

## I. Bevezetés

Napjainkban pácienseink egyre fokozódó esztétikai igényessége a tömésterápiában is megfigyelhető. A mindinkább tökéletesedő esztétikus tömőanyagokból így anatómiailag és funkcionálisan tökéletes és esztétikailag szinte észrevehetetlen töméseket lehet és kell készítenünk.

Azonban a máig ismert legjobb tömőanyagnál is még mintegy 1,5 térfogat%-os a polimerizációs zsugorodás, amely széli hasadékképződéshez, szekunder caries kialakulásához és annak következményes megbetegedéseikhez vezethet. A széli lezárás elégtelensége az a legjelentősebb tényező, amely megrövidíti esztétikus restaurációink klinikai, „in vivo” élettartamát. Minden rezin-alapú anyag zsugorodik, a zsugorodási stressz pedig elemeli az adhezívet az üreg falától és így alakul ki a széli hasadék. A széli hasadékban, a kavitás fala és a tömőanyag között baktériumok, folyadékok, molekulák továbbá ionok figyelhetőek meg, amelyek további kórformák okozói lehetnek.

Miután a gyártó cégeknek a polimerizációs zsugorodás kompenzálását máig nem sikerült maradéktalanul megoldani, a fogorvosoknak az ún. „adhezív tömés technika” alkalmazásával kell törekedni a széli záródás tökéletesítésére. Adhézió alatt azt a folyamatot értjük, amelynek során az anorganikus foganyag szintetikus bondanyagra/adhezívra cserélődik. Két fázisát különíthetjük el. A demineralizációt, amelynek során kondicionáló anyagok alkalmazásával kalcium-foszfátot távolítunk el, és így mind a zománc, mind a dentin felszínén mikroretencióra alkalmas mikroporozitás alakul ki, illetve a hibridizációt, amely az adhezív anyag infiltrációját és in situ polimerizációját jelenti a kondicionált felületen (Van Meerbeek 2001.) (1).

A tömőanyagok tökéletes széli záródását és a prevenció szemléletet messzemenően követő mikroretenciós elhorgonyzását az adhezív technikai anyagainak a kavitás-falra történő közvetlen direkt applikációjával lehet elérni. Ez a technika – forradalmasítva a korábban alkalmazott tömés technikát - elveti az alábélelő anyagok alkalmazását, hiszen azok csökkentenék az adhezív felületet. Ugyanakkor nyilvánvaló, hogy így a preparáció során átvágott dentintubulusok révén a pulpaszövettel is közvetlen kapcsolat alakulhat ki. Ez a hatás közvetlenül viszonylag rövid, mintegy 60-80 secundumos intervallumot jelent – a kondicionáló illetve az adhezív alkalmazásának időtartamát. A fotopolimerizációt követően kialakuló hibrid-réteg (Nakabayashi et al, 1982.) (2), valamint az ún. adhezív csapok és a tubulusok falának hibridizációja ugyanis a továbbiakban tökéletesen „seal”-ezik a dentintubulusokat.

A klinikumban ezeket az anyagokat sokszor igen vékony axiopulpális dentinfelszínre helyezük, és amelyek így - a dentintubulusokon átdiffundálva - befolyásolhatják a fogbél fiziológiás működését, így a pulpális mikrokeringést.

Fogorvosi ténykedésünk sikerének elengedhetetlen feltétele a tömőanyagok biológiai acceptabilitásának vizsgálata.

A biológiai anyagvizsgálat során különleges nehézségek adódnak, és mint Langeland és Klötzer már 1971-ben megállapították (3), ez a tény az oka annak, hogy a biológiai sajátosságok vizsgálata mintegy 50 évvel elmarad a fizikai anyagvizsgálat mögött. A mai nemzetközi szabványoknak (ISO 10993) is Langeland útmutatásai képezik az alapját (iniciális tesztek: szisztémás toxicitás, mutagenitás, citotoxicitás; másodlagos tesztek: implantáció, allergizálás, nyálkahártya irritáció; felhasználási (usage) tesztek. Ez utóbbiakhoz tartoznak a fogászati anyagok pulpális hatását vizsgáló eljárások is, amelynek során a vizsgálandó anyagot standardizált V. osztályú kavitásba helyezik, szigorúan betartva a gyártók utasításait. Ezt követően 3-7 nap, egy hónap és 60-75 nap elteltével szövettani vizsgálatok következnek, ahol a kontroll a cinkoxid-eugenollal ellátott fogból készített szövettani vizsgálat (4, 5).

Ennél a módszernél azonban nem tanulmányozhatóak, nem regisztrálhatóak az akut érelváltozások és komoly hibaforrást jelenthetnek a preparációs károsodások, amelyek a hőhatás és desiccatio révén okozhatnak irreverzibilis elváltozásokat, és amelyeket az utólagos hisztológiai feldolgozás során a vizsgált anyag toxicitásának tudhatunk be (6, 7, 8). Az eredményeket az axiopulpális dentinfal vastagsága is befolyásolhatja (9, 10, 11).

A kontrollcsoportban alkalmazott termékek sem teljesen inerteek, a negatív kontroll, a cinkoxid-eugenol – mint Brännström kimutatta - vakuolás degenerációt okozhat, és amennyiben a gyártók utasításait követve alkalmazzuk a tesztanyagot a felhasználási teszteknel, az alábélelő anyagot vizsgáljuk. Ugyanis a gyártók „mélyebb” üregrészeknél alábélelők alkalmazását javasolják. De mit jelent a „mélyebb” meghatározás?

A kontrollcsoport problémaköréhez tartoznak még a tömés és az üregfal között fellelhető baktériumok, amelyek toxinjaik révén okozhatnak a pulpális reakciókat (12, 13).

A fogászati anyagok citotoxicitási vizsgálatainál igen magas koncentrációban alkalmazzák a tesztanyagokat és itt nem lehetséges figyelembe venni az élő fog dentinfelszínének permeabilitási viszonyait, a kifelé áramló dentin-folyadék és a pulpális keringés „kimosó” hatását.

A fogászati anyagok, és így az adhezív tömés technikában alkalmazott anyagok „in vivo”, biokompatibilitási tesztjei hiányoznak a nemzetközi irodalomból, aminek az lehet a fő oka, hogy a dentinnel körülvett pulpa mikrokeringését igen nehéz vizsgálni.

Több szerző kimutatta, hogy a kompozitokra – és így az adhezív technikában alkalmazott anyagokra is – az iniciális toxicitás a jellemző, ekkor a legjelentősebb mértékű a dentincsatornákon áttörtendő diffúzió (14). A pulpát érő bármilyen noxa, amely iniciális pulpális károsodást okoz, változást eredményez a véráramlásban, a kapilláris permeabilitásban (7, 15).

Fotopolimerizáció során a polimerizációs lámpa kék fényének hatására keletkező szabad gyökök indítják be a polimerizációs folyamatot. A sealer monomerjei egymással reagálva keresztkötéseket tartalmazó polimer hálózatot képeznek. A halogén izzóval működő polimerizációs fényforrás több, egymástól független vizsgálat szerint is pulpakárosító, akár 5,5 °C-nál nagyobb hőmérséklet-emelkedés is kialakulhat a dentinrétegben 40 secundos használat után. Amennyiben az intrapulpális hőmérséklet-emelkedés meghaladja a 42,5°C-ot, a fogbélben irreverzibilis elváltozások alakulnak ki.

Az élő, exponált dentintubulusokra applikált fogászati anyagok (adhezívek, kondicionálók, sealerek) intersticiális folyadékmozgást indukálnak a csