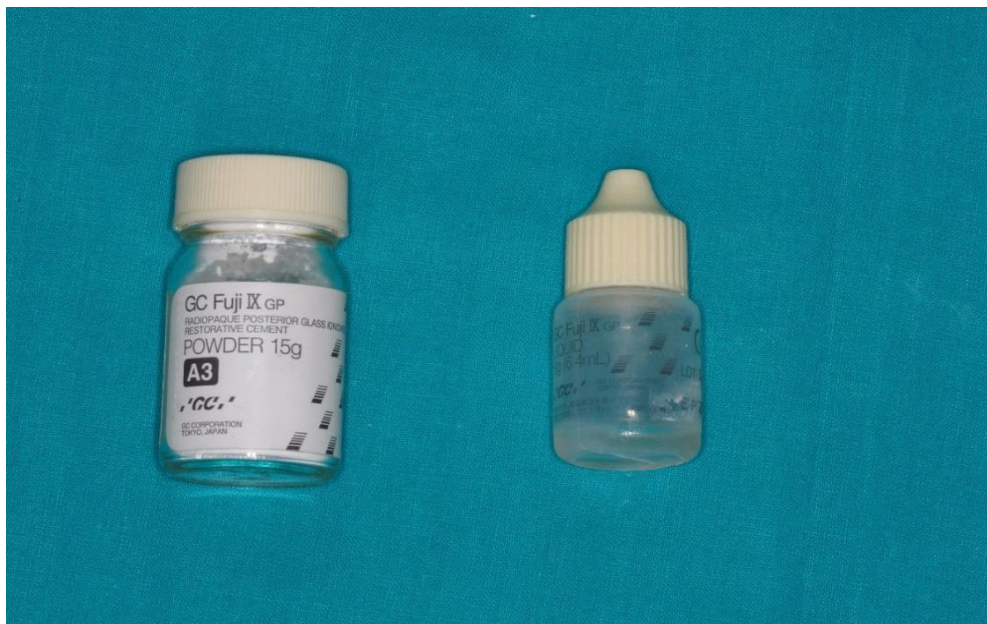
Тип II – за испуне, „смолом модификовани“ и „металом ојачани“

Тип III – за подлоге, за превентивно заливање фисура и конзервативну санацију оштећених вратова зуба

У саставу најчешће имају 50%-тни водени раствор полиакрилне, итаконске или винске киселине. Процес активације праха GJC започиње деловање киселине на површини честица стакленог праха. Ослобађају се јони алуминијума и калцијума и формира се силицијумски хидрогел. Са глеђи и дентином, GJC стварају ковалентне везе реакцијом карбоксилних група полиакрилне киселине са калцијумовим јонима са површине глеђи (55). Карбоксилне групе реагују и са колагеном дентина.

У рестауративној стоматологији заштита комплекса дентин-пулпа се састоји у наношењу једног или више слојева специфичних материјала (лакова, производа на бази калцијум хидроксида, GJC и адхезивних система) између рестауративног материјала и зубног ткива како би се избегла додатна оштећења пулпног ткива која могу настати оперативним поступцима, токсичношћу рестауративних материјала или продирањем бактерија услед стварања микропукотине (56).

Слика 10. Глас-јономер цемент (Fuji Plus, Green Circle, USA) (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)



Основне предности глас јономера су добра адхезија, каријес-протективни ефекат, коефицијенти термичке експанзије и контракције који су приближни вредностима тврдих зубних ткива и свакако, биокompatibilност (Слика 10).

1.3. ПРОИНФЛАМАТОРНИ ЦИТОКИНИ КАО БИОМАРКЕРИ

1.3.1. Цитокини као биомаркери запаљења

Цитокини су протеини мале молекулске масе који индукују имунски одговор и учествују у њему било позитивним или негативним регулаторним механизмом. Синтетишу их имунокомпетентне ћелије у одговору на бактеријску инфекцију. По хемијском саставу су полипептиди или гликопептиди молекуларне масе од 6-70 kDa, а делују преко специфичних рецептора у циљаној ћелији активирањем сигналних путева који доводе до фенотипских и функционалних промена у ћелији. Цитокини се продукују у малим концентрацијама али имају значајне регулаторне ефекте у процесу запаљења. Ефекторске

функције ових протеина су активација и диференцијација ћелије, хемотакса и пролиферација ћелија. Активност цитокина зависи од њихове концентрације у микроколини и степена експресије специфичних цитокинских рецептора на површини циљане ћелије.

Антиген специфична активација лимфоцита и других имунокомпетентних ћелија у ткиву на које делују микроорганизми и други агенси укључује велики број цитокина који остварују комплексне функције у регулацији имунског одговора ткива.

У току инфламаторног процеса на пулпи при развоју каријеса или дејства компонената денталних композитних испуна, синтетишу се многобројни цитокини кроз сложене механизме и интеракције одонтобласта, макрофага, дендритских ћелија, Т хелпер ћелија и неутрофила пулпе и околних ткива зуба. Резултат ових догађаја је повећање продукције различитих проинфламаторних цитокина у гингивалној цревикуларној течности (GCF). Одређивање концентрација ових цитокина у GCF може имати значајну дијагностичку и прогностичку вредност, у процесима на пулпи, пре и после рестаурације зуба јер су цитокини значајни биомаркери запаљења и учесници у процесима репарације (57).

1.4. ЦИТОКИНИ ИНФЛАМАЦИЈСКОГ ПРОЦЕСА ПУЛПЕ

Интерлеукин 1 (IL-1) је назив за два различита протеина, IL-1 α и IL-1 β , који се везују за исти ћелијски рецептор. IL-1 α након везивања за рецептор и трансдукције сигнала унутар ћелије активира нуклеарни транскрипциони фактор (NF- κ B) и активатор протеина (AP-1), и на тај начин промовише експресију гена укључених за преживљавање ћелија, пролиферацију и ангиогенезу (58). Овај интерлеукин индукује синтезу TNF- α и IL-6 и има фундаменталну улогу у антитуморској активности макрофага. Синтетишу га макрофаги, фибробласти, ендотелне ћелије, кератиноцити, дендритске ћелије, активирани Т и Б лимфоцити. Активацијом Т хелпер лимфоцита индукује синтезу IL-2. Његова улога у инфламацијским механизмима у пулпи се још истражује. Студијама на анималним моделима је показано да IL-1 α стимулише деградацију колагена у пулпи активацијом генске експресије металопротеиназа у фибробластима пулпе (59). У експерименталним моделима пулпитиса је показан пораст IL-1 α у GCF (59).

Интерлеукин 2 (IL-2) је откривен 1976. године као фактор раста Т лимфоцита. IL-2 је гликопротеин неопходан у развоју CD4+CD25+Т регулаторних лимфоцита које супримирају аутореактивне Т лимфоците и спречавају развој аутоимунске реакције. У одсуству IL-2 Т регулаторни лимфоцити не могу да опстану. Ради се о плејотропном цитокину који се примарно ствара у одговору Th1 на антигенску или митогенску стимулацију. Стимулише пролиферацију тимоцита, пролиферацију и диференцијацију В лимфоцита, индукује раст и цитотоксичност ћелија урођених убица (NK), њихову цитолитичку активност и стварање цитокина. Уједно индукује синтезу IFN- γ и TNF- α (60).

Интерлеукин 6 (IL-6) заузима значајно место у регулацији имунског одговора, реакцији одговора акутног фазног одговора запаљења и хематопоези. Синтетишу га многе имунске и неимунске ћелије. Своје биолошке функције остварује преко два рецепторна молекула: IL-6R рецептора (gp80, CD126) и gp130. Повећање концентрација IL-6 је повезано са инфламацијом, аутоимунским обољењима и туморима. IL-6 продукују Т и В лимфоцита, моноцити, фибробласти, кератиноцити, ендотелне ћелије, мезенгијалне ћелије, адипоцити

и неке туморске ћелије. IL-6 стимулише Th лимфоците, а инхибира продукцију IL-2 и индукцију T регулаторних лимфоцита (61).

Интерлеукин 4 (IL-4) је фактор раста В лимфоцитна. Примарно га стварају активирани Т лимфоцити и то, лимфоцити (Th2), базофили и мастоцити, моноцити и макрофаги, неутрофили, лимфоцити В и стромалне ћелије костне сржи (62). IL-4 подржава хуморални имунски одговор регулацијом диференцијације прекурсора субпопулације лимфоцита T4 имунокомпетентних Т лимфоцита у правцу у тип два 2 (Th2), који одређује одговорних за хуморалну имуност. Такође учествује у диференцијацији и расту В лимфоцита, као и сазревању дендритичних ћелија. *In vitro* инхибира активацију лимфоцита Th1 и утиче на смањење продукције IL-1, TNF- α , IL-6 и IL-8 (62).

Интерлеукин 10 (IL-10) је плејотропни цитокин који има имуносупресивни или имуностимулативни ефекат на различите типове ћелија. Хумани IL-10 може инхибирати синтезу цитокина у моноклеарним ћелијама периферне крви. Највише га синтетишу хумани лимфоцити (Th 0 и Th 2), моноцити и макрофаги. Верује се да има важну функцију у супресији имунског одговора и може бити укључен у одржавање имунске толеранције. Блокира активацију синтезе цитокина у Th1 лимфоцитима, активираним моноцитима и NK ћелијама. Антагонизује IFN- γ и инхибира стварање неколико цитокина, укључујући IL-1, TNF- α , IL-6 и IL-8 (63).

IFN- γ (интерферон гама) утиче на регулацију ћелијских функција као што је фагоцитоза и директно појачава покретљивост и цитотоксичност лимфоцита. Стварају га NK ћелије и активирани лимфоцити Th1 у одговору на IL-12 и IL-18. Има важну улогу у контроли бактеријских, вирусних и паразитних инфекција. Представља најважнији проинфламацијски цитокин одговоран за активацију и регулисање функције моноклеарних ћелија (64). Регулише стварање неколико имуномодулацијских и проинфламацијских цитокина као што су IL-12 и TNF- α (65).

TNF- α (фактор некрозе тумора) продукују макрофаги, фибробласти, моноцити, Т и В лимфоцити. Најбоље је проучена његова проинфламаторна функција. Он стимулише продукцију следећих цитокина: IL-1, IL-6, IL-8 и др. (65).

IL-12 (интерлеукин 12) производе дендритске ћелије, макрофаги и В-лимфобластоидне ћелије. IL-12, *in vivo* делује примарно кроз три фазе током адаптивног имунског одговора на инфекцију: у раној фази индукује производњу IFN- γ стимулацијом NK ћелија, што подстиче активацију фагоцита, у другој фази фаворизује синтезу IFN- γ и тако диференцијацију Th0 у Th1, а у последњој фази доприноси оптималној продукцији IFN- γ и пролиферацији диференцираних Th1 ћелија у одговору на антиген. Тако IL-12 представља функционални мост између раног урођеног одговора и антиген-специфичне адаптивне имуности (66,67).

Интерлеукин 5 (IL-5) продукују мастоцити и Th2. IL-5 је у сарадњи са IL-4 неопходна за стимулацију еозинофила, али учествује и у активацији В лимфоцита (68).

Интерлеукин 13 (IL-13) продукују Th2 ћелије и има сличну улогу као IL-4. Учествује у инфламацији и алергијским реакцијама активацијом имунских ћелија и стимулацијом производње имуноглобулина, као и активацијом синтезе металопроотеиназа у макрофагима (69).

Интерлеукин 9 (IL-9) је медијатор који има утицај на бројне функције различитих типова ћелија. Производе га Т лимфоцити, IL-9 индукује значајан биолошки одговор мастоцита, хематопоетских прогениторских ћелија, епителних ћелија, антиген презентујућих ћелија, В и Т-лимфоцита (70). IL-9 је фактор раста мастоцита и битан је за њихово преживљавање, производњу IL-6 и протеаза као и експресију рецептора за IgE. У комбинацији са IL-5, IL-9 индукује сазревање и активацију еозинофила током алергијских запаљења. IL-9 заједно са IL-5 и IL-13 координише контролу епителних баријера (70).

Интерлеукин 17 (IL-17) Пронађене су бројне имуно-регулаторне функције за цитокине **IL-17 фамилије** које су резултат њихове способности да индукују многе сигналне молекуле у имунским процесима. IL-17 има значајну улогу у подстицању и посредовању проинфламацијских одговора, а. индукује и синтезу многих других цитокина (IL-6, IL-1 β , TGF- β , TNF- α). IL-17 (интерлеукин-17) је укључен у процес деструкције алвеоларне кости током периодонтитиса, а његова концентрација је повећана у инфламацијским процесима гингиве и пулпе што се може регистровати и у GCF (71).

Интерлеукин 22 (IL-22) је члан групе цитокина IL-10 фамилије. Продукују га активирани дендритске ћелије али и Th 17 лимфоцити. Овај цитокин индукује урођени имунски одговор против бактеријских патогена, посебно у епителним ћелијама као што су респираторне и гастроинтестиналне епителне ћелије. Сматра се да има улогу координатора урођеног и адаптивног имунског система (72).

Анализа гингивалне течности омогућава и неинвазивно проучавање општег одговора пацијента на локалне промене у усној дупљи. Промене у саставу GCF су значајни индикатори инфламаторних промена у гингиви и денталној пулпи (13).

Истраживања у којима је проучаван ефекат инфекције гингиве и пулпе, изазване *Streptococcus mutans*-ом, на концентрације цитокина у GCF показују да долази до појачане продукције Th1 цитокина: IFN- и IL-2, IL-12 и TNF- α (13). У другој линији инфламацијски одговор се продубљује повећаном синтезом цитокина Th2: IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13 (73). Код површних каријеса је нађена продукција цитокина Th1 типа, док је у дубоким каријесним лезијама нађено и смањење IFN- γ (73).

Студијом која је обухватила 90 особа старости од 18-70 година са апроксималним каријесом фронталних и бочних зуба, показано је да се концентрације цитокина IL-9 у GCF могу користити као индикатори за реакцију одонтобласта (70). Врста денталних испуна може да промени биолошку функцију ћелија гингиве и пулпе тако да поједини композитни материјали за испуне могу да убрзају санирање модулацијом активности макрофага (74). У овој студији уочена је корелација тежина зубних испуна са тенденцијом опадања вредности IL-9 (70). То је значило да је веће оштећење зуба, са зубним испуном тежим од 1,00 g праћено мањом концентрацијом IL-9 у GCF. Вредности IL-9 биле су у корелацији са степеном гингвалног индекса и дубином гингивалног сулкуса, поготово у акутној фази гингивитиса, посебно код широко екстендираних кавитета, насталих након обраде каријесне лезије. Различити испуни изазивали су различите локалне продукције IL-9. Цинк-поликарбонатни цемент и амалгамски испуни изазвали су значајан и дуготрајан пад концентрација IL-9, док је примена ТЕС утицала на знатно повећање IL-9.

Значајно високе концентрације IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α и IFN- γ су пронађене у иреверзибилно инфламираној пулпи, у склопу хроничног каријеса у поређењу са нивоима ових цитокина у здравој пулпи. Такође је нађено да је однос IL-6/IL-10 значајно већи код

преверзибилног пулпитиса (74). Налазима новијих студија сугерише се да би активност IL-10 могла да ограничи ширење инфламације пулпе која је иницијално ограничена на границу дентина и пулпе код раних каријесних лезија дентина (75). TNF- α стимулише деградацију пулпе стимулацијом комплекса ензима металопроотеиназа у фибробластима пулпе.

Компоненте дентина које су настале дејством каријесних бактерија у процесу деминерализације, додатно доприносе порасту нивоа цитокина у гингивалној течности. У току деминерализације, значајну улогу у фаворизовању одговора на ток репарације имају одонтобласти (13).

Санација дубоких каријесних лезија подразумева апликацију материјала за стимулацију реактивне дентиногенезе, као што су Ca(OH)₂ и минерал триоксид агрегат (МТА). Ове компоненте омогућавају стварање терцијарног дентина, у облику дентинског моста, испод места примене. Утицај калцијум хидроксида на механизам репараторне дентиногенезе и поред истраживања већ 60 година, је контроверзан. Корисни ефекти калцијум хидроксида на репарацију дентина приписују се локалном ослобађању хидроксилних јона који подижу рН ткива што доводи до ћелијске некрозе (76). Локална ћелијска некроза може изазвати запаљење које убрзава процес репарације. Овај акутни имунски одговор у комбинацији са продукцијом фактора раста и сигналних молекула из дентина може касније генерисати повољно окружење за репараторну дентиногенезу (76). Осим тога, примећено је да МТА може повећати ослобађање цитокина, укључујући IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6 и IL-8, из одонтобласта, а овај инфламацијски одговор изазван апликацијом тог материјала, такође може допринети клиничкој репарацији (76).

Примена калцијум хидроксида на зубну пулпу пацова показала је повећање нивоа IL-6 (76). Данас се практикује једносеансно лечење дубоких каријесних лезија, где се као субподлоге у најдубљим деловима кавитета апликују поменути материјали, уз обавезну контролу виталитета денталне пулпе тридесетог и шездесетог дана од завршене интервенције. Инфламацијски цитокини, као што су IL-1 β , IL-6 и TNF- α , присутни су у ниским концентрацијама и у клинички здравим гингивалним ткивима. То значи да су цитокини укључени у нормалну хомеостазу ткива (13).

У воденом окружењу, дентални композити апсорбују воду и ослобађају слободне мономере. Ослобађање слободних, невезаних мономера из смоле композита може стимулисати раст бактерија око испуна. Они могу фаворизовати иницијацију гингивитиса, олакшавајући акумулацију плака и/или, за разлику од здравих зубних ткива, отпуштањем токсичних супстанци.

Према томе, може се закључити да се дентални испуни ипак понашају као страни објекти и стимулишу секрецију цитокина што покреће питање имунског одговора на хемијске компоненте.

1.5. ХИПОТЕЗЕ И ЦИЉЕВИ СТУДИЈЕ

1.5.1. Радне хипотезе

- Полазећи од радне хипотезе, степен захваћености ткива каријесом значајно утиче на вредности цитокина у гингивалној течности. У узорцима гингивалне течности испитаника са пулпитисом (КП) значајно су повећане вредности проинфламаторних и Th1 цитокина, у односу на узорке лечених зуба (KV) у којима постоји значајно повећање IL-10 и Th2 групе цитокина.

- Дентални материјали за привремену рестаурацију индукују већу продукцију цитокина у односу на материјале за трајне испуне.

1.5.2. Циљеви студије

- Свим испитиваним пацијентима одредити степен захваћености ткива каријесом и вредности индекса крварења (ИК), плак индекса (PI према Silness-Lou), гингивалног индекса (GI) и дубине гингивалног џепа (DGS).
- Упоредити вредности добијених цитокина из гингвалне течности према степену захваћености ткива каријесом.
- Упоредити вредности добијених цитокина из гингвалне течности према врсти примењеног денталног материјала за привремену или трајну рестаурацију.
- Упоредити вредности добијених цитокина из гингвалне течности са скором клиничких параметара (ИК, PI, GI, DGS).

2. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ

2.1. ВРСТА СТУДИЈЕ

Опсервациона кохортна проспективна аналитичка студија .

2.2 ПОПУЛАЦИЈА КОЈА СЕ ИСТРАЖУЈЕ

У студију ће бити укључено укупно 90 испитаника сврстаних у шест група према врсти испуна. Студијом ће бити праћене апроксималне локализације каријесних лезија на фронталним и бочним зубима. Апроксимална локализација каријеса подразумева лезије лоциране испод контактних тачака зуба, која се протежу до гингиве. Апроксималне лезије које су захватиле глеђ и дентин, а које су видљиве у линији осмеха, биће рестауриране материјалима Tetric Evo Ceram и Beautifill. Апроксималне каријесне лезије које су се развиле изван линије осмеха, биће рестауриране амалгамом. Цементима за привремену рестаурацију кавитета биће санирани зуби који су у одређеној фази ендодонтског лечења, а по чијем завршетку ће бити замењени одговарајућим материјалима за трајне испуне.

2.2.1. Врсте материјала за денталне испуне

- Амалгам (Etracap D caps, Galenika, Србија),
- Tetric Evo Ceram (Ivoclar, Vivadent, Лихенштајн),
- Beautifill (Shofu, Japan),
- Цинк-поликарбоксилатни цемент (Hoffman, Harward, USA),
- Цинк-фосфатни цемент (Cegal NV, Galenika, Србија),
- Глас-јономер цемент (Fuji Plus, Green Circle, USA).

Tetric Evo Ceram и *Beautifill* су нанохибридни композитни материјали за чије је везивање у кавитету неопходно додатно дејство ултравиолетне светлости. Друге врсте материјала које испитујемо се везују и очвршћују саме, по пласирању у претходно припремљен кавитет.

2.2.2. Критеријуми за избор врсте материјала:

Амалгам, Tetric Evo Ceram и Beautifill су дентални материјали који ће бити коришћени за дефинитивну рестаурацију каријесом оштећених зуба. Цинк- поликарбоксилатни цемент (Hoffman), цинк-фосфатни цемент, глас-јономер цемент су дентални материјали који ће бити коришћени за привремену рестаурацију каријесом оштећених зуба. Избор материјала за испуне, направљен је у односу на локацију каријесних апроксималних лезија у усној дупљи и честу употребу у клиничкој пракси.

Студијом ће се пратити апроксималне локализације каријесних лезија на фронталним и бочним зубима. Апроксималне лезије које су захватиле глеђ и дентин, а које су видљиве у линији осмеха, од зуба 13-23 у горњој вилици и зуба 33-43 у доњој вилици биће рестауриране материјалима Tetric Evo Ceram и Beautifill. (Слика 11).



Слика 11. *Beautifill (Shofu, Japan)* (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

Апроксималне каријесне лезије које су се развиле изван линије осмеха, у регијама дистално од поменутих, биће рестауриране амалгамом. Привремени испуни биће пласирани код зуба код којих је лечење канала коренова у току као и код зуба где је због тренутног крварења из интерденталне гингиве било немогуће пласирати дефинитивни испун.

Критеријуми за укључење у студију:

- постављена дијагноза апроксималног каријеса на фронталним и бочним зубима
- одсуство свежих постекстрационих или трауматских рана у области рестаурације
- одсуство клиничких знакова инфекције у области површина за рестаурацију и мотивисаност, кооперативност и задовољавајући ниво оралне хигијена пацијента

Критеријуми за искључење:

- присуство инфекције ендодонтског или пародонталног порекла у области апроксималне или цервикалне регије зуба
- присуство изражених пародонталних џепова
- присуство испуна који проминирају изван кавитета
- пацијенти који су на радијационој, имуносупресивној терапији са тешким хроничним болестима
- пацијенти који у анамнези наводе проблеме са алкохолизмом, наркотицима
- пацијенти који пуше више од 20 цигарета дневно
- пацијенти са лошом оралном хигијеном, непоуздани за сарадњу.

2.2.3. Клинички параметри који ће бити праћени

Степен оштећења зубног ткива изражаваће се индиректно, тежином материјала за испуне која би непосредно пре уношења у кавитет била измерени на лабораторијској ваги SARTORIUS MECHANOTRONICS 1204 MP (*Sartorius AG, Germany*) .

Степен оштећења зубног ткива каријесом, био би изражен клиничким описом:

- КII - захваћени глеђ и дентин,
- КIII – захваћени глеђ и дентин, са пулпитисом,
- КIV – захваћени глеђ и дентин, са гангреном,
- КV - захваћени глеђ и дентин, где је раније излечен коренски канал.

Стање потпорног апарата зуба, описали би пародонтални индекси:

- индекс крварења (ИК, скорирани од 0-3),
- плак индекс (PI скорирани по Silness-Lou, 0-3),
- гингивални индекс (GI, скорирани од 0-3),
- дубина гингивалног џепа (DGS, скорирани од 0-3).

За процену нивоа оралне хигијене и стања пародонцијума уз помоћ градуисане пародонталне сонде, одређени су клинички параметри: плак индекс (PI), индекс крварења (ИК), гингивални индекс (GI) и дубина гингивалног сулкуса (DGS). Плак индекс је добар за процену стања гингиве, гингивални индекс је показатељ за оралну хигијену и активност болести гингиве, док је индекс крварења гингиве најбољи индикатор за степен инфламације.

Плак индекс (Silness-Lou)

Плак индекс је показатељ постојања и дебљине денталног плака на гингивалним трећинама зуба.

Гингивални индекс

Гингивални индекс користи се за процену стања гингиве, којим се прати боја, оток и крварења гингиве. Помоћу њега се може утврдити корелација локалних етиолошких фактора и стања гингиве.

Индекс крварења гингиве

Индекс крварења гингиве одређује присуство крварења гингиве приликом сондирања. У корелацији је са гингивалним индексом.

Гингивални сулкус

Гингивални сулкус је плитак жлеб смештен између унутрашње површине слободне гингиве и врата зуба. Простире се од ивице гингиве до коронарног краја припојног епитела. Просечна дубина гингивалног сулкуса је око 1,5 mm. (Слика 12). У њему се налази гингивална течност која чини трансудат серума. Садржај GCF чини: вода, протеини (70 g/l), електролити (Na, K, Ca, Mg, P), аминокиселине, ензими (кисела и алкална фосфатаза, катепсини, колагеназе и др.), целуларне компоненте (неутрогили, лимфоцити, моноцити, десквамоване епителне ћелије) и бактеријски продукти (ендотоксини и бактеријски ензими).



Слика 12. Мерење дубине гингивалног сулкуса, пародонтолошком градуисаном сондом (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

2.3. УЗОРКОВАЊЕ

2.3.1. Узорци гингивалне сулкусне течности

Узорци су узимани коришћењем филтер папир технике 24 сата након клиничког прегледа, како би се избегла контаминација узорка периферном крви, која може бити проузрокована микротраумом током прегледа. Место узимања је изоловано ватеролнама и посушено ваздухом. Након пажљивог уклањања супрагингивалног слоја биофилма, биће уметнут стерилни филтер папир (*Periopaper, ProFlow, Amityville, NY, USA*) у периодонтални сулкус (док се не осети благи отпор), где остаје 30 секунди. Филтер папир који је током ове процедуре контаминиран пљувачком или крвљу биће одбачени. Запремина течности на периопапиру квантификована је коришћењем периотрона (*Periotron 6000 device Interstate Drug Exchange, Amityville, NY, USA*). Папирни филтери су потом стављени у микро центрифугне епрувете које садрже 0,5 mL стерилног PBS пуфера, те инкубирани наредних

30 минута на собној температури. По уклањању филтер папира, епрувете су центрифугиране, супернатант пребачен у стерилне епрувете, које су чуване на $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ до тестирања. (Слика 13).



Слика 13. Узорковање гингивалне течности филтер – папир техником (*Periopaper, ProFlow, Amityville, NY, USA*) (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

2.3.2. Динамика узимања узорака

Узорци гингивалне сулкусне течности, су узети од сваког испитаника у три временска термина (нултог дана, пре постављања денталног испуна, седмог и тридесетог дана по постављању денталног испуна). (Слика 14).



Слика 14. Пласирање папирног поена у епрувету са физиолошким раствором (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

2.3.3. Одређивање концентрација цитокина у гингивалној сулкусној течности

Концентрације цитокина IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-22, IFN- γ и TNF- α су одређиване у сваком од узорака методом проточне цитофлуориметрије, коришћењем комерцијалног комплета за проточну цитометрију (кита) (*Flow Cytomix, Bender MedSystems, USA*) на проточном цитофлуориметру (*Beckman Coulter XL-MCL, USA*), који су повезан са *BMS Flow Cytomix Pro 2.2 Software*-ом. Концентрација цитокина изражена је у pg/mL. (Слика 15.)



Слика 15. Епрувета са узорком гингивалне сулкусне течности, припремљена за центрифугирање (слика из личне архиве Др Владимира Стефановића)

2.4.ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СЕ МЕРЕ У СТУДИЈИ

Независне варијабле: степен захваћености (оштећења) ткива каријесом, клинички параметри: индекс крварења (ИК), плак индекс (PI по Sillness-Lou), гингивални индекс (GI), дубина гингивалног сулкуса (DGS).

Зависне варијабле: концентрације цитокина гингивалне сулкусне течности, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-22, IFN- γ и TNF- α .

2.5. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Уз критеријуме да је очекивана снага ефекта 0,4 (око 40% разлике између испитиваних група), да је неопходна снага студије најмање 80%, а вероватноћа грешке првог типа 0,05 ($\alpha = 0,05$), применом анализе варијансе за предвиђених 6 група је утврђено да је укупан број испитаника 90, што значи да у свакој од испитиваних група требало да буде минимално по 15 испитаника.

2.6. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Поређења међу различитим групама апроксималних каријесних лезија на фронталним и бочним зубима, класификованих према степену оштећења зубног ткива (KII, KIII, KIV и KV), клиничких пародонтолошких индекса (PI, GI, IKG и DGS), врстама материјала за привремено затварање апроксималних кавитета (CFC, CPC и GJC), врстама материјала за

дефинитивну санацију апроксималних кавитета (АМА, ТЕС и ВЕА), као и тежине испуна пре уношења у апроксималне кавитете, су вршена применом непараметарског ANOVA (analysis of variance) теста. Разлике су сматране статистички значајним уколико је $p < 0,05$. За процену статистичке повезаности међу различитим параметрима коришћен је Пирсонов (*Pearson*) тест корелације. Резултати су представљени као средња вредност и \pm стандардна девијација. Сви статистички прорачуни урађени су коришћењем софтвера *Graph Pad Prism* (89).

3. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

3.1 УТИЦАЈ СТЕПЕНА ЗАХВАЋЕНОСТИ ЗУБНОГ ТКИВА КАРИЈЕСОМ НА PI, IKG, GI И DGS

Испитаници ($n=90$) су подељени у 4 групе према степену оштећења зубног ткива на: КII (66,26%), КIII (14,45%), КIV (7,22%) и KV (12,05%).

Плак индекс скор 1 је највише заступљен у KV групи, док сличну дистрибуцију има у КII, КIII и КIV групи. PI скор 2, најчесталији је у КII и КIV групи и нема статистички значајне разлике. Индекс гингивалног крварења показује највеће вредности, између 1 и 2 у групи КIV, док се у групама КII, КIII и KV вредности овог скорa крећу око 1.

Гингивални индекс је ближи скору 2 у групама КIII и КIV, док се ниже вредности скорa налазе у КII и KV групама.

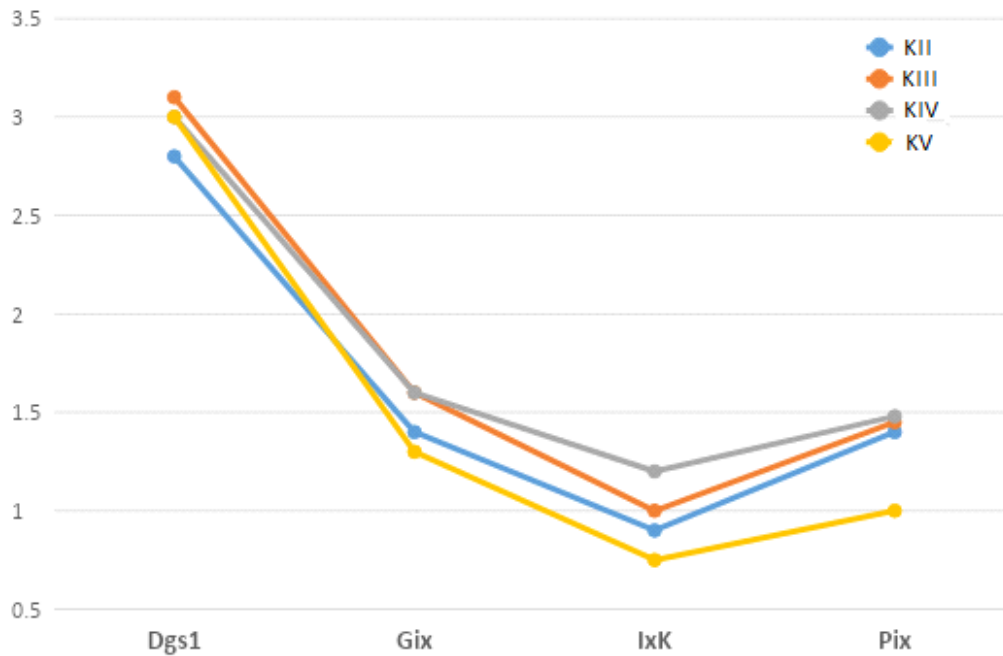
Скорови дубине гингивалног сулкуса највеће вредности (5) имају у лезијама група КIII и КIV, а најниже у групи КII.

Табела 3.1.1

Степен захваћености ткива каријесом у односу на плак индекс (PI), индекс крварења (IK), гингивални индекс (GI) и дубину гингивалног сулкуса (DGS)

КЛИНИЧКИ ПАРАМЕТРИ		СТЕПЕН ОШТЕЋЕЊА ЗУБНОГ ТКИВА			
		KII	KIII	KIV	KV
PI	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	1	32 ± 17	6 ± 2	3 ± 1	10 ± 9
	2	21 ± 7	5 ± 5	2 ± 1	0 ± 0
	3	2 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0
IK	0	27 ± 16	5 ± 3	1 ± 0	8 ± 6
	1	14 ± 9	2 ± 0	3 ± 1	4 ± 2
	2	20 ± 11	2 ± 0	2 ± 1	2 ± 1
	3	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
GI	0	5 ± 3	0 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
	1	32 ± 19	5 ± 5	0 ± 0	8 ± 5
	2	28 ± 10	3 ± 1	5 ± 2	6 ± 3
	3	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
DGS	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2	12 ± 9	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	3	37 ± 19	10 ± 7	6 ± 4	10 ± 6

Графикон 3.1.1.



Утицај степена оштећења зубног ткива на плак индекс (PI), индекс крварења (IKG), гингивални индекс (GI) и дубину гингивалног сулкуса (DGS)

Резултати анализе варијансе аритметичких средина степена оштећења зубног ткива, у поређењу са PI, IKG, GI и DGS. На основу F-односа и његове значајности (P) указују на присутну статистички значајну разлику захваћености зубног ткива каријесом и свих наведених пародонтолошких параметара презентованих на графикону 3.1.1.

3.2 ПОВЕЗАНОСТ СТЕПЕНА ОШТЕЋЕЊА ЗУБНОГ ТКИВА И ВРЕДНОСТИ ЦИТОКИНА У GCF

Вредности цитокина у гингивалној сулкусној течности одређивне су методом проточне цитофлуориметрије у узорцима 90 испитаника у односу на степен оштећења зуба каријесом. Узорковање је рађено на дан првог прегледа (нултог дана пре рестауративне процедуре), седмог и тридесетог дана (након завршене рестаурације привременим или дефинитивним композитним материјалом).

У табели 3.2.1. приказана су просечне вредности цитокина измерених у узорцима GCF, нултог дана, пре рестауративне процедуре ($\bar{x} \pm SD$, pg/mL).

Табела 3.2.1

КАРИЈЕС 0 дан	KII	KIII	KIV	KV
IL2	5 ± 5	7 ± 7	4 ± 2	6 ± 5
IL12	7 ± 7	7 ± 8	5 ± 2	10 ± 5

IFNγ	1\pm 3	4 \pm 7	0 \pm 0	3\pm 4
IL17	1\pm 2	3 \pm 3	1\pm 1	2\pm 2
IL4	33\pm 54	59\pm 56	4\pm 3	32\pm 32
IL5	21\pm 27	27\pm 34	16 \pm 17	41\pm 41
IL6	4\pm 12	4\pm 4	2\pm 3	3\pm 3
IL10	4\pm 7	6\pm 7	4\pm 2	8\pm 5
IL9	37\pm 57	98\pm109	174\pm 54	30\pm 52
IL13	58\pm 76	67\pm 77	18\pm 16	113\pm 58
IL22	71\pm 114	45\pm 33	24\pm 27	154\pm118
IL1β	80\pm 91	98\pm 89	66\pm 75	127\pm 92
TNFα	25\pm 36	15\pm 23	6\pm 5	37\pm 37

Просечне вредности цитокина измерених у узорцима GCF нултог дана

Пре конзервативне санације, у узорцима GCF у групи испитаника KIII детектовали смо највеће просечне вредности IL-2, IFN- γ и IL-4. У узорцима GCF испитаника KIV групе детектовали смо највеће просечне вредности IL-9. У узорцима GCF испитаника са KV степеном каријеса детектовали смо највеће просечне вредности IL-12, IL-5, IL-10, IL-13, IL-22, IL-1 β и TNF- α .

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечне вредности IL-2 биле су највеће у KIII и KV групама.

Седам дана након поставе испуна, просечне вредности IL-2 биле су највеће у групи KV, значајно веће од вредности у групама KII и KIV.

Тридесет дана након поставе испуна, просечне вредности IL-2 биле су највеће у групама KV и KIII, без значајних међусобних разлика (графикон 3.2.1). Просечне вредности IL-12 биле су највеће у KIV и KV групама 0 дана. Седам дана након поставе испуна, просечне вредности IL-12 биле су највеће у групама KIII и KV, веће од вредности у групама KIV и KV. Тридесет дана након поставе испуна, просечне вредности IL-12 биле су највеће у групама KIV и KV, а нешто ниже вредности имале су групе KII и KIII. Детектована је значајна разлика у нивоима IL-12 између група KII и KV, као и између група узорака KIV и KV, нултог и седмог дана након поставе испуна. У првом временском термину (0 дан, пре терапије), просечне вредности IFN - γ биле су највеће у KIII и KV групи, а значајно мање у осталим групама.

Просечне вредности IFN- γ , седмог дана након поставе испуна су биле значајно веће у групи KV у односу на групе KII и KIV.

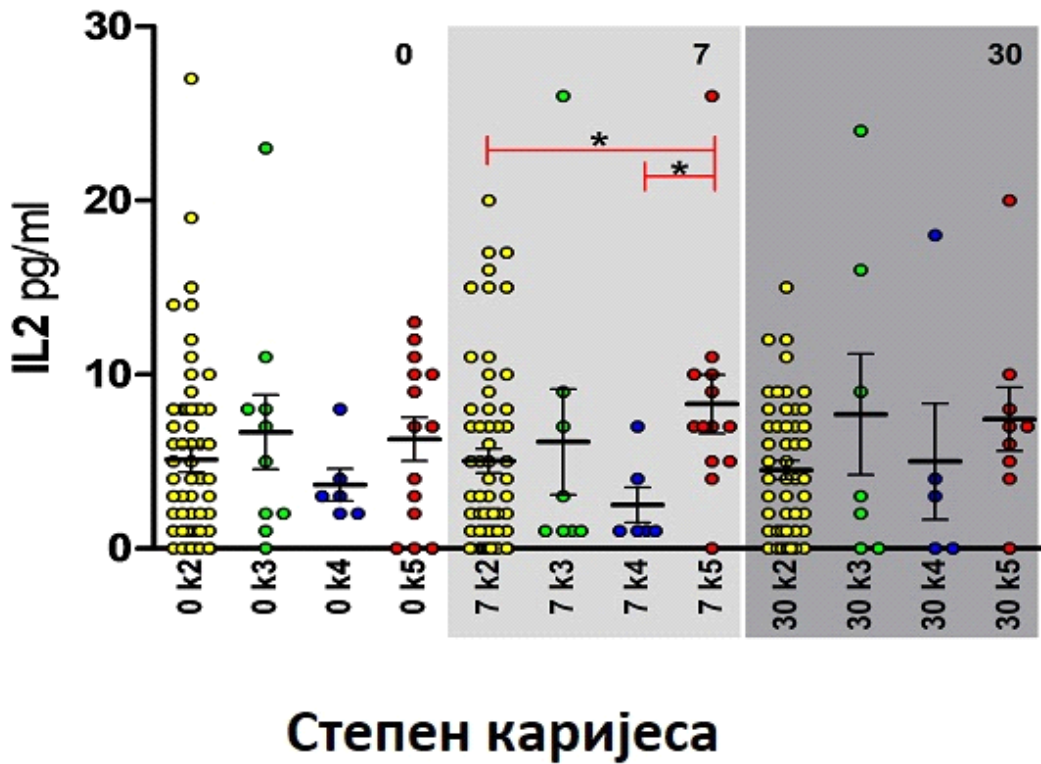
Тридесет дана након поставе испуна, просечна вредност IFN- γ била је највећа у групи KIII. KV група, имала је исту вредност, као и група KIV.

Просечне вредности IL-17 седмог дана након поставе испуна су биле значајно веће у групи KV у односу на групу KII и KIV. Нултог дана, просечне вредности IL-4 биле су значајно ниже у групи KIV у односу на групе KIII и KV. Седмог дана након поставе испуна, у узорцима GCF, регистроване су значајне разлике у вредностима IL-4, међу групама KII и KIII, KIII и KIV, KIV и KV, посебно међу групама KII и KV. Тридесетог дана након поставе испуна, детектована је значајна разлика између група KIV и KV и међу групама узорака KII и KV. Нултог дана утврђена је значајна разлика у GCF вредностима IL-5 међу групама

узорака KII и KV. Седмог дана, регистроване су значајне разлике међу групама KIV и KV и међу групама KII и KV. Тридесетог након поставе испуна, међу групама узорака KII и KV, поново се уочава статистички значајна разлика. Значајне разлике у концентрацијама IL-6 регистроване су седмог дана након поставе испуна, међу групама узорака KIV и KV, као и међу групама KII и KV. Седмог дана након поставе испуна, ниво IL-10, међу групама KII и KV, као и међу групама узорака KIV и KV, показао је статистички значајну разлику. Тридесетог дана, поменута статистичка разлика је присутна међу истим групама узорака, али је нешто нижа. Нултог дана су утврђене значајне разлике међу групама узорака KIV/KV, KIII/KV, KII/KIV и KII/KIII. Седмог дана, уз претходне значајне разлике утврдили смо и значајно повећање IL-9 у KII у односу на KV. Тридесетог дана, остају разлике у вредностима IL-9 међу групама KIV/KV, KIII/KV и KII/KIV.

Значајне разлике међу групама KII/KV регистроване су нултог, седмог и тридесетог дана испитивања, а разлике међу групама узорака у групама KIV и KV, само нултог и тридесетог дана. Значајне разлике у вредностима IL-22 у GCF евидентирани су међу групама узорака KII/KV и KIV/KV током сва три термина испитивања. Разлике међу групама узорака KIII/ KV евидентирани су нултог и седмог дана.

Значајне разлике у вредностима IL-1 β детектовали смо између KII/KV група у свим терминима. Пре испуна, значајне су биле разлике између KIV/KV група. Седам дана после испуна, значајно су се разликовале групе KIII/KV, а тридесет дана након испуна, групе KII/KIII. Нултог дана регистрована је значајна разлика у вредностима TNF- α међу групама



KIV/KV, седмог дана испитивања међу групама KII/KV, а тридесетог дана је поред присутне разлике међу групама KII/KV, уочена и значајна разлика међу групама KIV/KV.

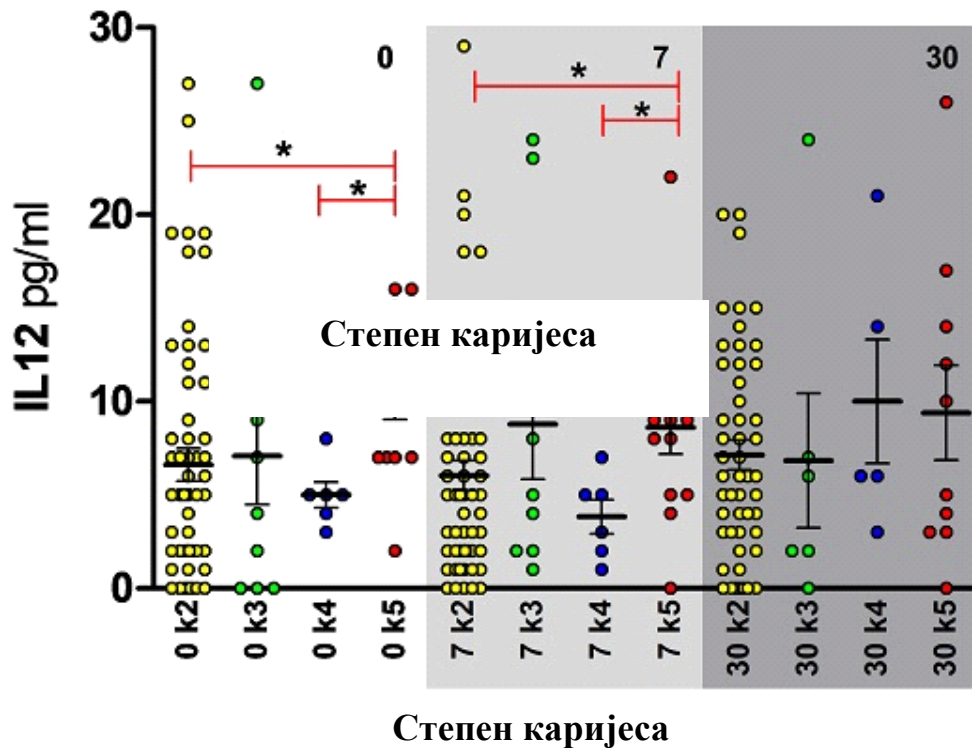
Графикон 3.2.1.

Вредности IL-2 у односу на степен каријеса и дан узорковања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечне вредности IL-2 биле су највеће међу групама KIII и KV. Седам дана након поставе испуна, просечне вредности IL-2 биле су највеће у групи KV, значајно веће од вредности у групама KII и KIV. Тридесет дана након поставе испуна, просечне вредности IL-2 биле су највеће међу групама KV и KIII, без значајних статистичких разлика.

У узорку GCF седмог дана након поставе испуна, уочава се значајна разлика у просечним вредностима IL-2 између група KII и KV, као и између група KIV и KV.

Графикон 3.2.2.

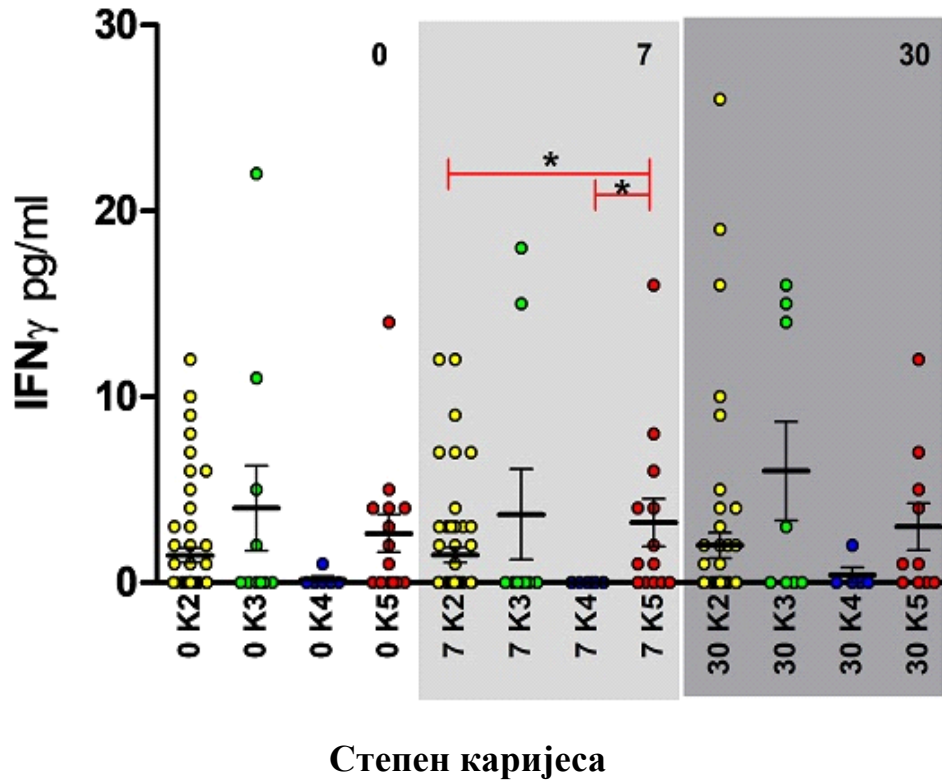


Вредности IL-12 у односу на степен каријеса и дан узорковања

У првом временском термину (0 дан, пре терапије), просечне вредности IL-12 биле су највеће у KIV и KV групама. Седам дана након поставе испуна, просечне вредности IL-12 биле су највеће у групама KIII и KV, веће од вредности у групама KIV и KV. Тридесет дана након поставе испуна, просечне вредности IL-12 биле су највеће у групама KIV и KV, а нешто ниже вредности имале су групе KII и KIII.

Детектована је значајна разлика у нивоима IL-12 између група KII и KV, као и између група узорака KIV и KV, нултог и седмог дана након поставе испуна.

Графикон 3.2.3.

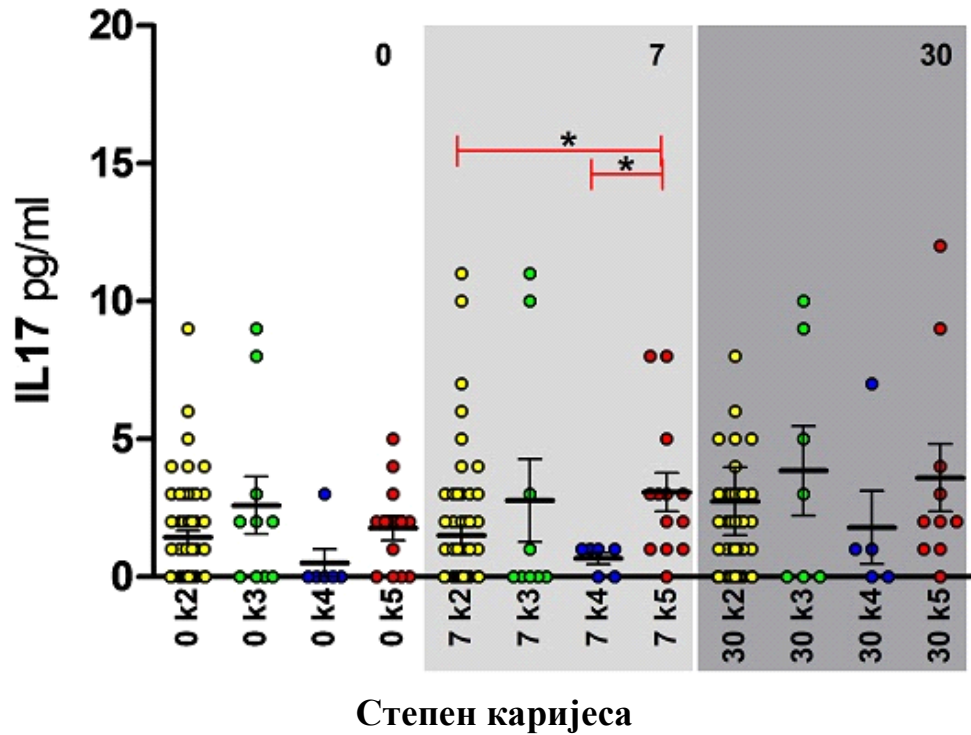


Вредности IFN- γ у односу на степен каријеса и дан узорковања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечне вредности IFN- γ биле су највеће у KII и KV групи, а значајно мање у осталим групама. Седам дана након поставе испуне, просечне вредности IFN- γ остале су исте у свим групама. Тридесет дана након поставе испуна, просечна вредност IFN- γ била је највећа у групи KII. KV група, имала је исту вредност, као и група KIV.

Просечне вредности IFN- γ седмог дана након поставе испуна су биле значајно веће у групи KV у односу на групу KII и KIV.

Графикон 3.2.4.

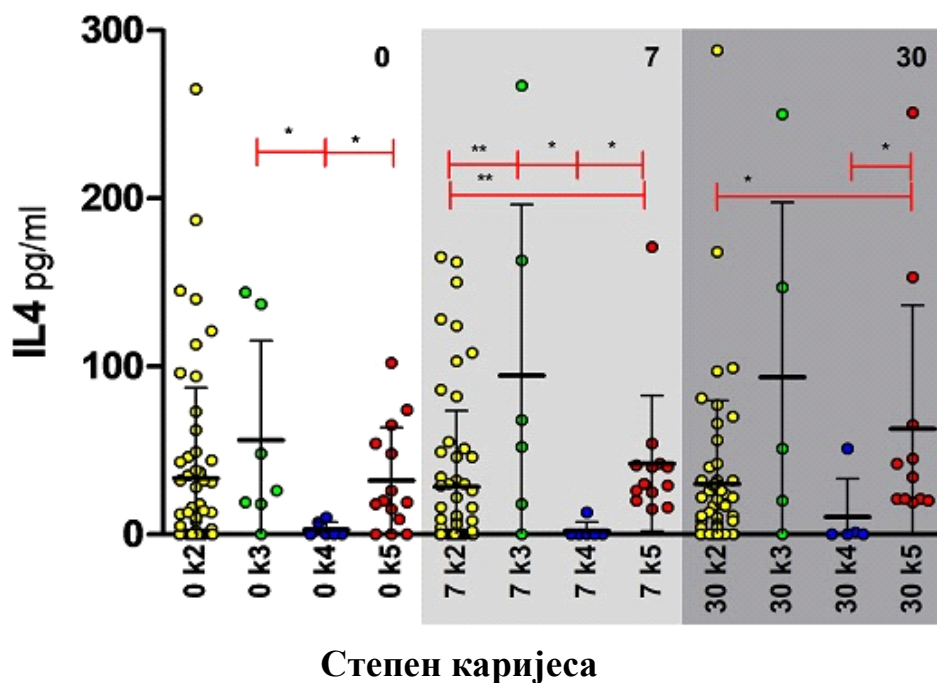


Вредности IL-17 у односу на степен каријеса и дан узорковања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечне вредности IL-17 биле су највеће у групама KIII и KV. Седам дана након поставе испуна, просечне вредности IL-17 биле су највеће у групама KIII и KV, а група KII имала је приближну вредност. Тридесет дана након поставе испуна, просечне вредности IL-17 биле су највеће у групама KIII и KV, а вредности у групама KII и KIV су незнатно повећане, у односу на седми дан.

Просечне вредности IL-17 седмог дана након поставе испуна су биле значајно веће у групи KV у односу на групу KII и KIV.

Графикон 3.2.5.

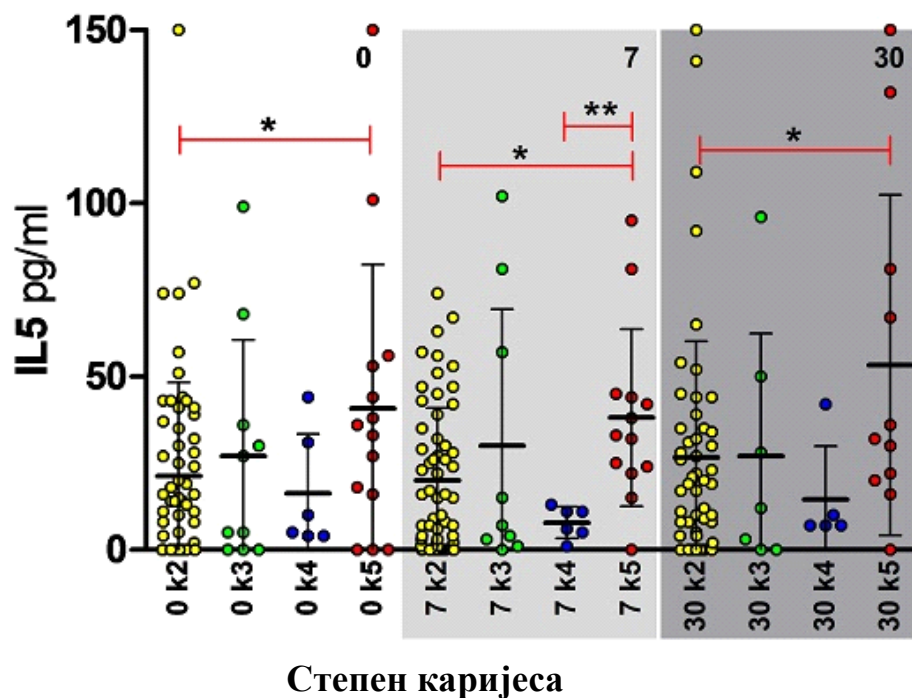


Вредности IL-4 у односу на степен каријеса и дан узорковања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечна вредност IL-4 била је највећа у групи KIII, а за половину мања у групама KII и KV. Седам дана након поставе испуна, просечна вредност IL-4 била је највећа у групи KIII, двоструко мања у групи KV, три пута мања у групи KII, у односу на KIII групу. Тридесет дана након поставе испуна, просечна вредност IL-4 била је највећа у групи KIII, потом у KV и KII групи, док је најнижу средњу вредност имала група KIV.

Нултог дана, просечне вредности IL-4 биле су значајно ниже у групи KIV у односу на групе KIII и KV. Седмог дана након поставе испуна, у узорцима GCF, регистроване су значајне разлике у вредностима IL-4, међу групама KII и KIII, KIII и KIV, KIV и KV, посебно међу групама KII и KV. Тридесетог дана након поставе испуна детектована је значајна разлика између група KIV и KV и међу групама узорака KII и KV.

Графикон 3.2.6.

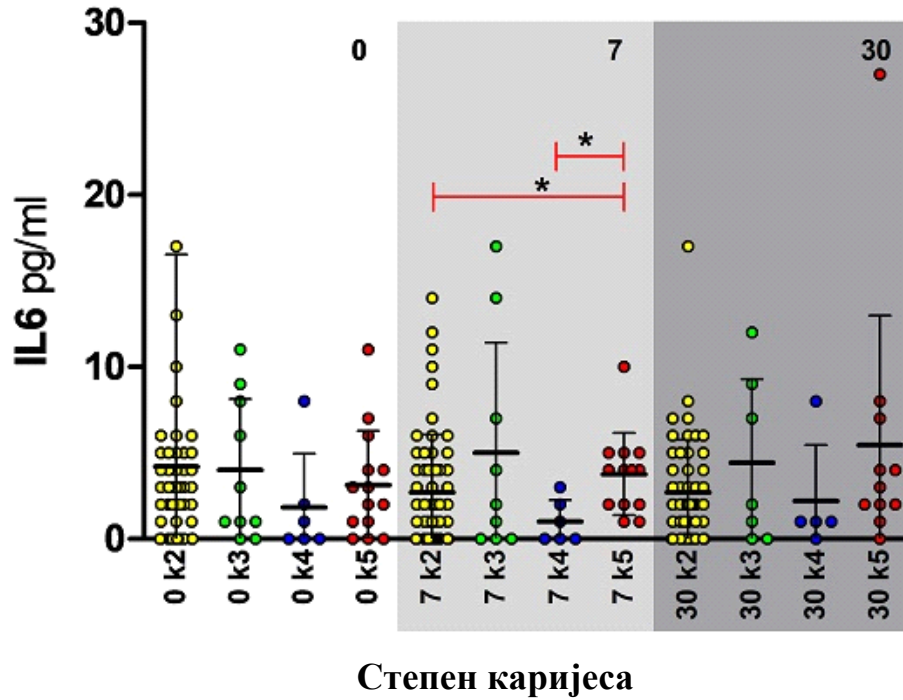


Вредности IL-5 у односу на степен каријеса дан узорковања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечна вредност IL-5 била је највећа у KV групи. Нешто ниже вредности имале су групе KII, KIII и KIV. Седам дана након поставе испуне, просечне вредности IL-5 биле су највеће у групи KV, а најниже у групи KIV. Тридесет дана након поставе испуна, просечна вредност IL-5 била је и даље највећа у групи KV, а у осталим групама није било значајних међусобних разлика.

Нултог дана утврђена је значајна разлика у GCF вредностима IL-5 међу групама узорака KII и KV. Седмог дана, регистроване су значајне разлике међу групама KIV и KV и међу групама KII и KV. Тридесетог након поставе испуна, међу групама узорака KII и KV, поново се уочава статистички значајна разлика.

Графикон 3.2.7.

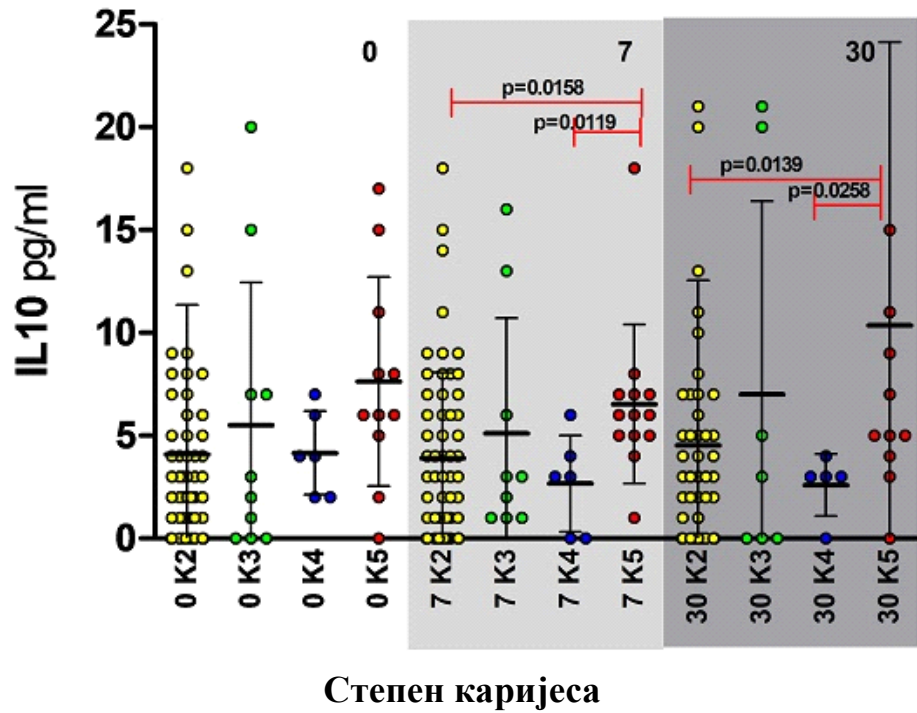


Вредности IL-6 у односу на степен каријеса и дан узорковања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечне вредности IL-6 биле су највеће у KII и KIII групама. Седам дана након поставе испуна, просечна вредност IL-6 била је највећа у групи KIII, нешто нижа у групама KV и KII а најнижа у групи KIV. Тридесет дана дана након поставе испуна, просечна вредност IL-6 била је највећа у групи KV, док су у осталим групама просечне вредности биле ниже.

Статистички значајне разлике у концентрацијама IL-6 регистроване су седмог дана након поставе испуна, међу групама узорака KIV и KV, као и међу групама KII и KV.

Графикон 3.2.8.

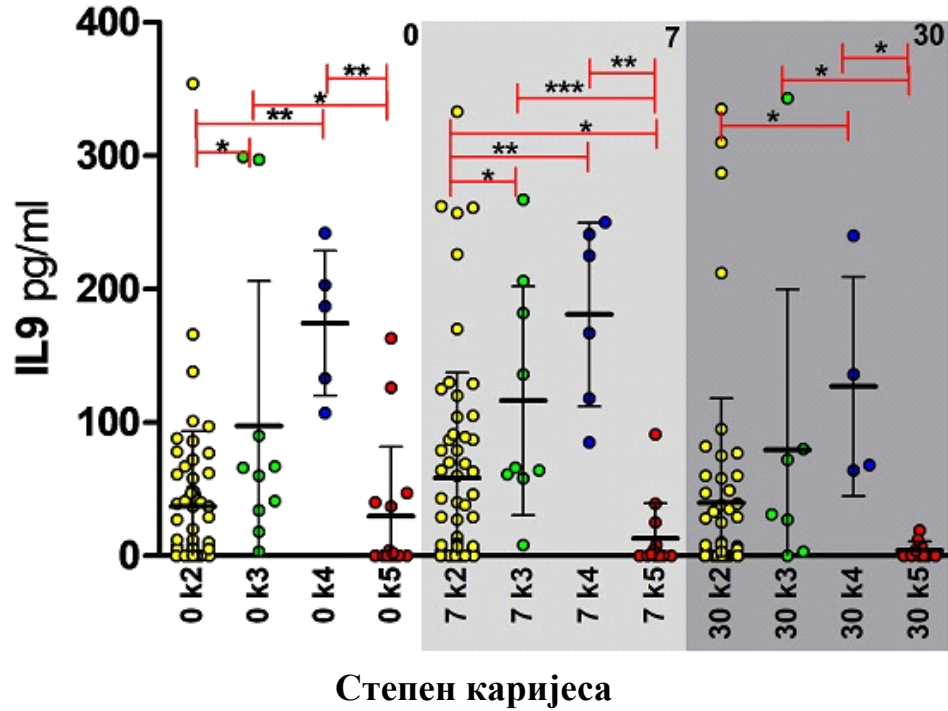


Вредности IL-10 у односу на степен каријеса и дан узоровања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечне вредности IL-10 биле су највеће у групама KV и KIII, док су преостале две групе имале идентичне вредности. Седам дана након поставе испуна, просечна вредност IL-10 била је највећа у групи KV. Тридесет дана након поставе испуна, просечна вредност IL-10 била је и даље највећа у групи KV, а смањивала се у групама KIII, KII и KIV.

Седмог дана након поставе испуна, ниво IL-10, међу групама KII и KV, као и међу групама узорака KIV и KV, показао је статистички значајну разлику. Тридесетог дана, поменута статистичка разлика је присутна међу истим групама узорака, али је нешто нижа.

Графикон 3.2.9.

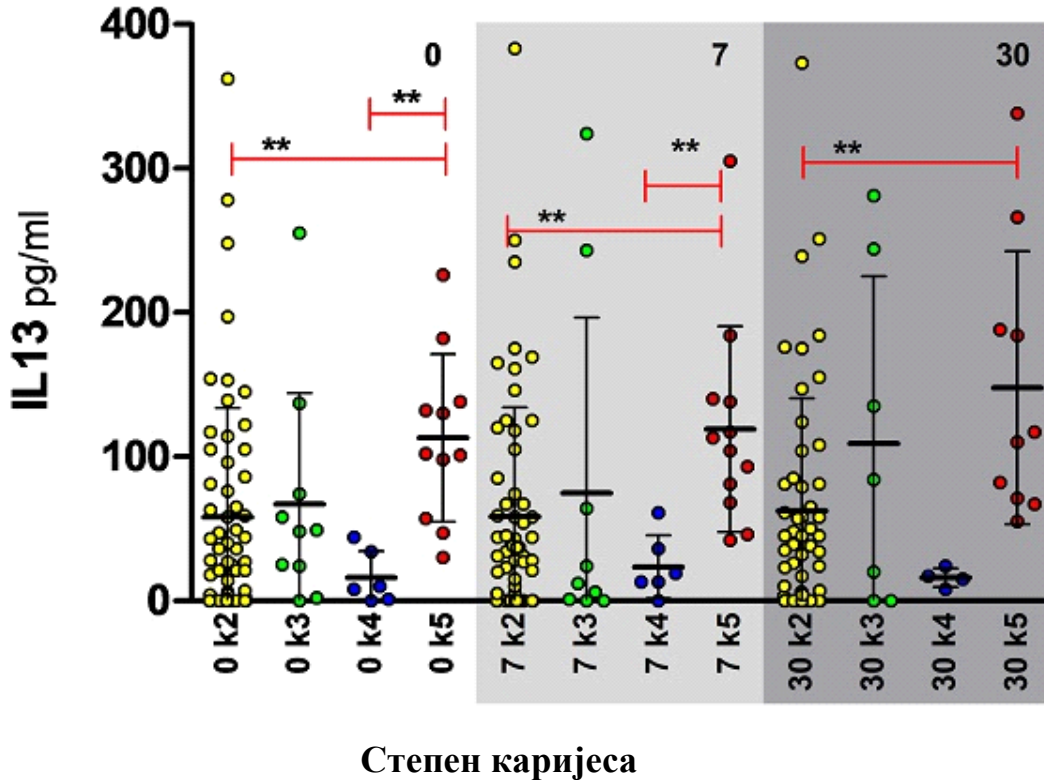


Вредности IL-9 у односу на степен каријеса и дан узорковања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечне вредности IL-9 биле су највеће у KIV и KIII групама. Седам дана након поставе испуна, просечне вредности IL-9 биле су највеће у групама KIV и KIII, значајно веће од вредности у групама KII и KV. Тридесет дана након поставе испуна, просечне вредности IL-9 биле су највеће у групама KIV и KII, нешто ниже у групи KII и најниже у групи KV.

Нултог дана су утврђене значајне разлике међу групама узорака KIV/KV, KIII/KV, KII/KIV и KII/KIII. Седмог дана, уз претходне значајне разлике утврдили смо и значајно повећање IL-9 у KII у односу на KV. Тридесетог дана, остају разлике у вредностима IL-9 међу групама KIV/KV, KIII/KV и KII/KIV.

Графикон 3.2.10.

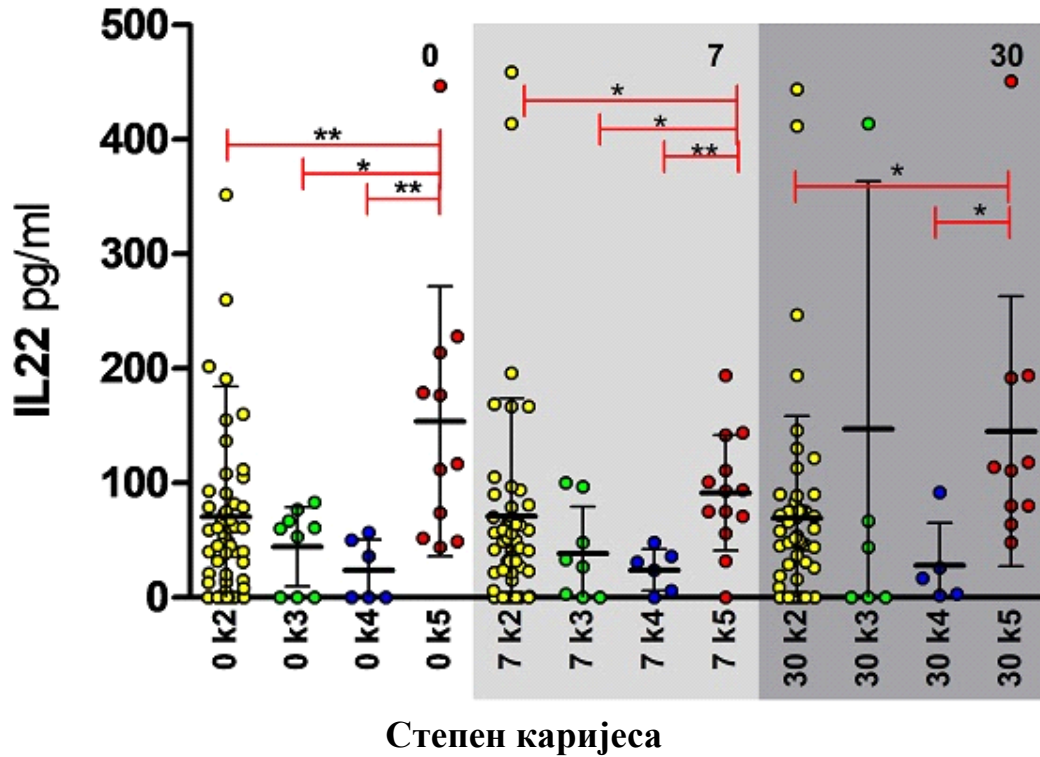


Вредности IL-13 у односу на степен каријеса и дан узорковања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечна вредност IL-13 била је највећа у KV групи. Седам дана након испуна, просечна вредност IL-13 била је и даље највећа у групи KV, значајно већа од вредности у групама KII, KIII и KIV. Тридесет дана након поставе испуна, просечне вредности IL-13 биле су највеће у групама KV и KIII, а ниже у групама KII и KIV.

Значајне разлике међу групама KII/KV регистроване су нултог, седмог и тридесетог дана испитивања, а разлике међу групама узорака у групама KIV и KV, само нултог и тридесетог дана.

Графикон 3.2.11.

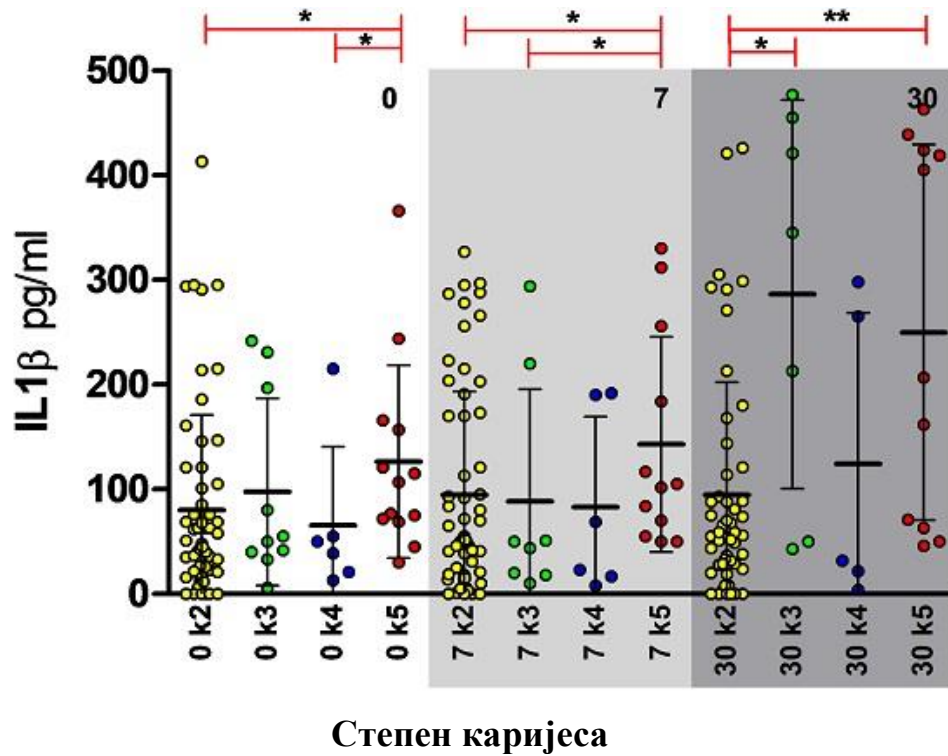


Вредности IL-22 у односу на степен каријеса и дан узорковања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечна вредност IL-22 била је највећа у групи KV. Седам дана након поставе испуна, просечна вредност IL-22 била је и даље највећа у групи KV, већа од просечних вредности у групама KIV, KIII, KII. Тридесет дана након поставе испуна, просечне вредности IL-22 биле су највеће у групама KIII и KV, више од просечних вредности група KIV и KII.

Значајне разлике у вредностима IL-22 у GCF евидентиране су међу групама узорака KII/KV и KIV/KV током сва три термина испитивања. Разлике међу групама узорака KIII/KV евидентиране су нултог и седмог дана.

Графикон 3.2.12.

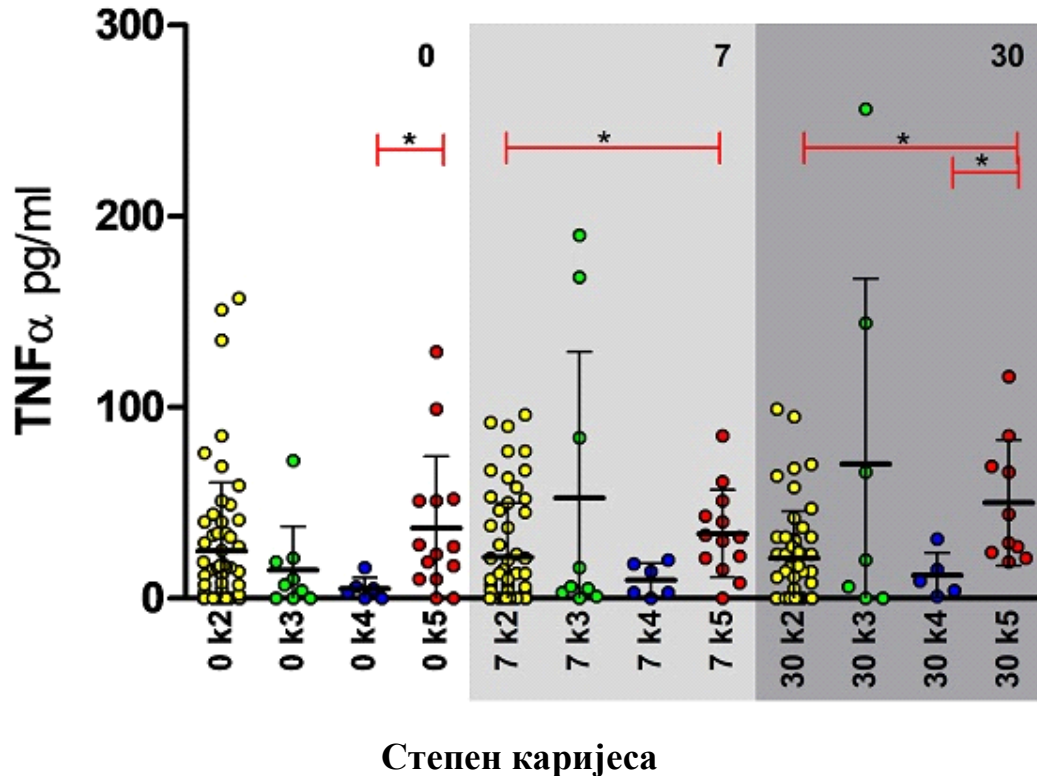


Вредности IL-1 β у односу на степен каријеса и дан узорковања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечна вредност IL-1 β била је највећа у KV групи. Седам дана након поставе испуна, просечна вредност IL-1 β била је и даље највећа у групи KV, већа од вредности осталих група. Тридесет дана након поставе испуна, просечне вредности IL-1 β биле су највеће у групама KIII, KV и KIV, док је група KII имала непромењену вредност од седмог дана.

Значајне разлике у вредностима IL-1 β детектовали смо између KII/KV група у свим терминима. Пре испуна, значајне су биле разлике између KIV/KV група. Седам дана после испуна, значајно су се разликовале групе KIII/KV, а тридесет дана након испуна групе KII/KIII.

Графикон 3.2.13



Вредности TNF-α у односу на степен каријеса и дан узорковања

У првом временском термину (нулти дан, пре терапије), просечна вредност TNF-α била је највећа у KV групи. Седам дана након испуна, просечне вредности TNF-α биле су највеће у групи KIII, док су вредности осталих група биле идентичних вредности. Тридесет дана након испуна, просечне вредности TNF-α биле су највеће у групама KIII и KV, а знатно ниже у KII и KIV групама.

Нултог дана, регистрована је значајна разлика у вредностима TNF-α међу групама KIV/ KV, седмог дана испитивања међу групама KII/ KV, а тридесетог дана је поред присутне разлике међу групама KII/KV, уочена и значајна разлика међу групама KIV/ KV.

У табели 3.2.2. приказане су просечне вредности цитокина измерених у узорцима GCF, 7 дана после терапије денталним испунима ($\bar{x} \pm SD$, pg/ml).

Табела 3.2.2

Просечне вредности цитокина измерених у узорцима GCF седмог дана

Степен оштећења зубног ткива 7 дан	К II	К III	К IV	К V
IL2	5± 5	6± 9	3± 3	8± 6
IL12	6± 6	9± 9	4± 2	9± 5
IFN γ	1± 3	4± 7	0 ± 0	3± 5
IL17	2± 2	3± 4	1± 1	3± 3
IL4	28± 45	95± 102	2± 5,	42± 40
IL5	20± 21	30± 39	8± 5	38± 26
IL6	3± 3	5± 6	1± 1	4± 2
IL10	4± 4	5± 6	3± 2	7± 4
IL9	59± 79	116± 81	181± 69	13± 26
IL13	59± 75	75± 122	24± 22	119± 71
IL22	71± 103	39± 41	24± 18	91± 50
IL1 β	95± 99	88± 107	83±86	143± 103
TNF α	22± 28	53± 77	10± 9	34± 23

Седмог дана по пласирању денталних испуна, у узорцима GCF испитаника КIII групе детектовали смо највеће просечне вредности IL-12, IL-4, IL-6 и TNF- α . У узорцима GCF испитаника са КIV степеном каријеса детектовали смо највеће просечне вредности IL-9. У узорцима GCF испитаника КV групе детектовали смо највеће просечне вредности IL-2, IL-12, IL-5, IL-10, IL-13, IL-22 и IL-1 β .

У табели 3.2.3. приказане су просечне вредности цитокина измерених у узорцима GCF, 30 дана после терапије денталним испунима ($x \pm SD$, pg/mL).

Табела 3.2.3

Просечне вредности цитокина измерених у узорцима GCF тридесетог дана

Степен оштећења зубног ткива 30 дан	К II	К III	К IV	К V
IL2	5± 5	8± 9	5± 7	7± 5
IL12	7± 6	7± 9	10± 7	9± 8
IFN γ	2± 5	6± 8	0± 1	3± 4
IL17	3± 9	4± 4	2± 3	4± 4
IL4	30± 50	94± 104	10± 23	63± 74
IL5	27± 34	27± 35	15± 15	53± 49
IL6	3± 3	4± 5	2± 3	10± 22
IL10	5± 8	7± 9	3± 2	11± 14
IL9	40± 78	79± 120	127± 82	4± 7
IL13	63± 78	109± 116	11± 7	148± 95
IL22	69± 89	147± 217	28± 37	145± 118
IL1 β	95± 108	286± 186	124± 144	250± 180
TNF α	21± 25	70± 97	12± 12	50± 33

Тридесет дана по пласирању денталних испуна у узорцима GCF, КIII групе испитаника детектовали смо највеће просечне вредности IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-22, IL-1 β и TNF- α . У узорцима GCF испитаника KIV групе детектовали смо највеће просечне вредности IL-12 и IL-9. У узорцима GCF испитаника KV групе детектовали смо највеће просечне вредности IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13.

3.3. ТЕЖИНА ДЕНТАЛНИХ ИСПУНА И ВРЕДНОСТИ ЦИТОКИНА У GCF

Вредности цитокина мерене су у узорцима гингивалне сулкусне течности, код укупно 90 испитаника, у три временска термина.

Просечне вредности IL-2 биле су исте нултог, седмог и тридесетог дана у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g. У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g, просечне вредности IL-2, биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g вредности IL-2 биле најизраженије тридесетог дана и нешто ниже седмог и нултог дана од поставе испуна. Добијене концентрације нису се значајно разликовале.

Просечне вредности IL-12 биле су највеће тридесетог дана у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g. У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g, просечне вредности IL-12 биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог дана и нешто ниже седмог и нултог дана од поставе испуна.

Просечне вредности IFN- γ биле су исте нултог, седмог и тридесетог дана, у узорцима GCF у групама узорака са денталним испуном лакшим од 0.50 g. У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g просечне вредности IFN- γ биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог дана и знатно ниже седмог и нултог дана од поставе испуна.

Просечне вредности ПЛ-17 биле су идентичне нултог, седмог и тридесетог дана, у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g. У узорцима GCF код испуна тежина 0.50 - 1.00 g просечне вредности ПЛ-17 биле су исте, док су код испуна тежих од 1.00g биле најизраженије тридесетог дана и нешто ниже седмог и нултог дана.

Просечне вредности ПЛ-4 биле су најизраженије тридесетог дана у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g. У узорцима GCF са испуном тежине 0.50 - 1.00g, просечне вредности ПЛ-4 биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00g биле најизраженије нултог дана и нешто ниже седмог и нултог дана од поставе испуна.

Просечне вредности ПЛ-5 биле су највеће тридесетог дана у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g, а ниже седмог и нултог дана. У узорцима GCF тежине испуна 0.50 - 1.00 g, просечне вредности ПЛ-5 биле су највеће седмог дана и ниже нултог и тридесетог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог и нултог дана, а, значајно ниже седмог дана од поставе испуна.

Просечне вредности ПЛ-6 биле су исте нултог, седмог и тридесетог дана, у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g. У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g просечне вредности ПЛ-6 биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије седмог дана и нешто ниже и нултог, и тридесетог дана.

Просечне вредности ПЛ-10 биле су највеће тридесетог дана у узорцима GCF са тежином денталних испуна била мања од 0.50 g. У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00g просечне вредности ПЛ-10 биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог дана и нешто ниже седмог и нултог дана од поставе испуна.

Просечне вредности ПЛ-9 биле су највеће седмог дана у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50g, а ниже у групама узорака нултог и тридесетог дана. У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00g, просечне вредности ПЛ-9 биле су највеће нултог, смањивале су се седмог и тридесетог дана, док су вредности ПЛ-9 код испуна тежих од 1.00g биле најизраженије тридесетог дана.

Просечне вредности ПЛ-13 биле су најизраженије тридесетог, а нешто ниже седмог и нултог дана у узорцима GCF у групама узорака где је тежина денталног испуна била мања од 0.50g. У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00g просечне вредности ПЛ-13 биле су највеће седмог и значајно ниже тридесетог и нултог дана, док су код испуна тежих од 1.00g биле најизраженије нултог и нешто ниже седмог и тридесетог дана од поставе испуна.

Просечне вредности ПЛ-22 биле су најизраженије нултог, а ниже седмог и тридесетог дана у узорцима GCF у групама узорака где је тежина денталног испуна била мања од 0.50g.

У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g, просечне вредности ПЛ-22 биле су највеће нултог и ниже седмог и тридесетог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије седмог и нешто ниже нултог и тридесетог дана од поставе испуна.

Просечне вредности ПЛ-1 β биле су најизраженије тридесетог, а ниже седмог и нултог дана у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g. У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00g просечне вредности ПЛ-1 β , биле су највеће

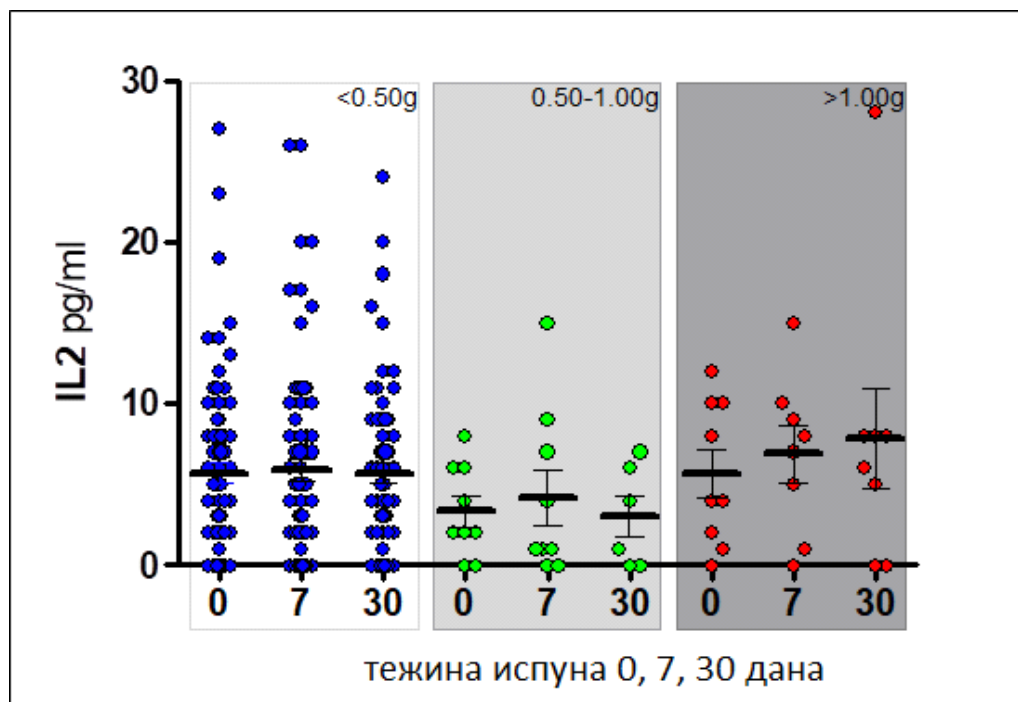
седмог и ниже нултог и тридесетог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог и ниже од нултог и седмог дана од постане испуна.

Просечне вредности TNF- α биле су највеће тридесетог дана у узорцима GCF са тежином испуна мањом од 0.50g (Табела 3.2.13.). У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00g, просечне вредности TNF- α биле су највеће седмог, ниже нултог и тридесетог дана, док су код испуна тежих од 1.00g биле најизраженије нултог, а нешто ниже тридесетог и седмог дана од поставе испуна.

Табела 3.2.4
Тежина денталних испуна и вредности цитокина у GCF

Тежина испуна	Нулти дан			Седми дан			Тридесети дан		
	<0.50g	-1.00g	>1.00g	<0.50g	-1.00g	>1.00g	<0.50g	-1.00g	>1.00g
IL2	5 ± 1	2 ± 1	4 ± 1	5 ± 1	1 ± 2	8 ± 2	4 ± 1	8 ± 2	7 ± 3
IL12	5 ± 1	5 ± 1	11 ± 2	5 ± 1	7 ± 2	10 ± 2	7 ± 1	3 ± 1	8 ± 3
IFN γ	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	2 ± 1	1 ± 1	1 ± 3
IL17	1 ± 0	0 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 1	3 ± 1	1 ± 0	2 ± 0	2 ± 2
IL4	14 ± 6	0 ± 8	31 ± 8	13 ± 6	0 ± 12	30 ± 7	21 ± 7	4 ± 7	21 ± 9
IL5	43 ± 44	38 ± 30	69 ± 66	54 ± 52	256 ± 114	72 ± 36	65 ± 53	49 ± 28	207 ± 85
IL6	2 ± 0	1 ± 0	3 ± 1	2 ± 0	1 ± 1	2 ± 1	2 ± 0	1 ± 1	2 ± 1
IL10	2 ± 1	0 ± 1	6 ± 1	3 ± 1	5 ± 1	6 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	5 ± 3
IL9	29 ± 9	50 ± 37	9 ± 11	60 ± 10	7 ± 41	4 ± 10	9 ± 11	0 ± 14	5 ± 10
IL13	36 ± 8	1 ± 23	105 ± 21	37 ± 14	28 ± 7	117 ± 18	57 ± 12	17 ± 24	81 ± 30
IL22	49 ± 53	23 ± 29	112 ± 23	42 ± 36	36 ± 13	112 ± 23	53 ± 37	26 ± 21	90 ± 17
IL1 β	43 ± 33	38 ± 30	66 ± 58	54 ± 52	137 ± 101	50 ± 33	65 ± 33	49 ± 28	138 ± 81
TNF α	12 ± 13	2 ± 7	34 ± 8	10 ± 12	11 ± 10	21 ± 7	21 ± 11	8 ± 6	2 ± 11

Графикон 3.3.1.



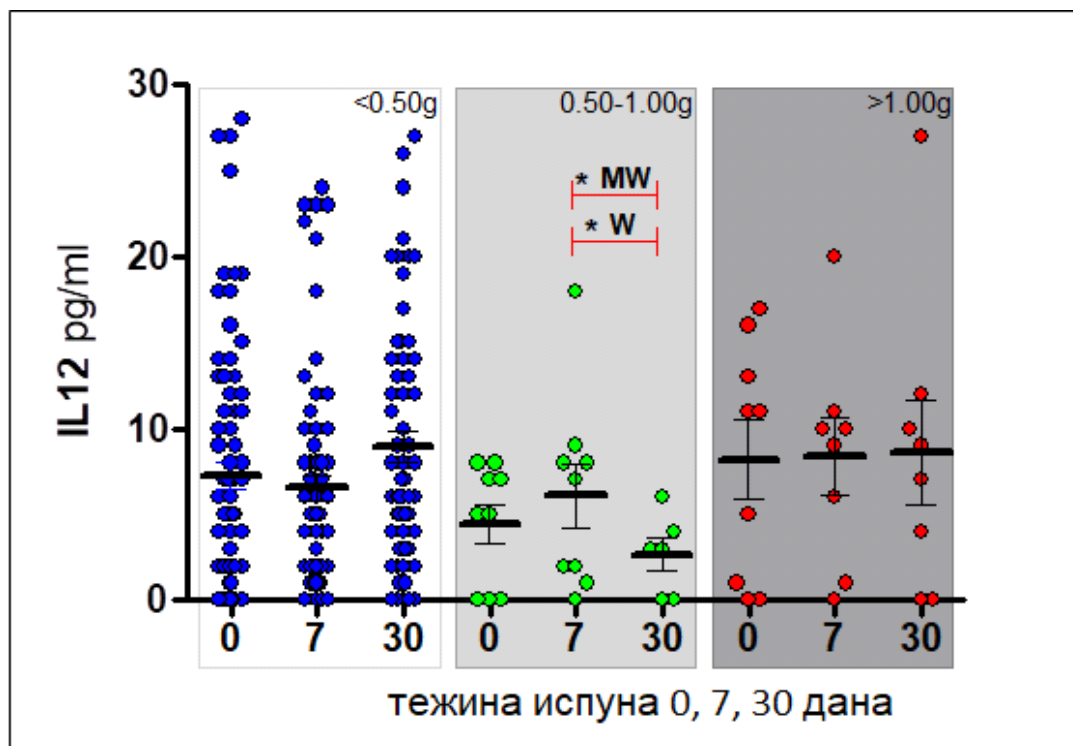
Вредности IL-2 у односу на тежину денталних испуна и дан узорковања ($x \pm SD$)

Просечне вредности IL-2 биле су исте нултог, седмог и тридесетог дана у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g.

У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g, просечне вредности IL-2, биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g вредности IL-2 биле најизраженије тридесетог дана и нешто ниже седмог и нултог дана од поставе испуна.

Добијене концентрације нису се значајно разликовале.

Графикон 3.3.2.



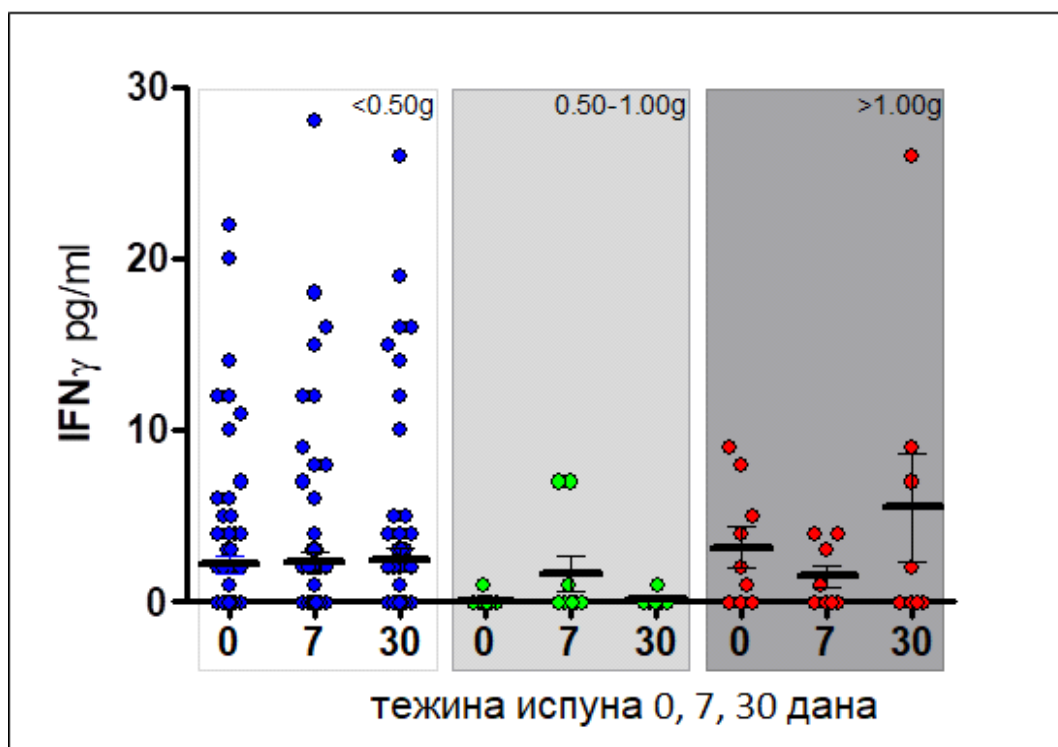
Вредности IL-12 у односу на тежину денталних испуна и дан узорковања ($x \pm SD$)

Просечне вредности IL-12 биле су највеће тридесетог дана у узорцима GCF у где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g.

У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g, просечне вредности IL-12 биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог дана и нешто ниже седмог и нултог дана од поставе испуна.

Значајна разлика концентрација IL-12 детектована је у узорцима GCF групе са интермедијерном тежином испуна од 0.50 - 1.00 g, седмог и тридесетог дана.

Графикон 3.3.3.

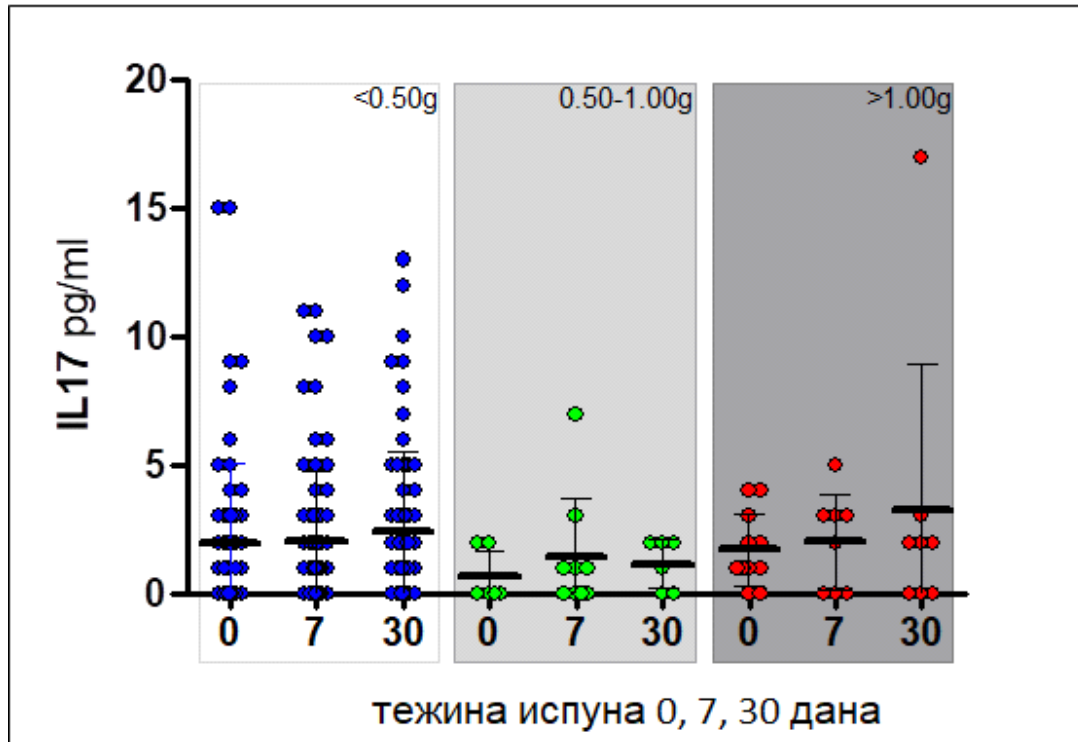


Вредности IFN- γ у односу на тежину денталних испуна дан узорковања ($\bar{x}\pm\text{SD}$)

Просечне вредности IFN- γ биле су исте нултог, седмог и тридесетог дана, у узорцима GCF у групама узорака са денталним испунима мањом од 0.50 g. У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g просечне вредности IFN- γ биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог дана и знатно ниже седмог и нултог дана од поставе испуна.

Добијене концентрације нису се значајно разликовале.

Графикон 3.3.4.



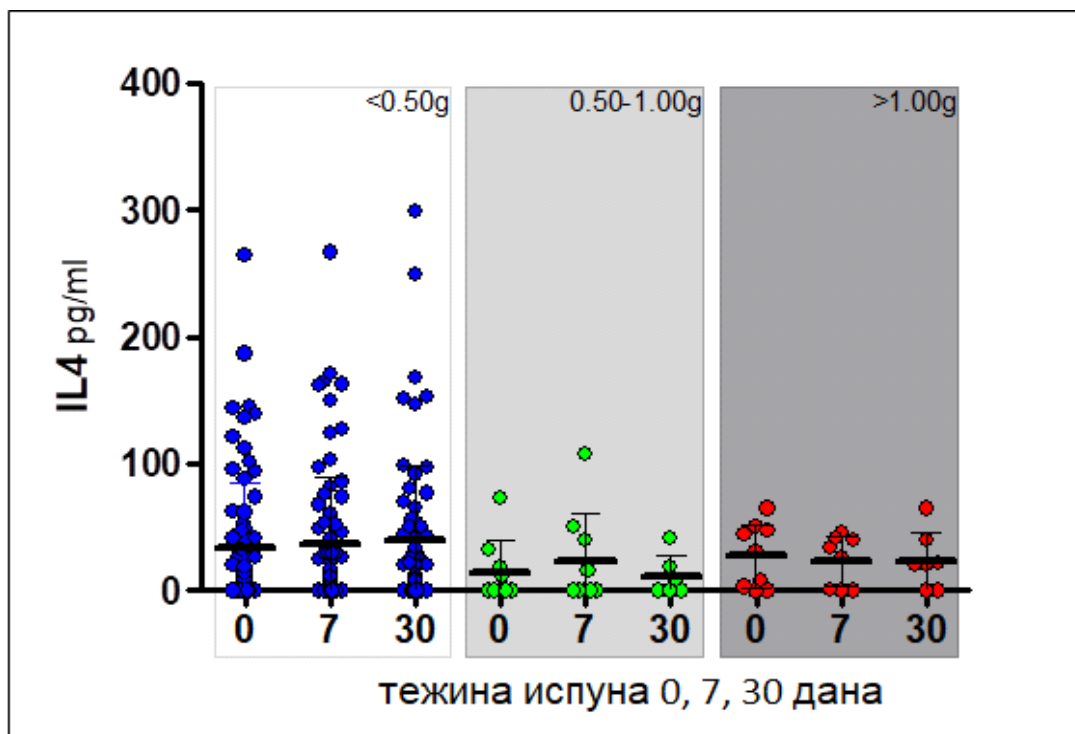
Вредности IL-17 у односу на тежину денталних испуна и дан узорковања ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

Просечне вредности IL-17 биле су идентичне нултог, седмог и тридесетог дана, у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g.

У узорцима GCF код испуна тежина 0.50 - 1.00 g просечне вредности IL-17 биле су исте, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог дана, а нешто ниже седмог и нултог дана.

Добијене концентрације нису се значајно разликовале.

Графикон 3.3.5.



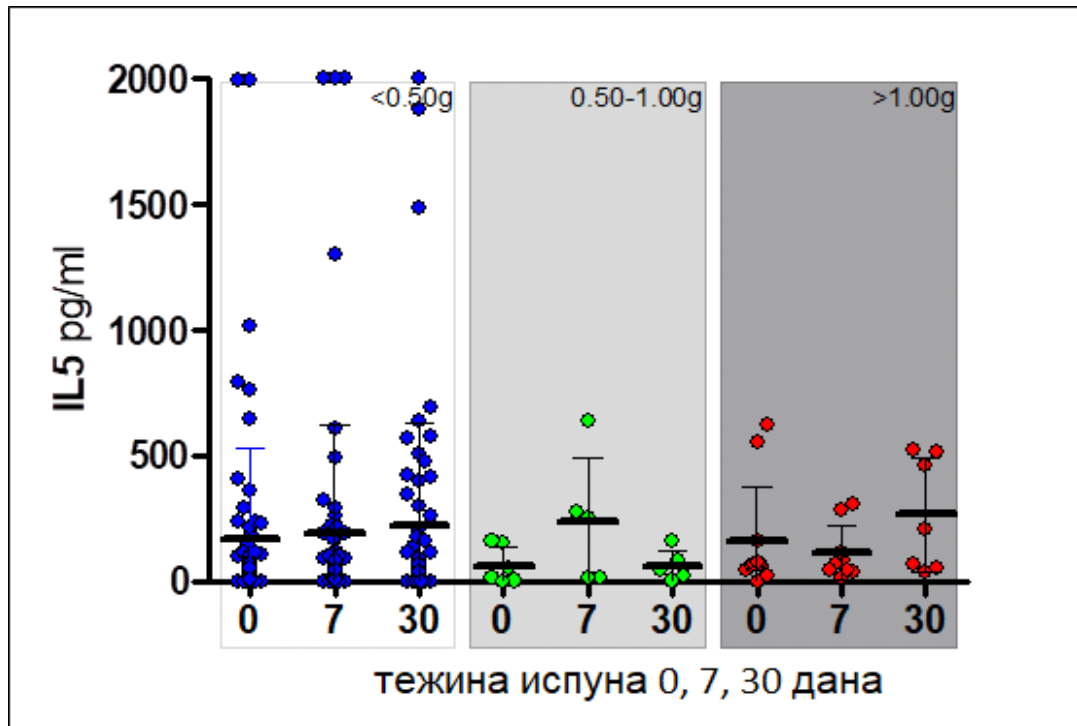
Вредности IL-4 у односу на тежину денталних испуна дан узорковања ($x \pm SD$)

Просечне вредности IL-4 биле су најизраженије тридесетог дана у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g.

У узорцима GCF са испуном тежине 0.50 - 1.00 g просечне вредности, IL-4 биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије нултог дана и нешто ниже седмог и нултог дана од поставе испуна где није уочена значајнија разлика.

Добијене концентрације нису се значајно разликовале.

Графикон 3.3.6.



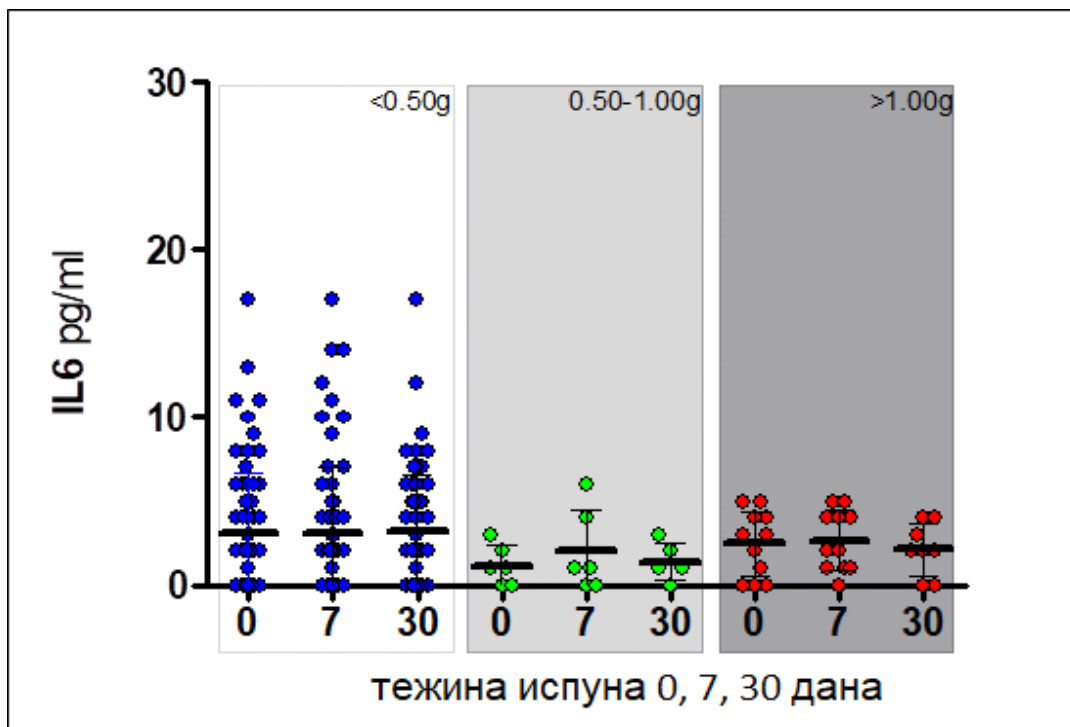
Вредности IL-5 у односу на тежину денталних испуна дан узорковања ($x \pm SD$)

Просечне вредности IL-5 биле су највеће тридесетог дана у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g, а ниже седмог и нултог дана.

У узорцима GCF тежине испуна 0.50 - 1.00 g, просечне вредности IL-5 биле су највеће седмог дана и ниже нултог и тридесетог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог и нултог дана, а значајно ниже седмог дана од поставе испуна.

Добијене концентрације нису се значајно разликовале.

Графикон 3.3.7.



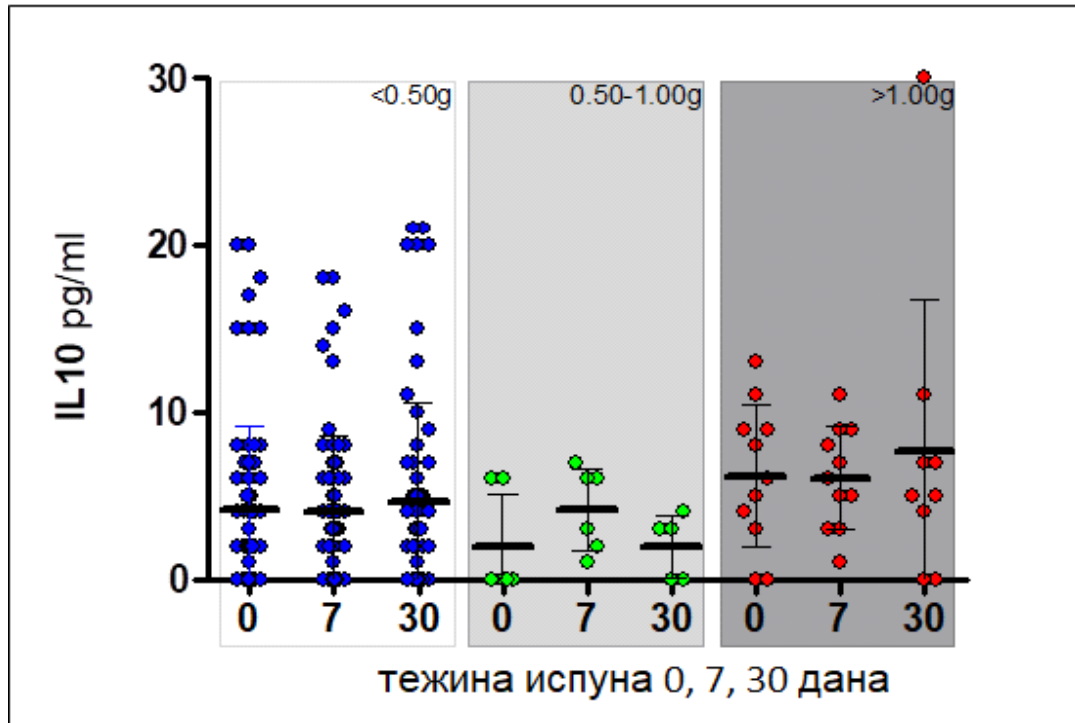
Вредности IL-6 у односу на тежину денталних испуна и дан узорковања ($\bar{x} \pm SD$)

Просечне вредности IL-6 биле су исте нултог, седмог и тридесетог дана, у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g.

У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g просечне вредности IL-6 биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије седмог дана и нешто ниже и нултог и тридесетог дана.

Добијене концентрације нису се значајно разликовале.

Графикон 3.3.8.



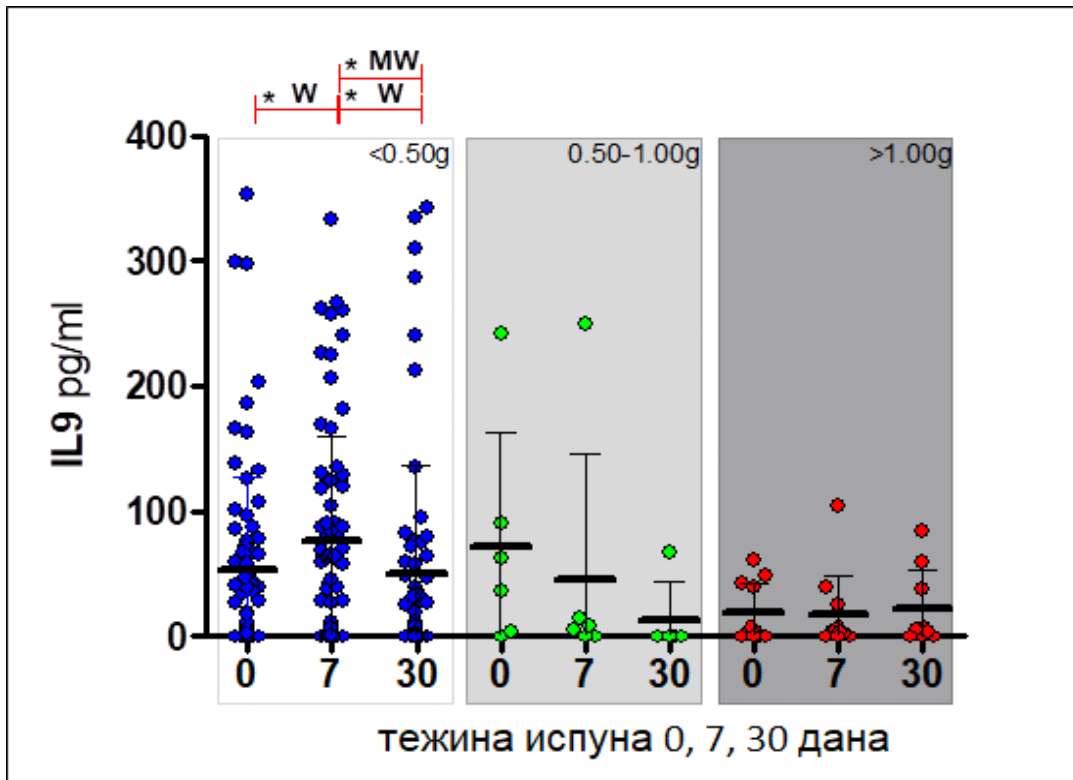
Вредности IL-10 у односу на тежину денталног испуна дан узорковања ($\bar{x} \pm SD$)

Просечне вредности IL-10 биле су највеће тридесетог дана у узорцима GCF где је тежина денталних испуна била мања од 0.50 g.

У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g просечне вредности IL-10 биле су највеће седмог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог дана и нешто ниже седмог и нултог дана од поставе испуна.

Добијене концентрације нису се значајно разликовале.

Графикон 3.3.9.



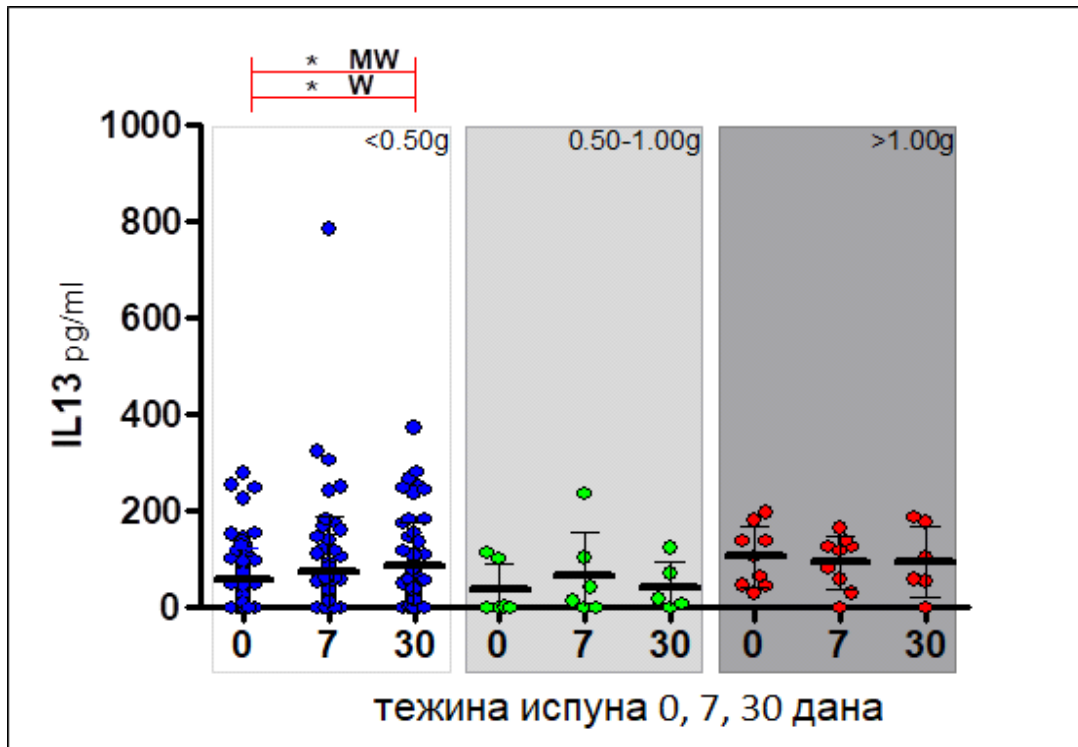
Вредности IL-9 у односу на тежину денталних испуна и дан узорковања ($x \pm SD$)

Просечне вредности IL-9 биле су највеће седмог дана у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50g, а ниже у групама узорака нултог и тридесетог дана.

У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g, просечне вредности IL-9 биле су највеће нултог, смањивале су се седмог и тридесетог дана, док су вредности IL-9 код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог дана.

Значајна разлика концентрација IL-9 детектована је у групи са испунима лакшим од 0.50g, између узорака нултог и седмог (Wilcoxon test), као и седмог и тридесетог дана (Wilcoxon, Mann Whitney test).

Графикон 3.3.10.



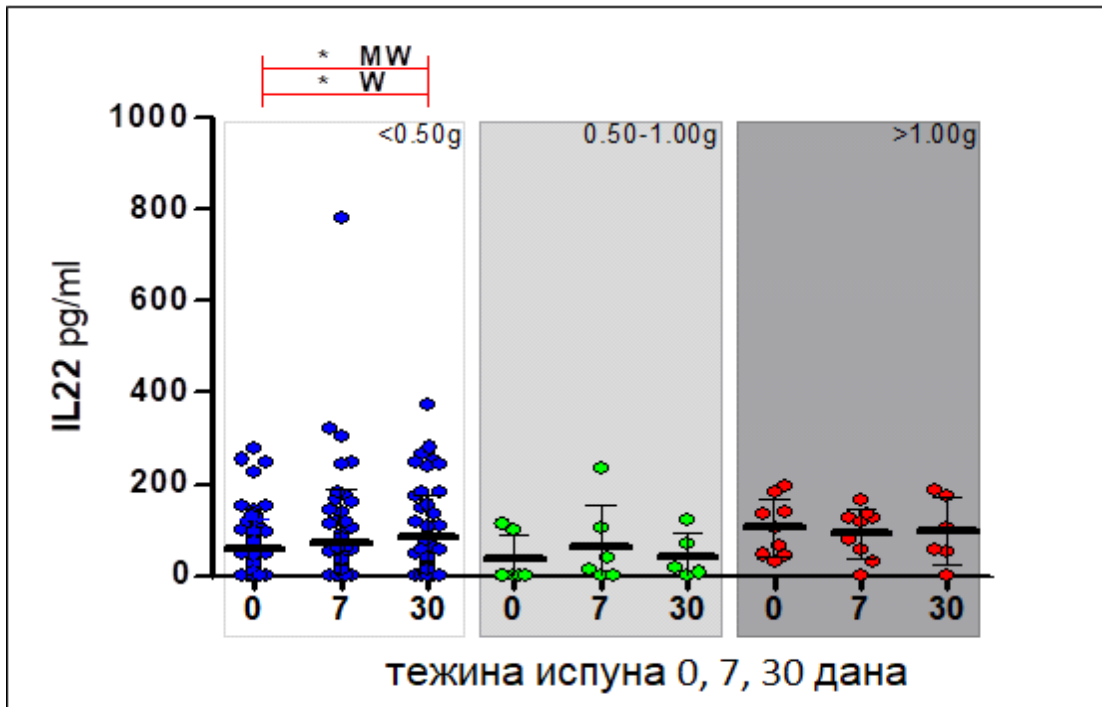
Вредности IL-13 у односу на тежину денталних испуна и дан узорковања ($x \pm SD$)

Просечне вредности IL-13 биле су најизраженије тридесетог, а нешто ниже седмог и нултог дана у узорцима GCF у групама узорака где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g.

У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g просечне вредности IL-13 биле су највеће седмог и значајно ниже тридесетог и нултог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије нултог и нешто ниже седмог и тридесетог дана од поставе испуна.

Значајна разлика концентрација IL-13 детектована је у групи са испунима лакшим од 0.50g, између узорака нултог и тридесетог дана.

Графикон 3.3.11.



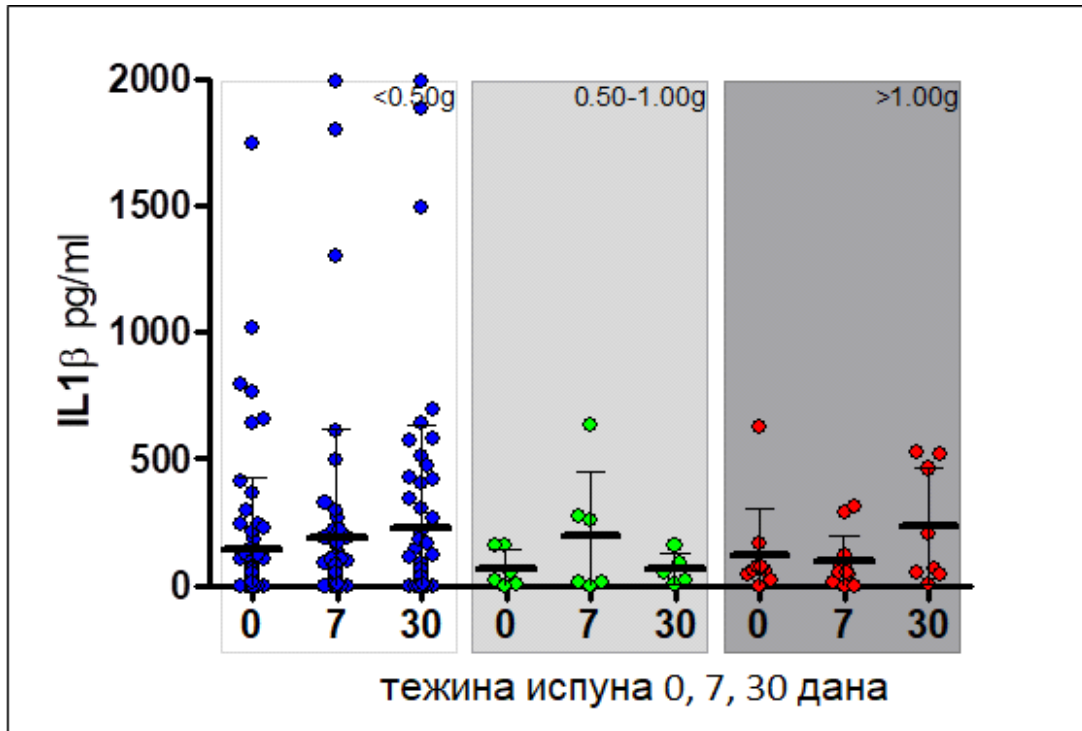
Вредности IL-22 у односу на тежину денталних испуна и дан узорковања ($x \pm SD$)

Просечне вредности IL-22 биле су најизраженије нултог, а ниже седмог и тридесетог дана у узорцима GCF у групама узорака где је тежина денталног испуна била мања од 0.50g.

У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g, просечне вредности IL-22 биле су највеће нултог и ниже седмог и тридесетог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије седмог и нешто ниже нултог и тридесетог дана од поставе испуна.

Значајна разлика концентрација IL-22 детектована је у групи са испунима лакшим од 0.50g, између узорака нултог и тридесетог дана.

Графикон 3.3.12.



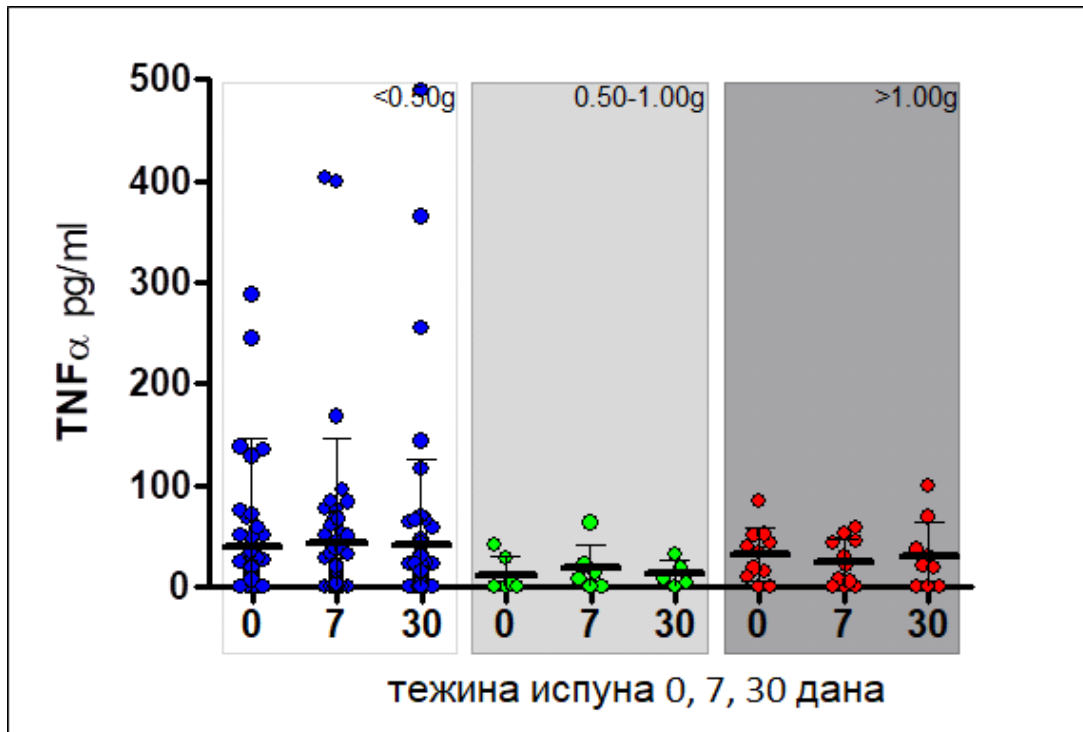
Вредности IL-1 β у односу на тежину денталних испуна и дан узорковања ($x \pm SD$)

Просечне вредности IL-1 β биле су најизраженије тридесетог, а ниже седмог и нултог дана у узорцима GCF где је тежина денталног испуна била мања од 0.50 g.

У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g, просечне вредности IL-1 β , биле су највеће седмог и ниже нултог и тридесетог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије тридесетог и ниже од нултог и седмог дана од постане испуна.

Добијене концентрације нису се значајно разликовале.

Графикон 3.3.13.



Вредности TNF- α у односу на тежину денталних испуна и дан узорковања (x \pm SD)

Просечне вредности TNF- α биле су највеће тридесетог дана у узорцима GCF са тежином испуна мањом од 0.50g.

У узорцима GCF код испуна чија је тежина износила 0.50 - 1.00 g, просечне вредности TNF- α биле су највеће седмог, ниже нултог и тридесетог дана, док су код испуна тежих од 1.00 g биле најизраженије нултог, а нешто ниже тридесетог и седмог дана од поставе испуна.

Добијене концентрације нису се значајно разликовале.

У табели 3.3.1. приказана су просечне вредности цитокина измерених у узорцима GCF нултог дана (пре терапије денталним испунима), седмог и тридесетог дана (по терапији денталним испунима) (x \pm SD, pg/mL).

Табела 3.2.5

Степен захваћености зубног ткива каријесом у односу на плак индекс (PI), индекс крварења (IK), гингивални индекс (GI) и дубину гингивалног сулкуса (DGS)

КЛИНИЧКИ ПАРАМЕТРИ		СТЕПЕН ОШТЕЋЕЊА ЗУБНОГ ТКИВА			
		KII	KIII	KIV	KV
PI	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	1	32 ± 17	6 ± 2	3 ± 1	10 ± 9
	2	21 ± 7	5 ± 5	2 ± 1	0 ± 0
	3	2 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0
IK	0	27 ± 16	5 ± 3	1 ± 0	8 ± 6
	1	14 ± 9	2 ± 0	3 ± 1	4 ± 2
	2	20 ± 11	2 ± 0	2 ± 1	2 ± 1
	3	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
GI	0	5 ± 3	0 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
	1	32 ± 19	5 ± 5	0 ± 0	8 ± 5
	2	28 ± 10	3 ± 1	5 ± 2	6 ± 3
	3	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
DGS	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2	12 ± 9	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
	3	37 ± 19	10 ± 7	6 ± 4	10 ± 6

Нулти дан представља први термин наших испитивања, пре примене денталних испуна, тако да ниво инфламаторних цитокина одговара степену оштећења зуба каријесом. Просечне вредности IL-2, IFN- γ , IL-17, IL-6 и IL-10 нису се разликовале у односу на величину денталног дефекта. Међутим, код каријесних лезија које су захтевале испуне теже од 1 g, детектоване су највише просечне вредности IL-9. Просечне вредности IL-4, IL-5, IL-13, IL-22, IL-1 β и TNF- α биле су највеће у узорцима GCF групе са највећим каријесним лезијама. Насупрот овом налазу, просечне вредности IL-9 биле су највеће у групи са интермедијарним денталним лезијама.

Пласирање денталних испуна донекле је изменило профил детектованих цитокина у GCF. Након седам дана од пласирања, највеће просечне вредности IL-9 биле су у групи са најмањом тежином испуна. Највеће просечне вредности IL-5 и IL-1 β детектовали смо у групи са интермедијарном тежином испуна, док су највеће просечне вредности IL-2, IL-12, IL-4, IL-13, IL-22 и TNF- α детектоване у групи са највећом тежином испуна.

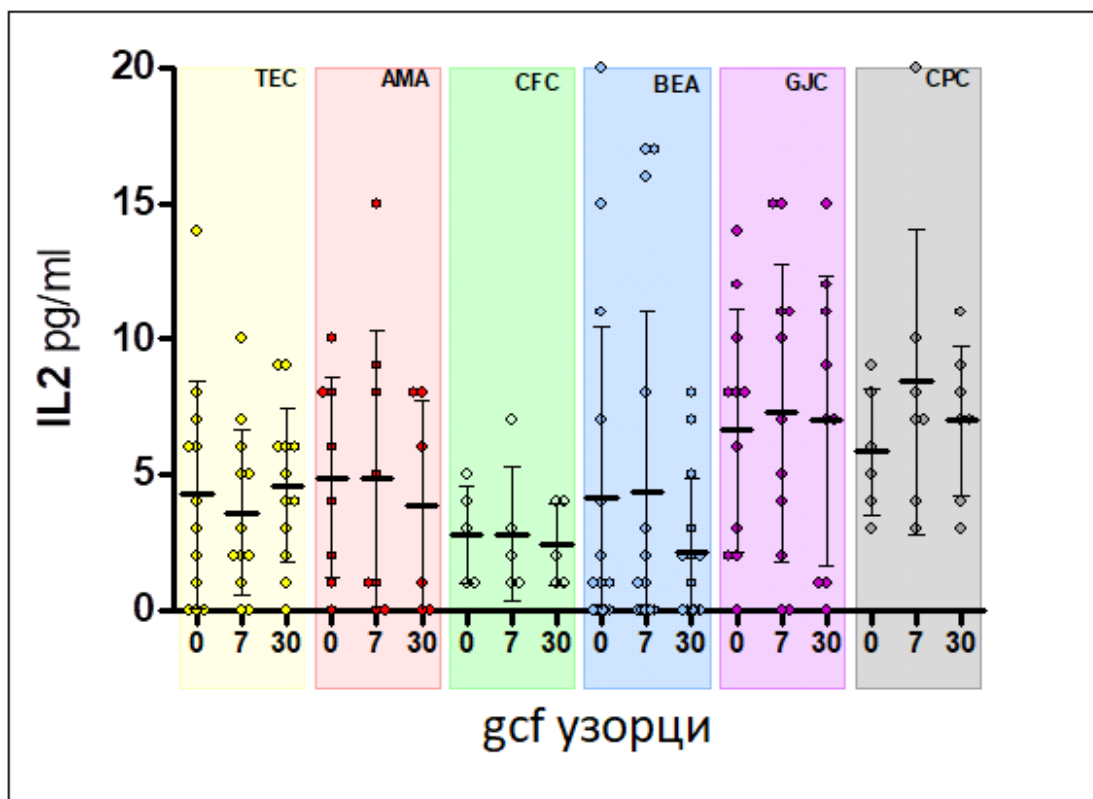
Након тридесет дана од пласирања денталних испуна, највеће просечне вредности IL-2 биле су у групи са најмањом тежином испуна. Највеће просечне вредности IL-4 и TNF- α детектоване су у групама са интермедијарном тежином и највећом тежином испуна. Највеће просечне вредности IL-4, IL-5, IL-13, IL-22 и IL-1 β детектоване су у групи са највећом тежином испуна.

3.4. ВРСТА МАТЕРИЈАЛА ЗА ДЕНТАЛНЕ ИСПУНЕ И ВРЕДНОСТИ ЦИТОКИНА У GCF

Највеће просечне вредности IL-2 детектоване су у узорцима GCF зуба третираних CPC, нарочито седмог дана узорковања (Графикон 3.4.1.). Статистичка анализа показала је да се вредности IL-2 у узорцима GCF нису значајно разликовале нултог дана узорковања. Седмог дана по пласирању денталних испуна, GCF узорци зуба третираних CPC испунима садржавали су значајно веће концентрације IL-2 у односу на зубе третиране TEC испунима. Такође, испун CPC материјалом индуковао је значајно повећање концентрације IL-2 у односу на испуне CFC и BEA. Тридесетог дана по пласирању денталних испуна, GCF узорци зуба третираних BEA испунима садржавали су значајно мање концентрације IL-2 у односу на зубе третиране TEC испунима. Такође, испун CPC материјалом индуковао је значајно повећање концентрације IL-2 у односу на испуне CFC материјалом. Коначно, испун GJC материјалом индуковао је значајно повећање концентрације IL-2 у односу на испун BEA материјалом.

У привременим денталним испунима највеће вредности цитокина тридесетог дана се бележе у групи CPC и то IL-10, IL-6, IL-5, IL-22. У групи GJC пик имају IL-13 и IL-9, код амалгама постоји скок просечне вредности IL-9.

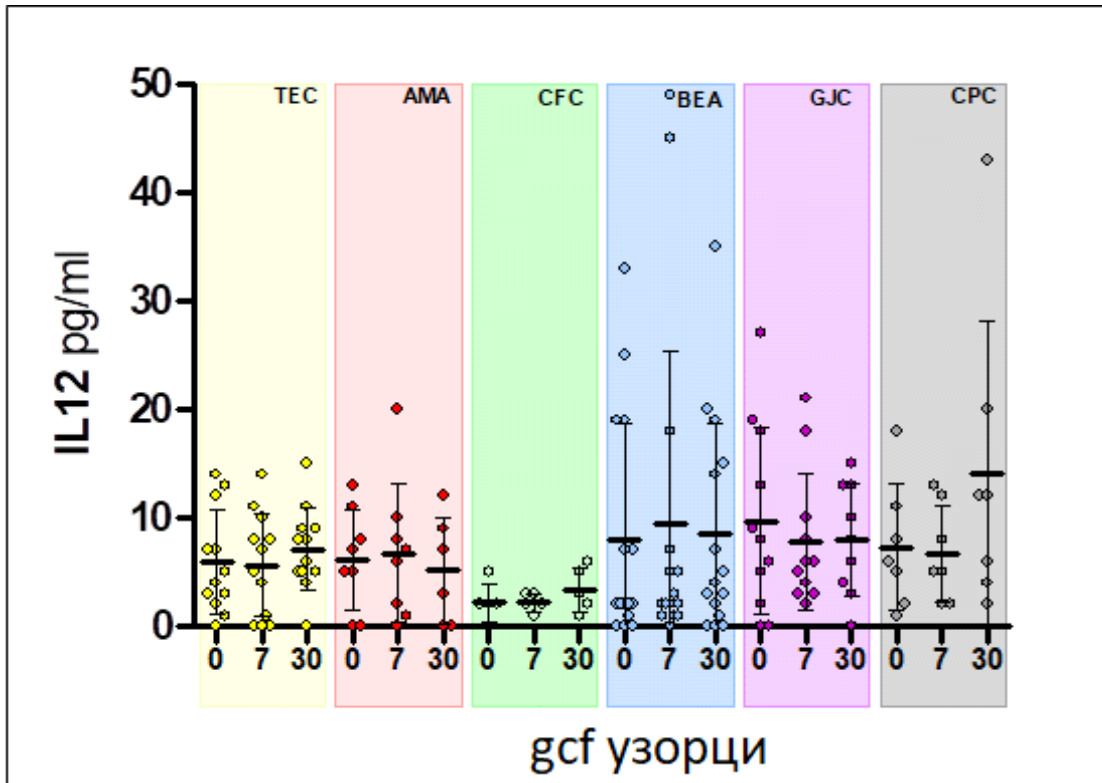
Графикон 3.4.1.



Вредности IL-2 у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IL-2 одредили смо у узорцима GCF пацијената рестаурираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Највеће просечне вредности IL2 детектоване су у узорцима GCF зуба третираних CPC врстом денталног материјала, нарочито седмог дана узорковања.

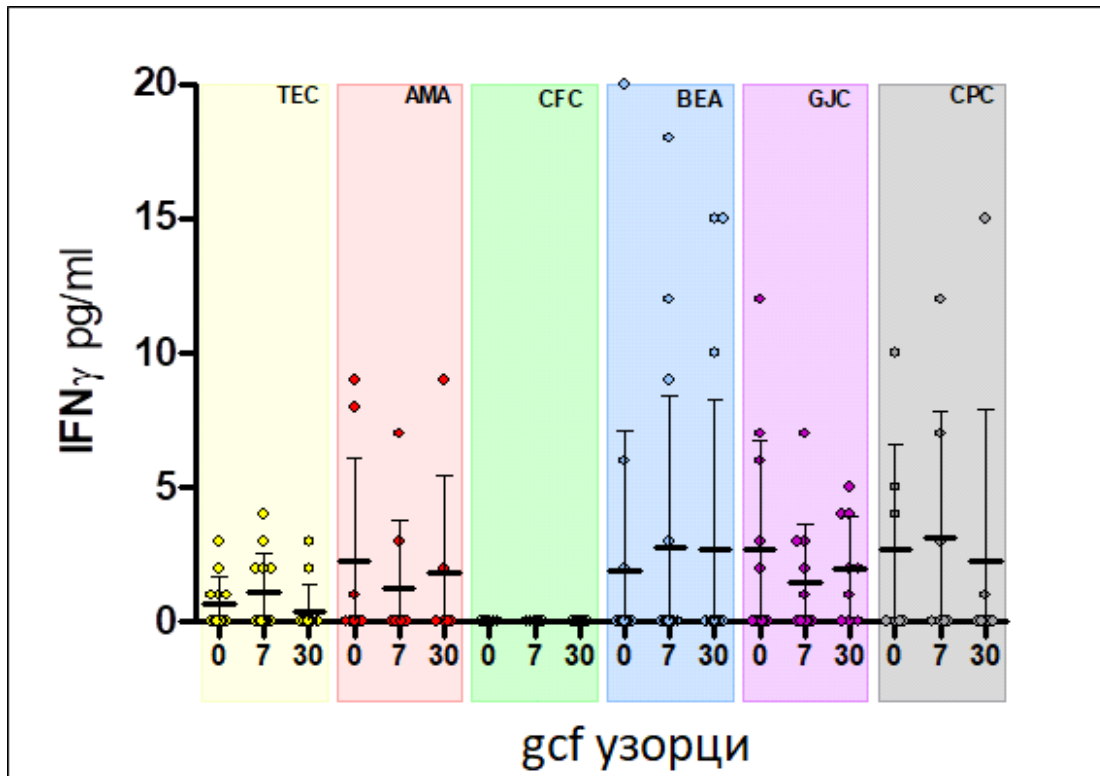
Графикон 3.4.2.



Вредности IL-12 у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IL-12 одредили смо у узорцима GCF пацијената рестаурираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Највеће просечне вредности IL-12 детектоване су у узорцима GCF зуба третираних CPC врстом денталног материјала, нарочито тридесетог дана узорковања.

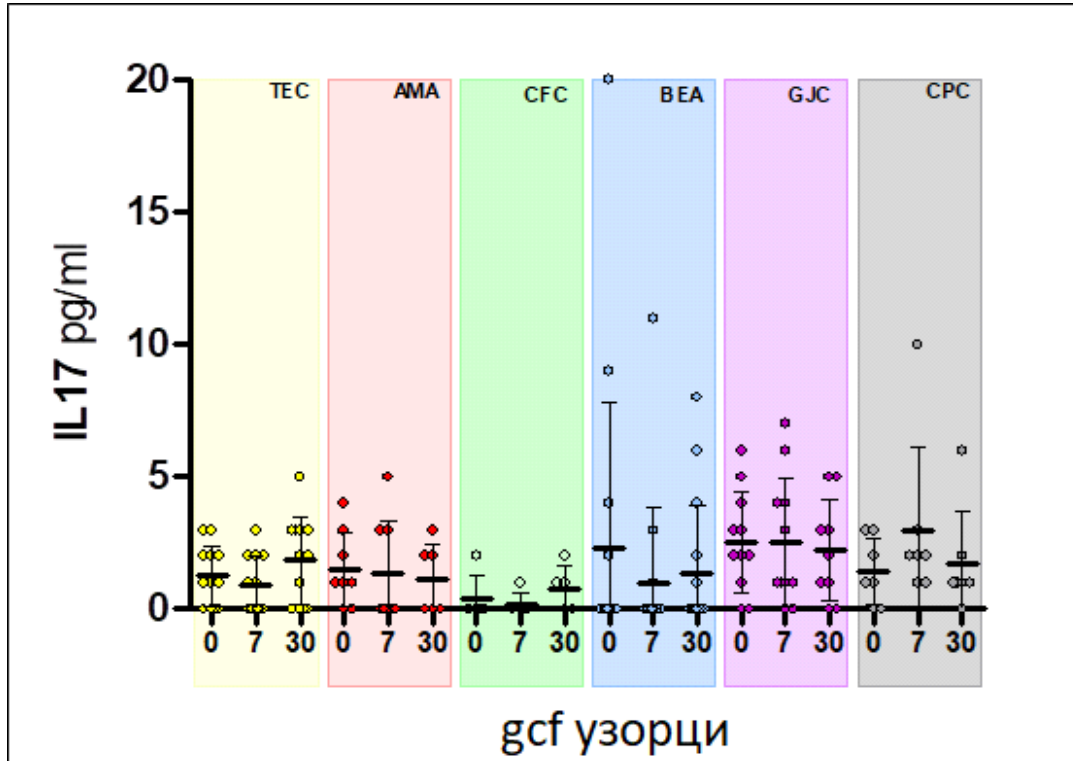
Графикон 3.4.3.



Вредности IFN- γ у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IFN- γ одредили смо у узорцима GCF пацијената третираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Нису детектоване значајније статистичке разлике међу испитиваним групама.

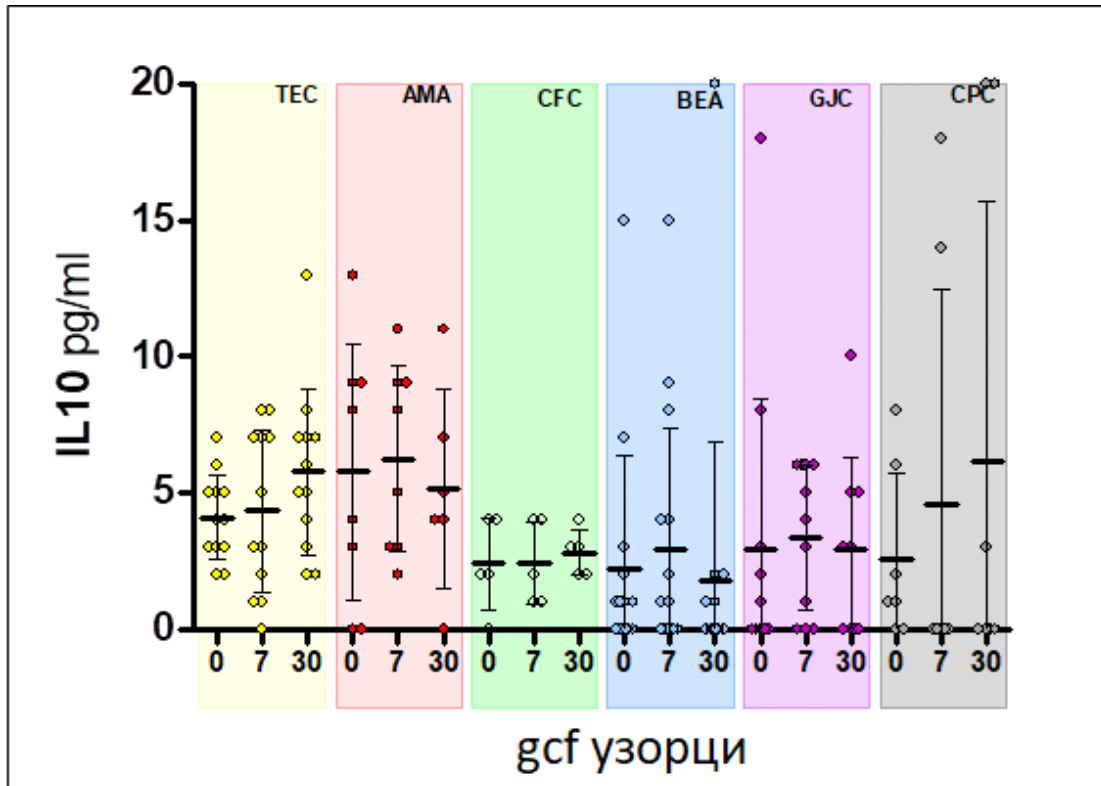
Графикон 3.4.4.



Вредности IL-17 у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IL-17 одредили смо у узорцима GCF пацијената третираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Нису детектоване значајније статистичке разлике међу испитиваним групама.

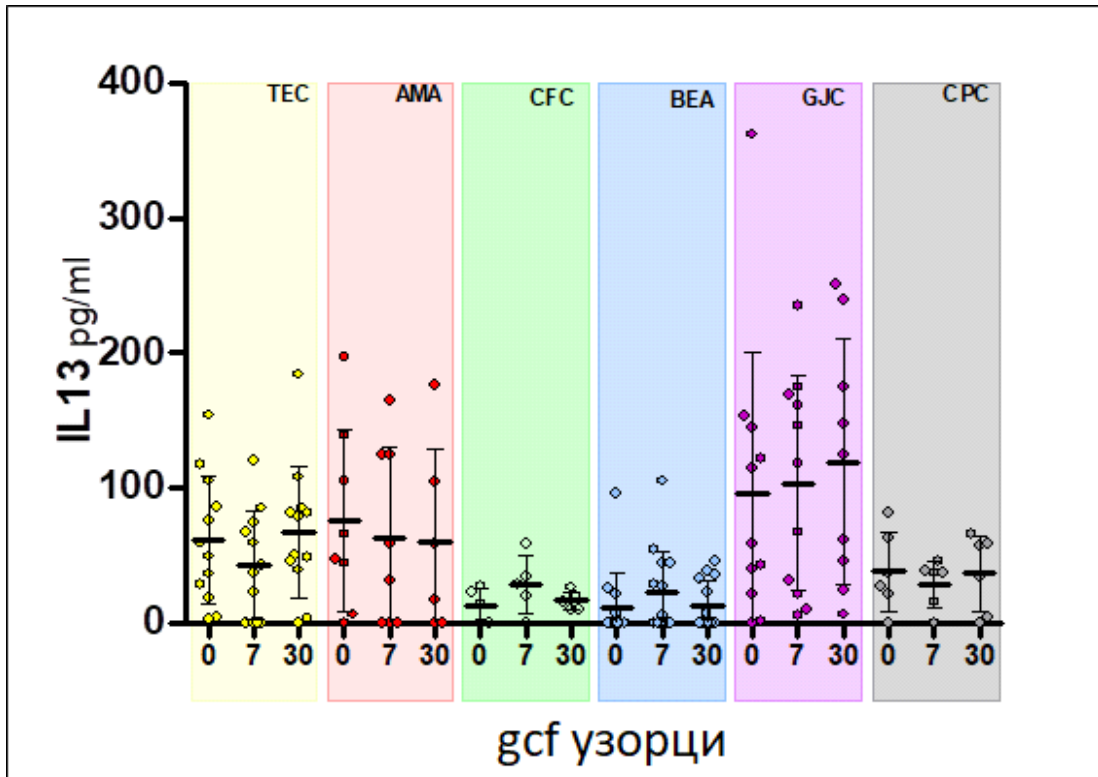
Графикон 3.4.5.



Вредности IL-10 у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IL-10 одредили смо у узорцима GCF пацијената рестаурираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Највеће просечне вредности IL-10 детектоване су у узорцима GCF зуба третираних CPC врстом денталног материјала, нарочито тридесетог дана узорковања.

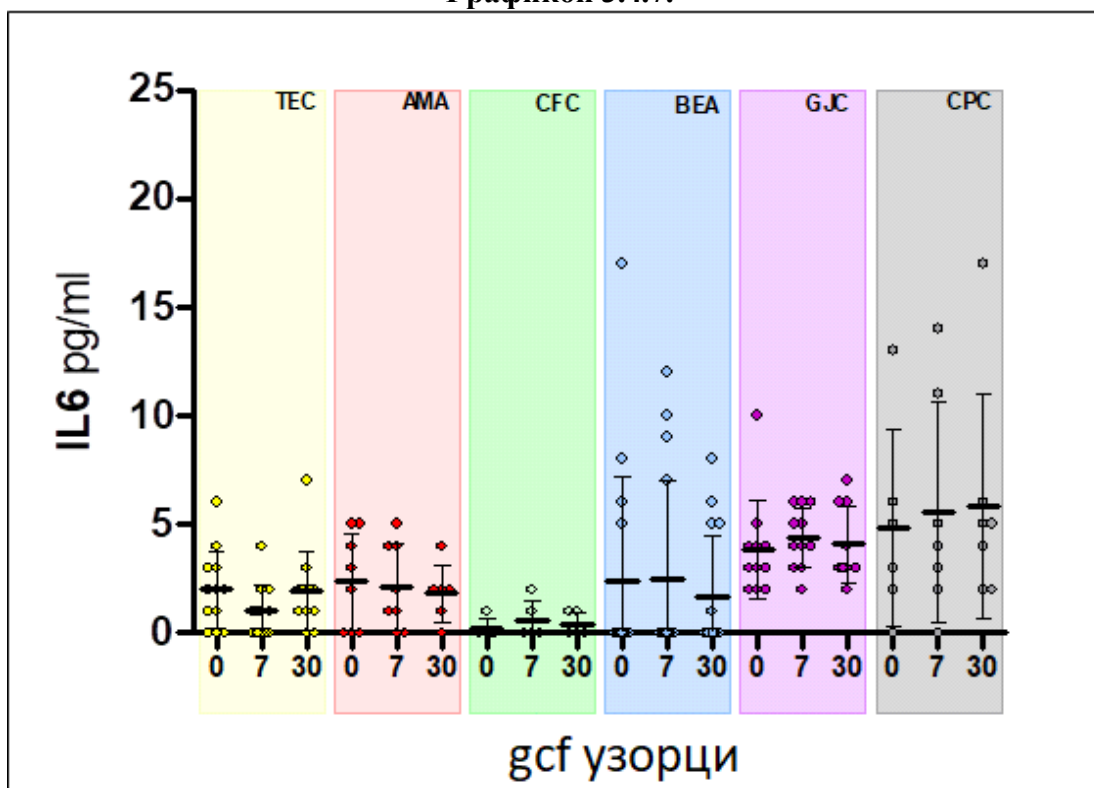
Графикон 3.4.6.



Вредности IL-13 у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IL-13 одредили смо у узорцима GCF пацијената рестаурираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Највеће просечне вредности IL-13 детектоване су у узорцима GCF зуба третираних GJC врстом денталног материјала, седмог и тридесетог дана узорковања.

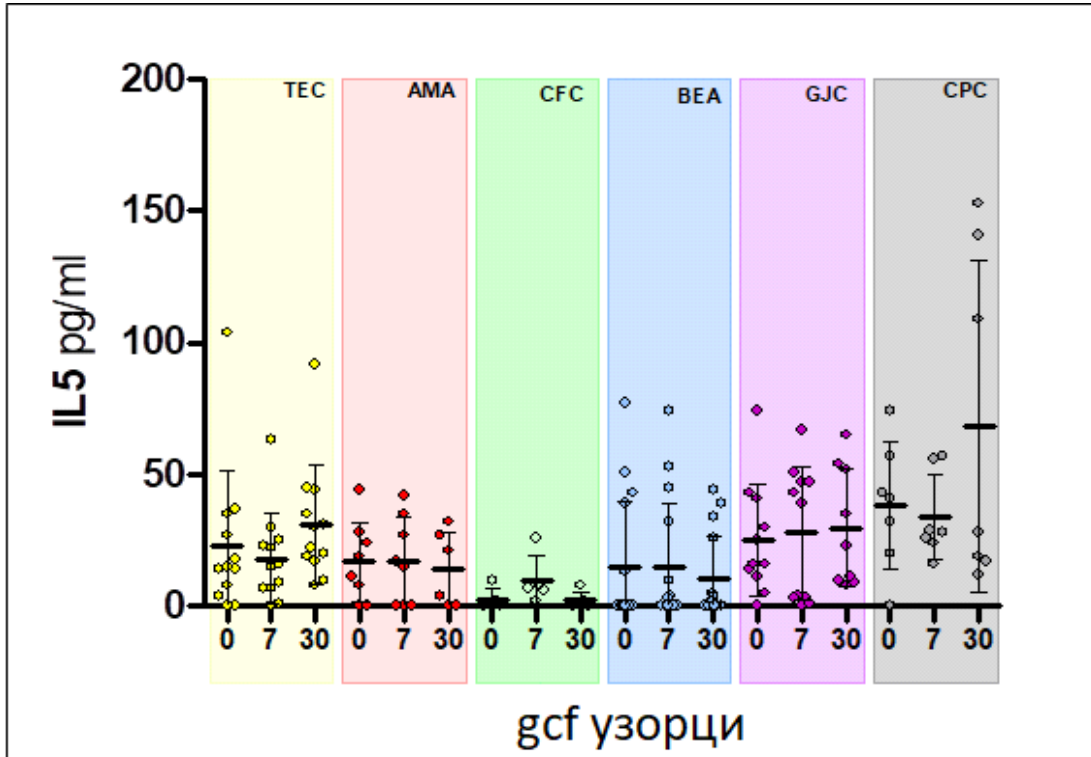
Графикон 3.4.7.



Вредности IL-6 у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IL-6 одредили смо у узорцима GCF пацијената рестаурираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Највеће просечне вредности IL-6 детектоване су у узорцима GCF зуба третираних CPC врстом денталног материјала, седмог и тридесетог дана узорковања.

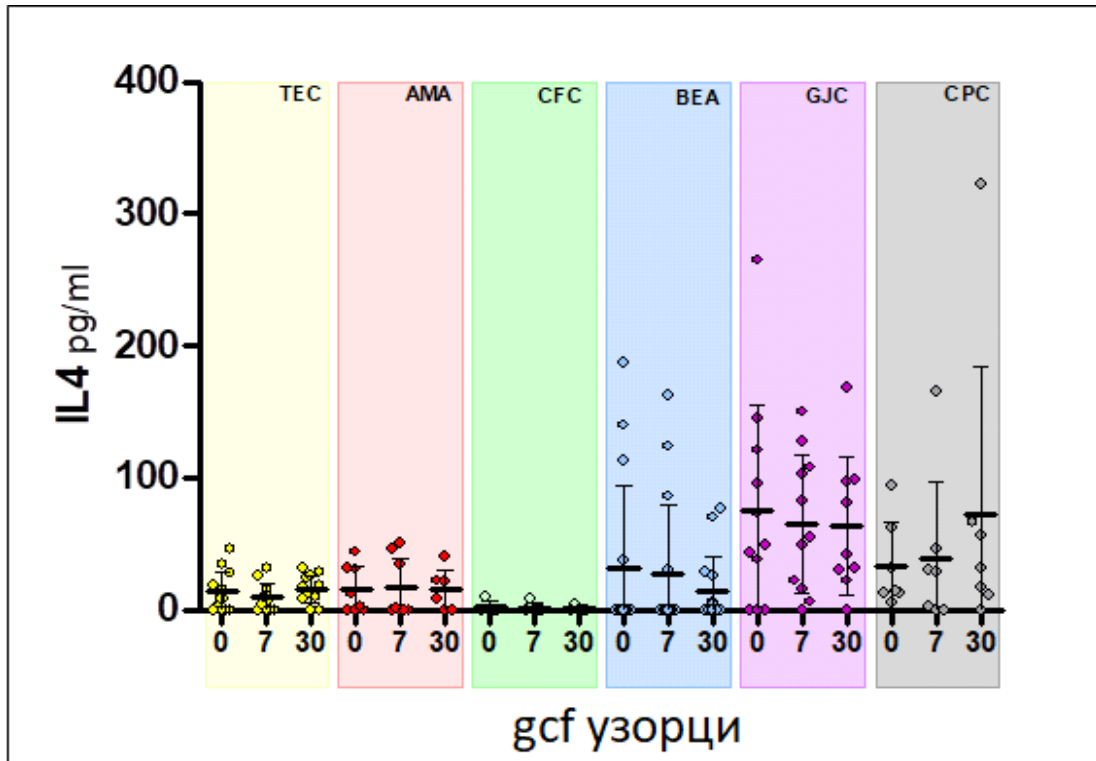
Графикон 3.4.8.



Вредности IL-5 у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IL-5 одредили смо у узорцима GCF пацијената рестаурираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Највеће просечне вредности IL-5 детектоване су у узорцима GCF зуба третираних CPC врстом денталног материјала, нарочито тридесетог дана узорковања.

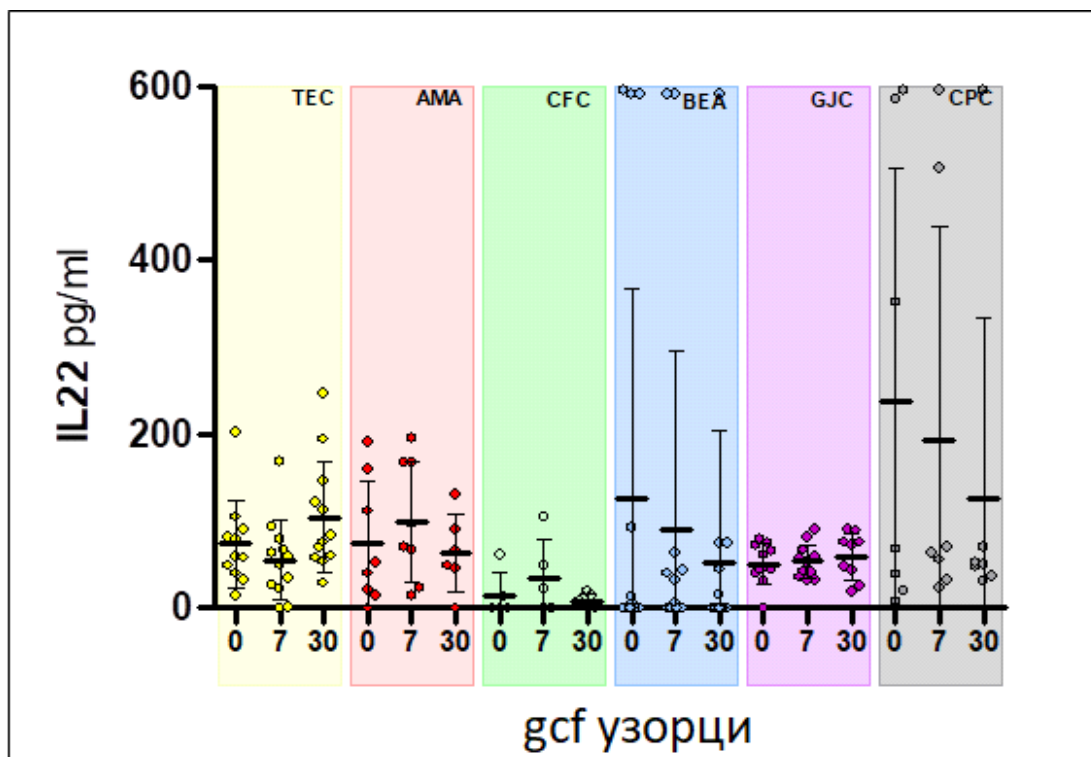
Графикон 3.4.9.



Вредности IL-4 у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IL-4 одредили смо у узорцима GCF пацијената рестаурираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Највеће просечне вредности IL-4 детектоване су у узорцима GCF зуба третираних CPC врстом денталног материјала, нарочито тридесетог дана узорковања.

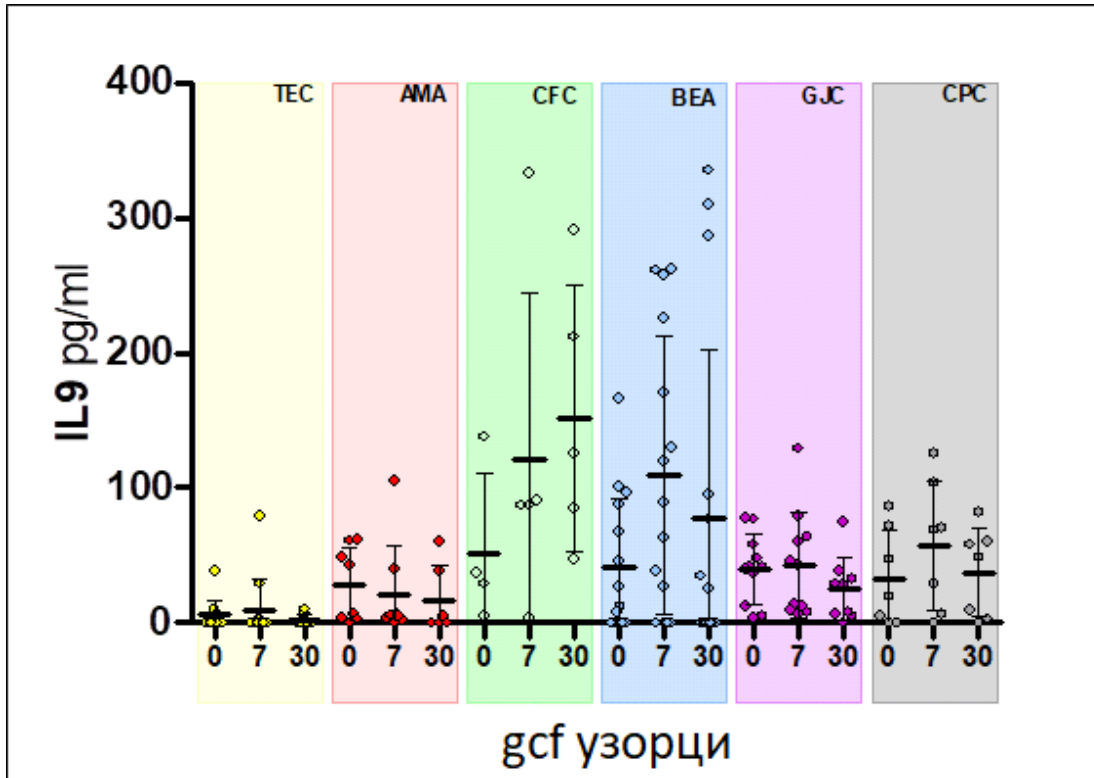
Графикон 3.4.10.



Вредности IL-22 у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IL-22 одредили смо у узорцима GCF пацијената рестаурираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Највећи пад просечних вредности IL-22 детектован је у узорцима GCF зуба третираних CPC и BEA врстом денталног материјала, нарочито тридесетог дана узорковања.

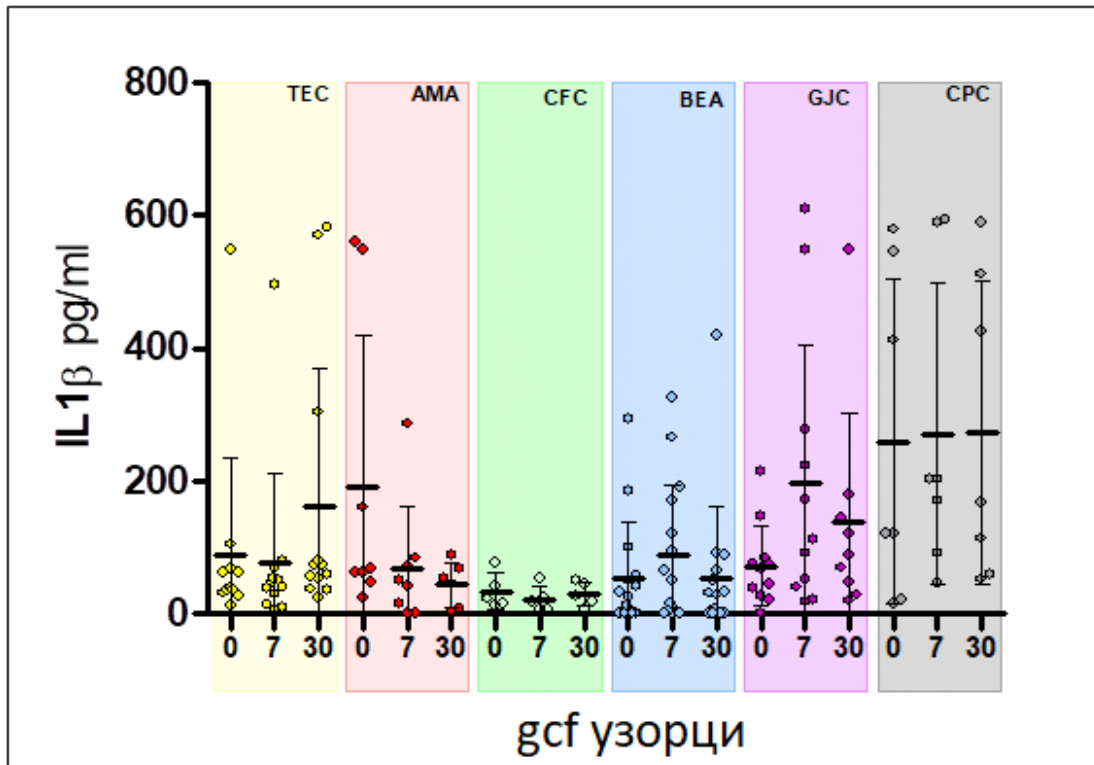
Графикон 3.4.11.



Вредности IL-9 у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IL-9 одредили смо у узорцима GCF пацијената рестаурираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Највеће просечне вредности IL-9 детектоване су у узорцима GCF зуба третираних CFC врстом денталног материјала, седмог и тридесетог дана узорковања, док је у узорцима GCF зуба третираних BEA врстом денталног материјала највећа просечна вредност детектована седмог дана узорковања.

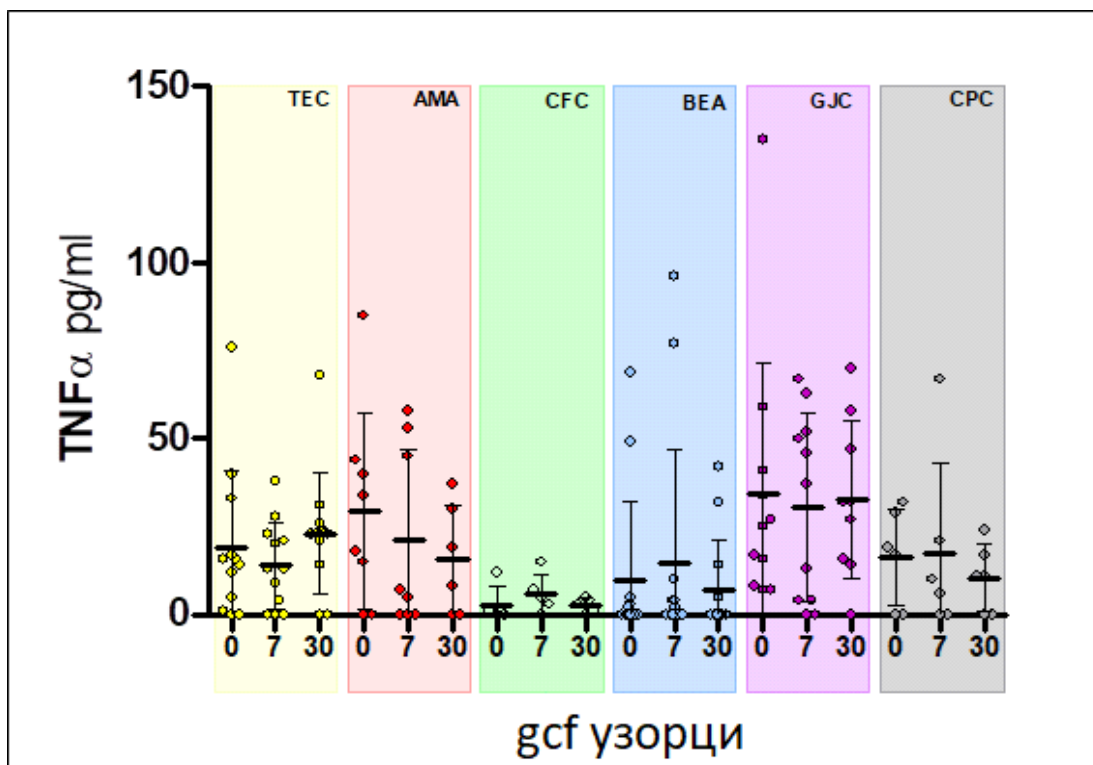
Графикон 3.4.12.



Вредности IL-1 β у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности IL-1 β одредили смо у узорцима GCF пацијената рестаурираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Највеће просечне вредности IL-1 β детектоване су у узорцима GCF зуба третираних CPC врстом денталног материјала, нарочито тридесетог дана узорковања, док је у узорцима GCF зуба третираних GJC врстом денталног материјала највећи раст просечне вредности детектован седмог дана узорковања.

Графикон 3.4.13.



Вредности TNF- α у односу на врсту материјала за денталне испуне и дан узорковања

Вредности TNF- α одредили смо у узорцима GCF пацијената рестаурираних предвиђеним материјалима за денталне испуне, у три временска термина. Нису детектоване значајније статистичке разлике међу испитиваним групама.

3.5. ГИНГИВАЛНИ ИНДЕКС, ИНДЕКС КРВАРЕЊА ГИНГИВЕ, ПЛАК ИНДЕКС И ДУБИНА ГИНГИВАЛНОГ СУЛКУСА И ВРЕДНОСТИ ЦИТОКИНА У GCF

3.5.1. Гингивални индекс и концентрација цитокина у GCF

На основу одређених вредности гингивалног индекса (GI) испитаници су подељени у четири групе. Просечне вредности испитиваних цитокина су приказане на табели 3.5.1.

Највеће просечне вредности IL-2 нађене су у узорцима, где је вредност GI износила 0. Није било статистички значајних разлика међу групама са различитим GI. Највеће вредности IL-12 су одређене у групи са најмањим вредностима GI и нађена је статистички значајна разлика у односу на остале групе испитаника, са вредностима GI 1 и 2. Највеће вредности IFN- γ се налазе у групи са вредностима GI 1 и постоји статистички значајна разлика у односу на вредности GI осталих група.

Највеће вредности IL-17 детектоване су у групи са вредностима GI 0, где није нађена статистички значајна разлика у односу на преостале групе. Највеће вредности IL-4 су забележене у групи са највећим вредностима GI 2. Значајно веће вредности IL-4 су забележене у групи испитаника где је GI 2 у односу на групу где GI износи 1. Највеће

вредности IL-5 нађене су у групи испитаника где је GI 2 групи и не постоји статистички значајна разлика у односу на остале две групе. Вредности IL-6 су исте у свим групама GI.

Највеће вредности IL-10 су забележене у групи испитаника где је GI 0 и у односу на остале групе, значајно су статистички веће. Највеће вредности IL-9 су нађене у групи GI са вредношћу 1 уз статистички значајну разлику у односу на испитанике група где су GI 0 и GI 2. Највеће вредности IL-13 забележене су у групи са највећим GI али нема статистички значајне разлике.

Највеће вредности IL-22 су такође забележене у групи испитаника са вредношћу GI 2, без статистички значајне разлике у односу на остале групе. Највеће вредности IL-1 β , нађене су у групи испитаника са GI 2, и није нађена статистичка значајност у односу на остале групе. Највеће вредности TNF- α су забележене у испитиваној групи са вредношћу GI 2, без постојања статистички значајних разлика у односу на остале групе испитаника.

Табела 3.2.6
Просечне вредности цитокина у GCF (pg/uL) у односу на GI (x±SD)

GI	0	1	2	3
IL2	16± 13	5± 1	4± 1	2± 2
IL12	25± 17	6± 3	7± 1	5± 0
IFNγ	4± 3	5± 6	0 ± 0	0 ± 0
IL17	2± 0	1± 0	1± 0	0 ± 0
IL4	12± 11	17± 16	41± 7	2± 0
IL5	46± 25	44± 39	58± 35	22± 13
IL6	4± 2	3± 4	2± 2	0 ± 0
IL10	10± 10	8±7	7± 5	4± 2
IL9	48± 9	66± 12	39± 11	24± 12
IL13	116± 9	117± 14	57± 12	24± 12
IL22	32± 43	22± 36	15± 17	13± 7
IL1β	108± 39	115± 52	99± 12	56± 32
TNFα	22± 13	22± 12	44± 11	2± 0

3.5.2. Дубина гингивалног сулкуса и концентрација цитокина у GCF

Према одређеним вредностима дубине гингивалног сулкуса, испитаници су подељени у четири групе (табела 3.5.2). Просечне концентрације IL-2 показују највише вредности у групи која има дубину гингивалног сулкуса 2 mm. Мање вредности се бележе у групи са DGS 1 и 3 mm и више али нема статистички значајне разлике.

IL-12 и IFN- γ имају ниске вредности у свим групама, али IL-12 показује највеће вредности у групи испитаника са DGS 2 mm и више, док IFN- γ има највеће концентрације у групи где је вредност DGS 1 mm. Сличну дистрибуцију концентрација има и IL-17, али највеће вредности детектују се у групи испитаника, где је DGS 2 mm.

IL-4 и IL-5 показују релативно веће концентрације и највећи пик показују у групи испитаника где су DGS 2 mm и 3 mm.

Вредности **IL-6** су ниске у свим групама, а највећу вредност имају у групи где је DGS 3 mm.

Такође су ниске вредности одређене за **IL-10**, који има пик код групе са вредношћу DGS 2 mm. Вредности IL-9 расту значајно у групи испитаника са вредностима DGS до 3 mm, а затим опадају како се дубина гингивалног сулкуса повећава преко 3 mm. Постоји статистички значајна разлика групе са вредностима DGS 3 mm у односу на остале испитиване групе.

Вредности **IL-13** су највише у групи испитаника где је DGS 2 mm, а значајна разлика се бележи у групи испитаника DGS чије су вредности више од 3 mm.

IL-22 показује релативно високе вредности које постижу пик у групи испитаника DGS од 2 mm.

IL-1 β постепено повећава раст концентрације са повећањем DGS достижући 3,5 пута веће концентрације код испитаника DGS чије су вредности веће од 3 mm у односу на групу са најмањим вредностима DGS.

TNF- α прави oscilacije u vrednostima u odnosu na DGS, a najveće koncentracije se prezentuju u grupi sa najvećom DGS.

Табела 3.2.7

Вредности цитокина у GCF (pg/uL) у односу на DGS

DGS	1 mm	2 mm	3 mm	> 3mm
IL2	9± 13	10± 10	7± 1	6± 1
IL12	1± 0	3± 3	3± 0	0 ± 0
IFN γ	5± 3	3± 2	0 ± 0	0 ± 0
IL17	4± 2	5± 3	4± 2	2± 1
IL4	12± 6	45± 12	31± 10	17± 6
IL5	7± 3	20± 9	18± 6	8± 4
IL6	1± 0	2± 1	2± 2	1± 0
IL10	5± 4	8±7	7± 6	0 ± 0
IL9	54± 29	62± 12	149± 41	44± 27
IL13	56± 39	87± 14	65± 52	22± 6
IL22	92± 43	188± 36	105± 37	64± 22
IL1 β	78± 39	107± 52	159± 12	289± 52
TNF α	42± 13	55± 12	35± 13	84± 11

3.5.3. Индекс крварења гингиве и концентрација цитокина у GCF

Према одређеним скоровима индекса крварења гингиве испитаници су подељени у четири групе.

Највеће вредности у групи IKG са скором 0, имали су IL-10 и TNF- α . У групи испитаника, IKG где је скор 1 највеће вредности су забележене код цитокина IL-17, IL-5 и IFN- γ . Цитокини IL-2, IL-12, IL-4, IL-6, IL-9, IL-13, IL-22 и IL-1 β највећи пик вредности су постигли у групи IKG са скором 2.

Статистички значајне разлике су нађене међу групама KII/KIII код IL-9 и IL-13.

Табела 3.2.8
Вредности цитокина у GCF (pg/uL) у односу на ИКГ

ИКГ	0	1	2	3
IL2	9 ± 3	8 ± 1	10 ± 5	5 ± 4
IL12	5 ± 1	6 ± 3	7 ± 1	2 ± 2
IFNγ	5 ± 3	5 ± 6	3 ± 2	1 ± 0
IL17	3 ± 0	2 ± 0	1 ± 0	0 ± 0
IL4	32 ± 11	37 ± 16	48 ± 37	21 ± 0
IL5	36 ± 15	44 ± 9	25 ± 3	25 ± 13
IL6	4 ± 3	4 ± 4	2 ± 2	2 ± 1
IL10	15 ± 10	8 ± 7	7 ± 5	1 ± 1
IL9	38 ± 19	61 ± 12	78 ± 41	41 ± 24
IL13	86 ± 29	77 ± 34	144 ± 22	67 ± 34
IL22	33 ± 13	45 ± 16	65 ± 37	31 ± 17
IL1β	48 ± 39	57 ± 52	59 ± 12	44 ± 15
TNFα	25 ± 11	14 ± 10	14 ± 9	13 ± 10

3.5.4. Вредности цитокина у GCF и плак индекс

На основу одређених плак индекса (PI) код испитаника, направили смо четири групе у односу на вредности плак индекса.

Највеће просечне вредности цитокина IL-2, IFN- γ , IL-17, IL-4, IL-5 и IL-13 у гингивалној сулкусној течности су измерене у узорцима са највећим степеном плак индекса, PI који износи 3. IL-12 достиже пик просечних вредности у групама PI са вредностима 0 и 3. Највеће просечне вредности у испитиваним групама PI са вредностима 1 и 2 имали су цитокини IL-6, IL-10, IL-9. IL-22 и IL-1 β , док су највеће просечне вредности TNF- α биле у групи измереног PI са вредношћу 2.

Статистички значајна разлика у просечним концентрацијама цитокина између група нађена је за IL-2 (PI 3/0), IL-4 (PI 3/0 и 3/2), IL-5 (PI 3/0), IL-13 (PI 3/0) и TNF- α (PI 2/0).

Табела 3.2.9
Просечне вредности испитиваних цитокина (pg/uL)
у односу на плак индекс ($\bar{x} \pm SD$)

PI	0	1	2	3
IL2	1 ± 1	8 ± 2	8 ± 3	13 ± 7
IL12	28 ± 14	15 ± 6	17 ± 9	28 ± 14
IFNγ	0 ± 0	4 ± 5	0 ± 0	5 ± 2
IL17	0 ± 0	3 ± 0	2 ± 1	4 ± 2
IL4	18 ± 11	39 ± 16	22 ± 8	72 ± 34
IL5	18 ± 6	34 ± 12	29 ± 13	50 ± 14
IL6	0 ± 0	1 ± 0	2 ± 0	0 ± 0
IL10	4 ± 1	8 ± 5	7 ± 2	4 ± 1
IL9	9 ± 9	50 ± 15	45 ± 18	39 ± 27
IL13	15 ± 9	80 ± 34	75 ± 22	135 ± 55
IL22	9 ± 5	12 ± 6	11 ± 7	2 ± 0
IL1β	13 ± 13	24 ± 2	17 ± 12	10 ± 7
TNFα	10 ± 13	24 ± 10	32 ± 11	43 ± 11

4. ДИСКУСИЈА

4.1. УТИЦАЈ СТЕПЕНА ОШТЕЋЕЊА ЗУБНОГ ТКИВА НА ЛОКАЛНИ ИМУНСКИ ОДГОВОР

У процесу локалног запаљења денталне пулпе узроковане каријесним променама или јатрогеним узроцима, главну улогу имају бактерије оралне флоре и иритација пулпе - дентинске границе (1). Бактеријски нуспродукти дифундују у денталне тубуле и периферни део пулпе покрећући низ каскадних реакција које доводе до развоја локалне имунске реакције и запаљења.

Инфламаторни одговор пулпе на каријесну или јатрогену иритацију подразумева активацију бројних имунских и неимунских ћелија у којима настаје индукована синтеза различитих проинфламаторних цитокина. Процес деминерализације дентина у току каријеса доприноси ослобађању биоактивних молекула из дентинског матрикса, дентин – сијалофосфопротеина, који учествују у репараторним процесима пулпе, трансформишући мезенхималне ћелије пулпе у одонтобласте. (13). Дуже присуство микроорганизама слабије вируленције, узрокује развој хроничне инфламације која може довести до некрозе и гангрене пулпе и ширења инфекције у периапексну регију (9). Приликом развоја инфламације долази до повећања концентрације проинфламаторних цитокина у пулпи у односу на ниво истих цитокина у здравој пулпи. Након оштећења денталне пулпе одређене ћелије бивају активирани на повећану продукцију цитокина који су важни за иницијацију и контролисање инфламаторног процеса. У раду Silva и сар. је осим локалног мерења цитокина и имунохистохемијским методама показано да у узорцима пулпе са пулпитисом постоји повећана вредност за IL-1 β и IL-8 у односу на здраво ткиво (77).

Предуслов успешне примене рестауративних материјала јесте да су биокомпатибилни, да задовољавају функционални и естетски моменат. У клиничкој пракси и научној литератури, говори се и о неуспесима насталим након конзервативне рестаурације што иде у прилог лоше постављеним индикацијама и избору материјала, непоштовању упутства произвођача. (42).

Иако постоје многи параметри за процену стања пародонталних ткива, најчешће се користе гингивални индекс (GI), плак индекс (PI), дубина гингивалног сулкуса (DGS) и индекс гингивалног крварења (IKG). Анализом степена каријеса и наведених клиничких параметара оралне хигијене, у многим студијама је показано да је већи степен каријеса повезан са већим вредностима плак индекса, гингивалног индекса, индекса гингивалног крварења и са већом дубином гингивалног сулкуса.

Досадашња истраживања су показала да је инфламација повезана са повећаним нивоима различитих инфламаторних медијатора (85). Испитивања других показала су постојање корелације између повећаних вредности гингивалног индекса и виших вредности проинфламаторних цитокина са једне стране, као и смањених вредности антиинфламаторних цитокина са друге стране (78). Наши резултати нису у потпуности сагласни са литературним подацима. Наиме, највише вредности гингивалног индекса детектовали смо код група испитаника KIII и KIV. Измерена дубина гингивалног сулкуса код група KIII и KIV била је 3 mm, где је степен оштећења каријесом био велики.

Продукција проинфламаторних цитокина је сложен процес у ком основну улогу имају одонтобласти, макрофаги, дендритске ћелије, фибробласти, кератиноцити и Т ћелије.

Бројне *in vitro* студије су такође показале да одонтобласти производе проинфламаторне цитокине и хемокине (23). Након деминерализације дентина каријесом, незреле дендритске ћелије се акумулирају у раној фази на граници дентин-пулпа. Одонтобласти продукују β -дефензин и азот моноксид који индукују синтезу IL-6, IL-1 α и TNF- α (20).

Макрофаги фагоцитишу бактерије и активирају Т ћелије које покрећу адаптивни имунски одговор који је омогућен активацијом дендритских антиген презентујућих ћелија. Дендритске ћелије привучене хемокинима које продукују одонтобласти мигрирају у регионалне лимфне нодусе и ту активирају CD4+ Т ћелије у ефекторске CD4+ Т помоћне ћелије или индуковане регулаторне Т (iTreg) ћелије (13). Повећани нивои проинфламаторних цитокина имају низ регулаторних функција укључујући регрутовање лимфоцита, екстравазацију, активацију, диференцијацију и производњу антитела. Улоге цитокина, IL-1 α , IL-1 β и TNF- α , посебно су окарактерисане у организацији имунског одговора у пулпи код гнојних пулпитиса и гангрена (28). Компоненте дентина које су ослобођене дејством бактеријске киселине током процеса деминерализације доприносе повишеним нивоима запаљенских медијатора. Такође су нађени повишени нивои и других цитокина укључујући IL-4, IL-6, IL-8 и IL-10 у ткиву пулпе, у присуству каријеса (13). Ови цитокини су одговорни и за развој ирверзибилног пулпитиса.

На основу истраженог произилази да величина и трајање каријесног процеса рефлектују ниво инфламаторних цитокина у GCF. Студија Farges и сар. је показала да би узорци GCF око зуба захваћеним каријесом могли имати важну улогу у процени акутног пулпитиса (15). Ниво IL-8 у GCF се показао као осетљив биолошки маркер инфламације, који је у великој мери повезан са пулпитисом и субјективним осећајем бола.

Значај пораста нивоа цитокина IL-1 α , IL-1 β и TNF- α , је испитан у многим студијама и утврђена је повезаност њихове високе концентрације са степеном оштећења зубног ткива (13). У литератури не постоје подаци о повезаности IL-9, IL-22, и IL-17 са степеном оштећења зубног ткива каријесом. Новија студија сугерише да би активност IL-10 могла да ограничи ширење инфламације у пулпи која је иницијално ограничена на границу дентина и пулпе код раних лезија дентина изазваних каријесом (74).

Наше истраживање је базирано на мерењима профила цитокина IL-2, IL-12, IFN- γ , IL-17, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-9, IL-13, IL-22, IL-1 β и TNF- α за које је показано да би могли бити биомаркери запаљења као и репараторних, процеса зависно од функције и порекла цитокина.

Иницијални урођени одговор домаћина представља реакцију на присуство патогена и обухвата препознавање микробиолошких компонената липополисахарида (LPS) и продукцију инфламаторних медијатора као што су цитокини, хемокини и матриксне металопроотеиназе (MMPs). Важна карактеристика овог одговора домаћина је константно ослобађање инфламаторних медијатора, хемокина и цитокина (79). Ови цитокини имају комплексне функције и показују различите профиле и међусобне интеракције у склопу локалног имунског одговора у денталним ткивима, па смо их стога пратили у нашем истраживању. Уједно су праћени и степени оштећења зубног ткива каријесом као и индикатори запаљенских и репараторних процеса.

Истражили смо и корелацију са клиничким параметрима, плак и гингивалним индексом, индексом гингивалног крварења и дубином гингивалног сулкуса.

У нашој студији праћењем нивоа цитокина различитих профила у GCF у три временска интервала, нађено је да пре терапије денталним испунима у узорцима GCF постојао је највећи пораст просечних вредности IL-2, IFN- α и IL-4 код испитаника KIII групе нултог дана. У узорцима GCF испитаника групе KIV детектовали смо највеће просечне вредности IL-9. Испитаници KV групе имали су највеће просечне вредности IL-12, IL-5, IL-10, IL-13, IL-22, IL-1 β и TNF- α , што се могло и очекивати.

Седмог дана по пласирању денталних испуна, у узорцима GCF испитаника KIII групе детектовали смо највеће просечне вредности IL-12, IL-4, IL-6 и TNF- α . У узорцима GCF у групи KIV испитаника, детектовали смо највеће просечне вредности IL-9. У узорцима GCF KV групе, детектовали смо највеће просечне вредности IL-2, IL-12, IL-5, IL-10, IL-13, IL-22 и IL-1 β .

Тридесет дана по пласирању денталних испуна у узорцима GCF KIII групе, највеће концентрације показали су IL-2, IFN- γ , IL-4, IL-22, IL-1 β и TNF- α . У узорцима GCF испитаника KIV групе детектовали смо највеће просечне вредности IL-12 и IL-9. У узорцима GCF испитаника са KV степеном каријеса детектовали смо највеће просечне вредности IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13. Уочава се да су проинфламаторни цитокини које продукују Th1 линије ћелија, IL-2, IFN- γ , IL-1 β и TNF- α највише повезани са запаљенским процесима пулпе (KIII), док су цитокини који имају регулаторни карактер и потичу од Th2 ћелија, IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13 повећани у лезијама KV степена, у узорцима лечених зуба. Ово доказује улогу Th2 ћелија и њихових продуката у репараторним процесима у зубним ткивима. Студија је показала да супстанце које се ослобађају у току деструкције дентина стимулишу продукцију антиинфламаторних цитокина, IL-5, IL-6, IL-10 и IL-4 (80).

У току инфекције и чврстих и меких ткива зуба и напредовања каријеса, ремети се равнотежа проинфламаторних и антиинфламаторних цитокина. Проинфламаторни цитокин IL-1 β је значајан за напредовање локалног запаљења и индукује активацију многих имунских ћелија уз стимулацију ресорпције кости (81). Посебну улогу овај цитокин има у миграцији неутрофила који прогресивно убрзавају инфламацију на локалном нивоу. Наша истраживања су указала на значајан пораст цитокина Th1 групе IL-2, IFN- γ као и њима сродних, кључних проинфламаторних цитокина IL-1 β и TNF- α у инфламаторним лезијама.

Истраживања (36, 82) показују антиинфламаторне улоге IL-5, IL-6, IL-10 и IL-4. IL-10 је значајан регулатор имуносупресије антигеном стимулисане синтезе цитокина. IL-10 минимизира развој Th1 одговора у локалној инфламацији инхибирајући секрецију и активност IL-1 β и TNF- α , док с друге стране промовише Th2 ћелијски одговор и продукцију антиинфламаторних цитокина (78). Показано је да локална продукција IL-10 доводи до смањења нивоа проинфламаторних цитокина IL-2, IL-6, IL-1 β , IL-12 (13).

Један од регулатора процеса ремоделирања кости, током рестауративних третмана је и IL-6 (83). Недавно добијени резултати испитивања односа IL-6 у здравој гингиви су показала да гингивални фибробласти конститутивно експримирају неколико остеотропних цитокина укључујући и сам IL-6, а да ту експресију стимулишу IL-1 и TNF- α , али различитим молекулским механизмима. Улога IL-6 као антиинфламаторног цитокина је посредована путем његових инхибиторних ефеката на IL-1 и TNF- α , и активацију IL-10. Међутим, студије показују да овај цитокин може да искаже и проинфламаторна дејства (83).

У нашој студији је нађена повећана концентрација IL-6 код пулпитиса. Значај улоге IL-6 и IL-12 у индукцији коштане ресорпције показала је студија Kunli-ja, 2013 (84).

IL-4 и IL-5 настају стимулацијом групе Th2 ћелија и значајни су у регулацији многих запаљенских и алергијских реакција. Анализом експресије iRNK цитокина у пулпи контролних, плитких и дубоких каријесних лезија откривено је да је IFN- γ iRNK генерално присутна у плитким лезијама, док iRNK за IL-4 и IL-1 није присутна, у каријесним лезијама (85).

IFN- γ је димеризовани растворљиви цитокин, који је одговоран за урођене и адаптивне имунске реакције против вирусних, бактеријских и протозоалних инфекција. За разлику од неколико студија које описују улогу IFN- γ у имунском одговору, новија истраживања су показала да је IFN- γ потребан за остеогеничку диференцијацију мезенхималних матичних ћелија (13). Показано је да је IFN- γ при релативно високој концентрацији (100 ng/mL) побољшао поремећене дентиногене и имunosупресивне регулаторне функције недиферентованих мезенхималних ћелија пулпе након пулпитиса (86).

4.2. УТИЦАЈ ПЛАК ИНДЕКСА, ГИНГИВАЛНОГ ИНДЕКСА И ДУБИНЕ ГИНГИВАЛНОГ СУЛКУСА НА ЛОКАЛНИ ИМУНСКИ ОДГОВОР

У влажењу усне дупље учествује и гингивална течност. Као и пљувачка и гингивална течност представља извор хранљивих материја, различитим врстама микроорганизама усне дупље. GCF садржи и компоненте домаћинове, неспецифичне и специфичне имунске одбране. Сулкусна течност, слично пљувачци, доприноси физичком одстрањивању неадхерисаних бактеријских ћелија, а присуство имуноглобулина, као и неких супстанци неспецифичног хуморалног имунитета којима је сулкусна течност богата, умногоме доприноси заштити гингивалног сулкуса.

Дубина гингивалног сулкуса, примењује се у пракси и истраживањима, у циљу дијагностике и прогнозе обољења пародонталних ткива. У комбинацији са праћењем нивоа цитокина и њихових профила у гингивалној сулкусној течности, DGS може допринети раној дијагностици обољења гингиве. Повећање дубине гингивалног сулкуса указује и на почетак ресорпције алвеоларне кости, а итoвремено прати удруженост повећаних вредности IL-1 β , TNF- α , IL-2 и IFN- γ (13), док су значајно велике концентрације IL-4 и IL-10 забележене код DGS преко 3 mm. Већина истраживача је као кључне факторе деструкције кости издвојила цитокине IL-1 β , TNF- α и IL-6 (13, 80). Lee и сарадници су показали да су знатно веће концентрације IL-1 β нађене код гингивалних сулкуса дубљих од 3 mm (87).

У нашој студији је нађено да просечне концентрације IL-2, IL-12, IL-17, IL-6, IL-13, IL-1 β , IL-22, IL-9, TNF- α , IL-4 и IL-5 прате просечне DGS. IFN- γ има највеће концентрације у групи испитаника са DGS чија је вредност 1 mm. Вредности IL-9 расту значајно са порастом дубине DGS до 3 mm, а затим опадају како се дубина гингивалног сулкуса повећава преко 3 mm. IL-1 β постепено повећава раст концентрације са повећањем DGS достижући 3,5 пута веће концентрације при DGS већом од 3 mm у односу на групу са најмањом DGS. TNF- α показује највише вредности у групи испитаника где је измерена навећа DGS.

Једно од предилекционих места за акумулацију денталног плака је врат зуба, у непосредном контакту са гингивом и гингивалним сулкусом. Дентални плак и микроорганизми који га насељавају, фаворизујући су фактори за настанак каријеса и

инфламацију гингиве. На акумулираном денталном плаку развијају се колоније микроорганизама, градећи биофилм. Биофилм је важан етиолошки фактор у развоју каријеса и пулпитиса. Теорију биофилма поставили су Costerton и сар. 1978. године и дефинисали га као структурну заједницу бактеријских ћелија које су уклопљене у полимерни матрикс који делимично саме продукују, а делом је сачињен од мукополисахарида и гликопротеина пљувачке (1). Код здравих особа постоји равнотежа односа имунских механизма који омогућавају валидну имунску хомеостазу и заштиту од инфекције и инфламације. Штетни продукти бактерија денталног плака доводе до поремећаја равнотеже ако су удружени са другим, фаворизујућим факторима.

Недавно, студијама је показано да је мала количина денталног плака повезана са високим концентрацијама IL-10, IL-6, IL-2 и TNF β (88). Формирање денталног плака и присуство инфламације је удружено са повећаним концентрацијама IL-4, IL-5 и IFN- γ (84). У нашем истраживању значајно су биле повишене концентрације IL-2, IFN- γ , IL-17, IL-4, IL-5 и IL-13 код PI највишег степена са израженим денталним плаком. С друге стране концентрације IL-6, IL-10, IL-9, IL-22 и IL-1 β су показале највеће просечне вредности код нижих вредности плак индекса. Просечне вредности IL-6 су имале постепено раст са порастом дебљине плака. Највеће просечне вредности TNF- α биле су присутне код испитаника, код којих су вредности PI износиле 2. Објашњење би могли потражити у чињеници да плак индекс као индикатор оралне хигијене и потенцијалне инфламације прати и ниво гингивалног индекса који је бољи показатељ инфламације пародонталног ткива. Очекује се да повећањем денталног плака и инфламације, расту и просечне вредности проинфламаторних цитокина. То је показано за IFN- γ , али не и за IL-1 β који не показује значајно статистичку разлику у промени просечних концентрација у односу на дебљину денталног плака.

Пораст вредности гингивалног индекса прати степен инфламације денталног ткива, тако да је нађена повезаност пораста овог индекса са порастом просечних вредности IL-1 β , IL-4, IL-5, IFN- γ и IL-6 (13). Посебно се истиче улога IL-1 β и IL-6 у процесу напредовања деминерализације кости активацијом остеокласта. У нашем истраживању вредности IL-1 β , TNF- α , IL-4, IL-5, IL-13 и IL-22 су забележене у највишим вредностима GI док су са нижим скором GI корелирале IL-2, IL-12, IFN- γ , IL-17, IL-10 и IL-9. IL-6 није показивао значајне варијације у односу на промену скорa GI.

Индекс гингивалног крварења (IKG) је такође индикатор инфламације и оралне хигијене. Ранијим истраживањима показано је да унапредовале апроксималне каријесне лезије, прате веће вредности индекса крварења гингиве (89). Наше истраживање је показало да су највеће вредности у групи IKG са скором 0 имали IL-10 и TNF- α . У групи IKG са вредношћу скорa 1, највише вредности су забележене код цитокина IL-17, IL-5 и IFN- γ . Цитокини IL-2, IL-12, IL-4, IL-6, IL-9, IL-13, IL-22 и IL-1 β , највећи пик у вредности су постигли у групи IKG са скором 2. Статистички значајне разлике су нађене међу групама КII / КIII код IL-9 и IL-13. Скорашње студије су показале да је нижа концентрација IL-10 повезана са најнижим вредностима индекса крварења код групе КIII док су концентрације IFN- γ и IL-1 β пратиле више вредности IKG (90).

4.3. УТИЦАЈ ВРСТЕ ДЕНТАЛНИХ МАТЕРИЈАЛА

Композитни материјали као сложени молекули који имају тродимензионалну структуру, сачињену од најмање две хемијски различите компоненте, органске (смоле) и

неорганске (пунила) повезане органско-неорганским једињењем (силаном) различит однос органске и неорганске компоненте могу бити један од узрока настанка полимеризационе пукотине (40).

Нема података о директном утицају појединих композитних материјала на продукцију цитокина.

Инфламаторни цитокини, као што су IL-1 β , IL-6 и TNF- α , присутни су у ниским концентрацијама и у клинички здравим гингивалним ткивима, што говори о томе да су цитокини укључени у нормалну хомеостазу ткива (13). У воденом окружењу, композити апсорбују воду и ослобађају невезане мономере. Ослобађање невезаних мономера из смоле композита може стимулирати раст бактерија око испуна. Они могу фаворизовати иницијацију гингивитиса, олакшавајући акумулацију плака и/или, за разлику од здравих зубних ткива, отпуштањем токсичних супстанци.

Студија анализе концентрације цитокина у GCF указује да се IL-9 у GCF може користити као мера за реакцију одонтобласта на величину каријеса. Врста зубних испуна може да промени биолошку функцију ћелија гингиве и пулпе тако да поједини композитни материјали за испуне могу да убрзају зарастање ране модулацијом активности макрофага (70).

Нашом студијом је показана значајна промена нивоа IL-2, битног параметра инфламације код примене различитих материјала за апроксималне денталне испуне. Највећи скок просечних вредности IL-2 детектован је код примене привремених испуна, СРС уз значајне разлике у односу на концентрације код трајних испуна са ТЕС. Испун СРС материјалом индуковао је значајно повећање концентрације IL-2 у односу на испуне СФС и ВЕА. Тридесетог дана по пласирању денталних испуна, GCF узорци зуба третираних ВЕА испунима садржавали су значајно мање концентрације IL-2 у односу на зубе третиране ТЕС испунима. Такође, испун СРС материјалом, индуковао је значајно повећање концентрације IL-2 у односу на испуне СФС материјалом. Третирање денталним испуном GJS материјалом, индуковао је значајно повећање концентрације IL-2 у односу на испуне ВЕА материјалом. Примена привремених денталних испуна је довела до већег скока IL-2 него код примене трајних испуна ВЕА и ТЕС.

4.3.1. Утицај тежине материјала за денталне испуне

Током нашег истраживања нађено је да је тежина денталних испуна указивала на тенденцију опадања вредности IL-9, што је значило да је веће оштећење зуба, третирано денталним испуном тежим од 1,00g, праћено нижом концентрацијом IL-9 у GCF. То значи да су код апроксималних каријесних лезија, широко екстендираних и санираних већом тежином испуна, у GCF детектоване ниже концентрације IL-9. Вредности IL-9 биле су у корелацији са вредношћу гингивалног индекса и дубином гингивалног сулкуса. Различити испуни изазивали су различите локалне секреције IL-9. Цинк-поликарбоксилатни цемент и амалгамски испуни изазвали су значајан и дуготрајан пад нивоа локалног IL-9, док је примена ТЕС и ВЕА знатно повисила нивое IL-9. У нашем истраживању већа тежина материјала (амалгам) је довела до пада концентрације IL-9, и обрнуто.

Тип материјала који се користи за рестаурацију може суштински да промени биолошку функцију гингивалних и пулпалних ћелија (91). Овим сазнањем показујемо да неки материјали могу побољшати репарацију ране, модулирајући активацију макрофага.

Вода или други растварачи реагују са полимерним структурама и ослобађају се производи биоразградње, односно олигомери и мономери. Овај облик разградње доводи до оштећења полимерних структура, а самим тим и пропадања материјала. Механичко оштећење и биоразградња органског матрикса (BisGMA) узрокује лакше продирање бактеријских продуката и настанак инфламације (92).

Пласирањем денталних испуна, донекле се изменио профил детектованих цитокина у GCF, што је потврђено током ове студије.

Нулти дан представља први термин наших испитивања, пре примене денталних испуна. Просечне вредности IL-2, IFN- γ , IL-17, IL-6 и IL-10 нису значајно корелирале у односу на величине каријесних дефеката. Међутим, код каријесних дефеката за које су били потребни испуни тежи од 1g, детектоване су најниже просечне вредности IL-9 (70). Просечне вредности IL-4, IL-5, IL-13, IL-22, IL-1 β и TNF- α биле су највеће у узорцима GCF групе са највећим каријесним лезијама. Насупрот овом налазу, просечне вредности IL-9 биле су највеће у групи испитаника са интермедијарним каријесним лезијама, тј. код КII групе испитаника.

Након седам дана од пласирања, највеће просечне вредности IL-9 биле су у групи са најмањом тежином испуна. Ово се односи на све материјале изузев амалгама. Највеће просечне вредности IL-5 и IL-1 β детектовали смо у групи са интермедијарном тежином испуна, док су највеће просечне вредности IL-2, IL-12, IL-4, IL-13, IL-22 и TNF- α детектоване у групи са највећом тежином испуна.

Након 30 дана од пласирања денталних испуна, највеће просечне вредности IL-2 биле су у групи са најмањом тежином испуна. Највеће просечне вредности IL-4 и TNF- α детектовали смо у групама са интермедијарном тежином и највећом тежином испуна. Највеће просечне вредности IL-4, IL-5, IL-13, IL-22 и IL-1 β нађене су у групи са највећом тежином испуна. Статистичка анализа показала је да се вредности IL-2 у узорцима GCF нису значајно разликовале нултог дана узорковања. Седмог дана по пласирању денталних испуна, GCF узорци зуба третираних СРС испунима садржавали су значајно веће концентрације IL-2 у односу на зубе третиране ТЕС испунима. Такође, испун СРС материјалом индуковао је значајно повећање концентрације IL-2 у односу на испуне СФС и ВЕА.

5. ЗАКЉУЧЦИ

На основу постављених циљева и добијених резултата у овом истраживању изведени су следећи закључци:

1. Степен оштећења зуба каријесом је значајно повезан са специфичним профилом цитокина. Пре терапије, у узорцима GCF испитаника КII групе, доминира Th1 профил (пораст концентрација IL-2, IFN- γ , IL-1 β и TNF- α), за разлику од профила у GCF KV групе, који одговара антиинфламаторном одговору (повећање вредности IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13). Наведени профили одржавали су се и седмог, и тридесетог дана по терапији.
2. Величина испрепарисаног кавитета, индиректно изражена тежином денталног испуна, значајно је повезана са врстом и концентрацијом детектованих цитокина у гингивалној течности. У групи испитаника са испунима највеће тежине, доминирало је значајано повећање концентрација IL-5, IL-13, IL-22 и IL-1 β са значајно смањеним

вредностима IL-9. Након тридесетог дана, највеће вредности IL-2 детектоване су у групи испитаника са најмањом тежином испуна.

3. Сви испитивани материјали за денталне испуне индуковали су различите профиле цитокина у GCF. Материјали за привремене испуне индуковали су значајно повећање вредности већег броја испитиваних цитокина. Примена **цинк-поликарбоксилатног цемента** је била повезана са значајним порастом вредности IL-2, IFN- γ , IL-17, IL-6, IL-5, IL-22 и IL-1 β . Примена **цинк-фосфатног цемента** је индуковала повећање искључиво IL-9, уз значајно смањење свих осталих испитиваних цитокина. Материјали за трајне испуне били су повезани са другачијим профилем цитокина у GCF. Примена **глас-јономер цемената** је индуковала повећање IL-2, IL-12, IL-17, IL-13, IL-6, IL-4 и TNF- α . Примена **Beautiful композита**, индуковала је значајно повећање IL-12, IFN- γ , IL-22 и IL-9. GCF узоркована око апроксималних **амалгамских** испуна показала је значајно повећање IL-10 и TNF- α , док је **Tetric Evo Ceram** индуковао изоловано повећање IL-10.

4. Повећање дебљине денталног плака било је повезано са значајним повећањем вредности IL-2, IFN- γ , IL-17, IL-4, IL-5 и IL-13, док је у испитаника са нижим плак индексом, детектовано повећање вредности IL-6, IL-10, IL-9, IL-22 и IL-1 β .

5. Индекс крварења гингиве био је повезан са повећаним концентрацијама бројних цитокина (IL-2, IL-12, IL-4, IL-6, IL-9, IL-13, IL-22 и IL-1 β) у гингивалној течности. Насупрот томе, одуство крварења било је повезано са значајним падом вредности IL-10 и TNF- α у GCF.

6. Повећање дубине гингивалног сулкуса праћено је изразитим повећањем концентрација IL-9 и IL-1 β у GCF.

Добијени резултати указују на предности коришћења цитокина у гингивалној течности апроксималних каријесних лезија зуба, као допунских, неинвазивних дијагностичких параметара, у процени исхода лечења каријеса рестауративним материјалима. Даљим истраживањима би требало да се покаже, да ли се детектовани цитокини у узорцима GCF, могу користити као биомаркери инфламаторног процеса у пулпи.

6. ЛІТЕРАТУРА

1. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, Tagami J, Twetman S, Tsakos G, Ismail A. Dental caries. *Nature reviews Disease primers*. 2017 May 25;3(1):1-6.
2. Yumoto H, Hirao K, Hosokawa Y, Kuramoto H, Takegawa D, Nakanishi T, Matsuo T. The roles of odontoblasts in dental pulp innate immunity. *Japanese Dental Science Review*. 2018 Aug 1;54(3):105-17.
3. Papagerakis P, Zheng L, Kim D, Said R, Ehlert AA, Chung KK, Papagerakis S. Saliva and gingival crevicular fluid (GCF) collection for biomarker screening. *Odontogenesis: Methods and Protocols*. 2019:549-62.
4. Celik N, Askin S, Gul MA, Seven N. The effect of restorative materials on cytokines in gingival crevicular fluid. *Archives of Oral Biology*. 2017 Dec 1;84:139-44.
5. Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, Green D, Laverty D, Dietrich T. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis—a comprehensive review. *Journal of clinical periodontology*. 2017 Mar;44:S94-105.
6. Leal SC, Ribeiro AP, Frencken JE. Caries Assessment Spectrum and Treatment (CAST): a novel epidemiological instrument. *Caries research*. 2017;51(5):500-6.
7. Chapple IL, Bouchard P, Cagetti MG, Campus G, Carra MC, Cocco F, Nibali L, Hujoel P, Laine ML, Lingström P, Manton DJ. Interaction of lifestyle, behaviour or systemic diseases with dental caries and periodontal diseases: consensus report of group 2 of the joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. *Journal of clinical periodontology*. 2017 Mar;44:S39-51.
8. Baliga S, Muglikar S, Kale R. Salivary pH: A diagnostic biomarker. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2013 Jul;17(4):461.
9. Conrads G. Pathophysiology of dental caries. In *Caries excavation: Evolution of treating cavitated carious lesions 2018* (Vol. 27, pp. 1-10). Karger Publishers.
10. Makarova NE, Vinnichenko YA. Local enamel demineralization diagnostics and treatment. *Stomatologiya*. 2017 Jan 1;96(4):67-71.
11. Yumoto H, Hirao K, Hosokawa Y, Kuramoto H, Takegawa D, Nakanishi T, Matsuo T. The roles of odontoblasts in dental pulp innate immunity. *Japanese Dental Science Review*. 2018 Aug 1;54(3):105-17.
12. Matsuda S, Movila A, Suzuki M, Kajiya M, Wisitrasameewong W, Kayal R, Hirshfeld J, Al-Dharrab A, Savitri IJ, Mira A, Kurihara H. A novel method of sampling gingival crevicular fluid from a mouse model of periodontitis. *Journal of immunological methods*. 2016 Nov 1;438:21-5.
13. Farges JC, Alliot-Licht B, Renard E, Ducret M, Gaudin A, Smith AJ, Cooper PR. Dental pulp defence and repair mechanisms in dental caries. *Mediators of inflammation*. 2015 Oct 11;2015.
14. Cooper PR, Holder MJ, Smith AJ. Inflammation and regeneration in the dentin-pulp complex: a double-edged sword. *Journal of Endodontics*. 2014 Apr 1;40(4):S46-51.
15. Farges JC, Alliot-Licht B, Baudouin C, Msika P, Bleicher F, Carrouel F. Odontoblast control of dental pulp inflammation triggered by cariogenic bacteria. *Frontiers in Physiology*. 2013 Nov 11;4:326.
16. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2014 Nov 1;1843(11):2563-82.

17. Rechenberg DK, Galicia JC, Peters OA. Biological markers for pulpal inflammation: a systematic review. *PLoS one*. 2016 Nov 29;11(11):e0167289.
18. Zhai Y, Wang Y, Rao N, Li J, Li X, Fang T, Zhao Y, Ge L. Activation and biological properties of human β Defensin 4 in stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth. *Frontiers in Physiology*. 2019 Oct 22;10:1304.
19. Hou J, Liu HY, Diao H, Yu H. The truncated human beta-defensin 118 can modulate lipopolysaccharide mediated inflammatory response in RAW264. 7 macrophages. *Peptides*. 2021 Feb 1;136:170438.
20. Lee JK, Chang SW, Perinpanayagam H, Lim SM, Park YJ, Han SH, Baek SH, Zhu Q, Bae KS, Kum KY. Antibacterial efficacy of a human β -defensin-3 peptide on multispecies biofilms. *Journal of Endodontics*. 2013 Dec 1;39(12):1625-9.
21. Mansour SC, Pena OM, Hancock RE. Host defense peptides: front-line immunomodulators. *Trends in immunology*. 2014 Sep 1;35(9):443-50.
22. Bogdan C. Nitric oxide synthase in innate and adaptive immunity: an update. *Trends in immunology*. 2015 Mar 1;36(3):161-78.
23. Yumoto H, Hirao K, Hosokawa Y, Kuramoto H, Takegawa D, Nakanishi T, Matsuo T. The roles of odontoblasts in dental pulp innate immunity. *Japanese Dental Science Review*. 2018 Aug 1;54(3):105-17.
24. Kumar S, Ingle H, Prasad DV, Kumar H. Recognition of bacterial infection by innate immune sensors. *Critical Reviews in Microbiology*. 2013 Aug 1;39(3):229-46.
25. Bhingare AC, Ohno T, Tomura M, Zhang C, Aramaki O, Otsuki M, Tagami J, Azuma M. Dental pulp dendritic cells migrate to regional lymph nodes. *Journal of Dental Research*. 2014 Mar;93(3):288-93.
26. Bergmann M, Jeanneau C, Giraud T, Richard G, About I. Complement activation links inflammation to dental tissue regeneration. *Clinical Oral Investigations*. 2020 Dec;24:4185-96.
27. Farges JC, Alliot-Licht B, Renard E, Ducret M, Gaudin A, Smith AJ, Cooper PR. Dental pulp defence and repair mechanisms in dental caries. *Mediators of inflammation*. 2015 Oct 11;2015..
28. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2014 Nov 1;1843(11):2563-82.
29. Bedoya SK, Lam B, Lau K, Larkin J. Th17 cells in immunity and autoimmunity. *Clinical and Developmental Immunology*. 2013 Oct;2013.
30. Eba H, Murasawa Y, Iohara K, Isogai Z, Nakamura H, Nakamura H, Nakashima M. The anti-inflammatory effects of matrix metalloproteinase-3 on irreversible pulpitis of mature erupted teeth. *PLoS One*. 2012 Dec 20;7(12):e52523..
31. Sakaguchi RL, Powers JM. *Craig's restorative dental materials-e-book*. Elsevier Health Sciences; 2012 Jul 16.
32. Gajewski VE, Pfeifer CS, Fróes-Salgado NR, Boaro LC, Braga RR. Monomers used in resin composites: degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility. *Brazilian dental journal*. 2012;23:508-14.
33. Ricci WA, Alfano P, Pamato S, Cruz CA, Pereira JR. Mechanical degradation of different classes of composite resins aged in water, air, and oil. *BioMed Research International*. 2019 Jan 9;2019.

34. Han JM, Zhang H, Choe HS, Lin H, Zheng G, Hong G. Abrasive wear and surface roughness of contemporary dental composite resin. *Dental materials journal*. 2014 Nov 28;33(6):725-32.
35. Putzeys E, De Nys S, Cokic SM, Duca RC, Vanoirbeek J, Godderis L, Van Meerbeek B, Van Landuyt KL. Long-term elution of monomers from resin-based dental composites. *Dental Materials*. 2019 Mar 1;35(3):477-85.
36. Reis AF, Vestphal M, AMARAL RC, Rodrigues JA, Roulet JF, Roscoe MG. Efficiency of polymerization of bulk-fill composite resins: a systematic review. *Brazilian oral research*. 2017 Aug 28;31.
37. Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Wilwerding TM, Latta MA, Miyazaki M. Interfacial characteristics and bond durability of universal adhesive to various substrates. *Operative dentistry*. 2017;42(2):E59-70.
38. Heintze SD. Clinical relevance of tests on bond strength, microleakage and marginal adaptation. *Dental Materials*. 2013 Jan 1;29(1):59-84.
39. Yousaf A, Aman N, Manzoor MA, Shah JA. Postoperative sensitivity of self etch versus total etch adhesive. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*. 2014 Jun 1;24(6):383-7.
40. Benetti AR, Havndrup-Pedersen C, Honoré D, Pedersen MK, Pallesen U. Bulk-fill resin composites: polymerization contraction, depth of cure, and gap formation. *Operative dentistry*. 2015;40(2):190-200.
41. Salamoni Sinhori B, Vieira LC, Baratieri LN. Influence of preparation reconstruction on the compressive strength of cad/cam ceramic inlays. *International Journal of Biomaterials*. 2019 Jan 1;2019.
42. Margeas RC. Bulk-fill materials: simplify restorations, reduce chairtime. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*. 2015 Jan.
43. Margeas RC. Bulk-fill materials: simplify restorations, reduce chairtime. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*. 2015 Jan.
44. Yeolekar TS, Chowdhary NR, Mukunda KS, Kiran NK. Evaluation of microleakage and marginal ridge fracture resistance of primary molars restored with three restorative materials: A comparative in vitro study. *International journal of clinical pediatric dentistry*. 2015 May;8(2):108.
45. Kamalak H, Kamalak A, Taghizadehghalehjoughi A. Cytotoxic effects of new-generation bulk-fill composites on human dental pulp stem cells. *Cellular and Molecular Biology*. 2018 Feb 28;64(3):62-71.
46. Kamalak H, Kamalak A, Taghizadehghalehjoughi A. Cytotoxic effects of new-generation bulk-fill composites on human dental pulp stem cells. *Cellular and Molecular Biology*. 2018 Feb 28;64(3):62-71.
47. Lee MJ, Kim MJ, Kwon JS, Lee SB, Kim KM. Cytotoxicity of light-cured dental materials according to different sample preparation methods. *Materials*. 2017 Mar 14;10(3):288.
48. Krifka S, Spagnuolo G, Schmalz G, Schweikl H. A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. *Biomaterials*. 2013 Jun 1;34(19):4555-63.
49. Mandari GJ, Frencken JE, Van't Hof MA. Six-year success rates of occlusal amalgam and glass-ionomer restorations placed using three minimal intervention approaches. *Caries Research*. 2003;37(4):246-53.

50. Rafati-Rahimzadeh M, Rafati-Rahimzadeh M, Kazemi S, Moghadamnia AA. Current approaches of the management of mercury poisoning: need of the hour. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014 Dec;22:1-0.
51. Alcaraz MG, Veitz-Keenan A, Sahrmann P, Schmidlin PR, Davis D, Iheozor-Ejiofor Z. Direct composite resin fillings versus amalgam fillings for permanent or adult posterior teeth. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014(3).
52. Shepherd DV, Kauppinen K, Brooks RA, Best SM. An in vitro study into the effect of zinc substituted hydroxyapatite on osteoclast number and activity. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2014 Nov;102(11):4136-41.
53. Leung GK, Wong AW, Chu CH, Yu OY. Update on dental luting materials. *Dentistry Journal*. 2022 Nov 3;10(11):208.
54. Dean JA, editor. *McDonald and Avery's dentistry for the child and adolescent-E-book*. Elsevier Health Sciences; 2021 Feb 2.
55. Vicente A, Rodríguez-Lozano FJ, Martínez-Beneyto Y, Jaimez M, Guerrero-Gironés J, Ortiz-Ruiz AJ. Biophysical and fluoride release properties of a resin modified glass ionomer cement enriched with bioactive glasses. *Symmetry*. 2021 Mar 17;13(3):494.
56. Prylinska-Czyzewska A, Piotrowski P, Prylinski M, Dorocka-Bobkowska B. Various cements and their effects on bond strength of zirconia ceramic to enamel and dentin. *International Journal of Prosthodontics*. 2015 May 1;28(3).
57. Tsuchida S, Satoh M, Takiwaki M, Nomura F. Current status of proteomic technologies for discovering and identifying gingival crevicular fluid biomarkers for periodontal disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018 Dec 26;20(1):86.
58. Khorasani MM, Andam-Shahsavari P, Zainodini N, Khoramdelaad H, Nosratabadi R. Association of S100 calcium-binding protein A12, receptor for advanced glycation endproducts, and nuclear factor- κ B expression with inflammation in pulp tissues from tooth caries. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*. 2018 Feb;9(1):e12290.
59. Elsalhy M, Azizieh F, Raghupathy R. Cytokines as diagnostic markers of pulpal inflammation. *International endodontic journal*. 2013 Jun;46(6):573-80.
60. Waters RS, Perry JS, Han S, Bielekova B, Gedeon T. The effects of interleukin-2 on immune response regulation. *Mathematical Medicine and Biology: a Journal of the IMA*. 2018 Mar 14;35(1):79-119.
61. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2014 Oct 1;6(10):a016295.
62. Pigossi SC, Alvim-Pereira F, Alvim-Pereira CC, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM. Association of interleukin 4 gene polymorphisms with dental implant loss. *Implant dentistry*. 2014 Dec 1;23(6):723-31.
63. Walter MR. The molecular basis of IL-10 function: from receptor structure to the onset of signaling. *Interleukin-10 in Health and Disease*. 2014:191-212.
64. Bhat P, Leggatt G, Waterhouse N, Frazer IH. Interferon- γ derived from cytotoxic lymphocytes directly enhances their motility and cytotoxicity. *Cell death & disease*. 2017 Jun;8(6):e2836-.
65. Arango Duque G, Descoteaux A. Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Frontiers in immunology*. 2014 Oct 7;5:491.
66. Issaranggun Na Ayuthaya B, Everts V, Pavasant P. The immunopathogenic and immunomodulatory effects of interleukin-12 in periodontal disease. *European Journal of Oral Sciences*. 2018 Apr;126(2):75-83.

67. d'Apuzzo F, Cappabianca S, Ciavarella D, Monsurrò A, Silvestrini-Biavati A, Perillo L. Biomarkers of periodontal tissue remodeling during orthodontic tooth movement in mice and men: overview and clinical relevance. *The Scientific World Journal*. 2013 Apr 23;2013.
68. Liu ZQ, Song JP, Liu X, Jiang J, Chen X, Yang L, Hu T, Zheng PY, Liu ZG, Yang PC. Mast cell-derived serine proteinase regulates T helper 2 polarization. *Scientific reports*. 2014 Apr 11;4(1):4649.
69. Bao K, Reinhardt RL. The differential expression of IL-4 and IL-13 and its impact on type-2 immunity. *Cytokine*. 2015 Sep 1;75(1):25-37.
70. Stefanović V, Taso E, Petković-Ćurčin A, Đukić M, Gardašević M, Rakić M, Xavier S, Jović M, Miller K, Stanojević I, Vojvodić D. Influence of dental filling material type on the concentration of interleukin 9 in the samples of gingival crevicular fluid. *Vojnosanitetski preglod*. 2016;73(8):728-34.
71. Kuwabara T, Ishikawa F, Kondo M, Kakiuchi T. The role of IL-17 and related cytokines in inflammatory autoimmune diseases. *Mediators of inflammation*. 2017 Oct;2017.
72. Valeri M, Raffatellu M. Cytokines IL-17 and IL-22 in the host response to infection. *Pathogens and disease*. 2016 Dec;74(9):ftw111..
73. Kunert M, Lukomska-Szymanska M. Bio-inductive materials in direct and indirect pulp capping—a review article. *Materials*. 2020 Mar 7;13(5):1204.
74. Lauritano D, Scapoli L, Mucchi D, Cura F, Muzio LL, Carinci F. Infectogenomics: Lack of association between *vdr*, *il6*, *il10* polymorphisms and “red Complex” bacterial load in a group of Italian adults with chronic periodontal disease. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*. 2016 Apr 1;30(2):155-60.
75. Wilensky A, Segev H, Mizraji G, Shaul Y, Capucha T, Shacham M, Hovav AH. Dendritic cells and their role in periodontal disease. *Oral Diseases*. 2014 Mar;20(2):119-26.
76. Kramer PR, Woodmansey KF, White R, Primus CM, Opperman LA. Capping a pulpotomy with calcium aluminosilicate cement: comparison to mineral trioxide aggregates. *Journal of endodontics*. 2014 Sep 1;40(9):1429-34.
77. Pandey V, Salam SA, Moda A, Agarwal P, Nath S, Pulikkotil SJ. Effect of the use of snuff on the levels of interleukin-1 β and interleukin-8 in the gingival crevicular fluid of periodontitis patients. *Dental research journal*. 2015 Sep;12(5):461.
78. Dursun E, Tözüm TF. Peri-implant crevicular fluid analysis, enzymes and biomarkers: a systematic review. *Journal of oral & maxillofacial research*. 2016 Jul;7(3).
79. Sambandam V, Neelakantan P. Matrix metalloproteinases (mmp) in restorative dentistry and endodontics. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2014 Sep 1;39(1):57-9.
80. Renard E, Gaudin A, Bienvenu G, Amiaud J, Farges JC, Cuturi MC, Moreau A, Alliot-Licht B. Immune cells and molecular networks in experimentally induced pulpitis. *Journal of dental research*. 2016 Feb;95(2):196-205.
81. Šubarić L, Mitić A, Matvijenko V, Jovanović R, Živković D, Perić D, Vlahović Z. Interleukin 1-beta analysis in chronically inflamed and healthy human dental pulp. *Vojnosanitetski preglod*. 2017;74(3):256-60.
82. Longo DL, Paula-Silva FW, Faccioli LH, Gatón-Hernandez PM, QUEIROZ AM, SILVA LA. Cytotoxicity and cytokine expression induced by silorane and methacrylate-based composite resins. *Journal of Applied Oral Science*. 2016 Jul;24:338-43.
83. Sabir A, Sumidarti A. Interleukin-6 expression on inflamed rat dental pulp tissue after capped with *Trigona* sp. propolis from south Sulawesi, Indonesia. *Saudi journal of biological sciences*. 2017 Jul 1;24(5):1034-7.

84. Kunii R, Yamaguchi M, Tanimoto Y, Asano M, Yamada K, Goseki T, Kasai K. Role of interleukin-6 in orthodontically induced inflammatory root resorption in humans. *The Korean Journal of Orthodontics*. 2013 Dec 1;43(6):294-301.
85. Yue W, Kim S, Jung HS, Lee JM, Lee S, Kim E. Differential protein expression in human dental pulp: comparison of healthy, inflamed, and traumatic pulp. *Journal of Clinical Medicine*. 2019 Aug 16;8(8):1234.
86. Sonoda S, Yamaza H, Ma L, Tanaka Y, Tomoda E, Aijima R, Nonaka K, Kukita T, Shi S, Nishimura F, Yamaza T. Interferon-gamma improves impaired dentinogenic and immunosuppressive functions of irreversible pulpitis-derived human dental pulp stem cells. *Scientific reports*. 2016 Jan 18;6(1):1-2.
87. Liu XB, Cai MY, Gong Y, Zhang ZR, Wei DP, Wang X, Li G. Preliminary study on preparation and pharmaceutic features of adrimycin-loaded human serum albumin microspheres. *Sichuan da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Sichuan University. Medical Science Edition*. 2004 Jan 1;35(1):107-9.
88. Da Rosa WL, Piva E, Da Silva AF. Disclosing the physiology of pulp tissue for vital pulp therapy. *International Endodontic Journal*. 2018 Aug;51(8):829-46.
89. Belstrøm D, Damgaard C, Könönen E, Gürsoy M, Holmstrup P, Gürsoy UK. Salivary cytokine levels in early gingival inflammation. *Journal of oral microbiology*. 2017 Jan 1;9(1):1364101.
90. Morelli T, Stella M, Barros SP, Marchesan JT, Moss KL, Kim SJ, Yu N, Aspiras MB, Ward M, Offenbacher S. Salivary biomarkers in a biofilm overgrowth model. *Journal of periodontology*. 2014 Dec;85(12):1770-8.
91. Ilday N, Çelik N, Dilsiz A, Alp H, Aydın T, Seven N, Kızıltunç A. The effects of overhang amalgam restorations on levels of cytokines, gingival crevicular fluid volume and some periodontal parameters. *American journal of dentistry*. 2016;29(5).
92. Ringeisen H, Pöschke A, Krähling B, Schröck C, Stoll M, Vogelsberg J, Failing K, Staszyc C. Influence of dental materials on cells of the equine periodontium. *Equine veterinary journal*. 2018 May;50(3):363-9.

Скраћенице:

- ADA – Америчка стоматолошка асоцијација (енгл. American Dental Association)
- AP-1 – активатор протеина-1
- BD – β - дефензин
- BEA – Beautifill TM
- Bis GMA – бисфенол-А-глицидилметакрилат
- CFC – цинк-фосфатни цемент
- CPC – цинк-поликарбоксилатни цемент
- DGS – дубина гингивалног сулукаса
- GCF – гингивална цревикуларна течност (gingival crevicular fluid)
- GI – гингивални индекс
- GJC – глас-јономер цемент
- HEMA – 2-хидрокси-етил-метакрилат
- iNOS – индуцибилна NO синтетаза
- iRNK – информациона рибонуклеинска киселина
- iTreg – индуковане регулаторне Т ћелије (induced regulatory T cells)
- IFN- γ – интерферон гама
- Ig – Имуноглобулин
- IK – индекс крварења гингиве
- IKG – индекс крварења гингиве
- IL – интерлеукин
- KII – степен оштећења зуба каријесом где су захваћени глеђ и дентин
- KIII – степен оштећења зуба каријесом где су захваћени глеђ и дентин са пулпитисом
- KIV – степен оштећења зуба каријесом где су захваћени глеђ и дентин са гангреном
- KV – степен оштећења зуба каријесом где је завршен ендодонтски третман
- κ B (NF- κ B) – нуклеарни фактор капа Б (nuclear factor κ B)
- LKTE – линеарни коефицијент термичке експанзије
- LPS – липополисахарид
- MMP – матриксна металопротеиназа
- MTA – минерал триоксид агрегат
- NK – ћелија природни убица (natural killer)
- NO – азот моноксид

NOS – азот оксид синтетаза

PAMP – молекуларни образац повезан са патогеном (pathogen-associated molecular pattern)

PI – плак индекс

PRR – рецептор за препознавање обрасца (pattern recognition receptor)

TEC – Tetric Evo Ceram

TEGDMA – три етилен гликол диметакрилат

TLR – толични рецептор (toll-like receptor)

TNF- α – фактор туморске некрозе (tumor necrosis factor alpha)

UDMA – уретан диметакрилат

ДРМ – Дентални Рестауративни Материјал

БИОГРАФИЈА

Владимир Стефановић рођен је 01.08.1974. године у Прокупљу. Основну и средњу школу завршио у истом граду. Стоматолошки одсек Медицинског факултета завршио у Нишу, 27.09.2000. године. После завршеног обавезног стажа и Школе резервних официра Војске Србије почиње да ради у Војсци Србије као потпоручник, доктор стоматологије у ВМЦ- у Ниш, 2002. године. Специјализацију из Болести зуба и ендодонције уписује 2004. на Војномедицинској академији а 2007. постаје специјалиста и почиње да ради на Одељењу за Болести зуба и оралну медицину са пародонтологијом, Клинике за стоматологију ВМА. Године 2011. уписује докторске студије на Универзитету у Крагујевцу и исте године прелази у Управу Клинике за стоматологију где наставља да обавља послове из домена своје специјалности. Члан је Српског Лекарског Друштва и Ендодонтске секције Србије. Као члан тима за Континуирану едукацију Клинике за стоматологију ВМА одржао је неколико предавања специјализантима и запосленим на клиници. Аутор је и коаутор неколико публикација.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

“ Модулација цитокинског профила гингивалне течности применом различитих апроксималних денталних испуна „

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу, _____ 2023. године,

Стефановић Владимир

потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

**“Модулација цитокинског профила гингивалне течности применом различитих
апроксималних денталних испуна „**

истоветне.

У Крагујевцу, _____ 2023.године,

Стефановић Владимир

потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Стефановић Владимир,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

“Модулација цитокинског профила гингивалне течности применом различитих апроксималних денталних испуна „

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- ⑥ Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, _____ 2023. године,

Стефановић Владимир

потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>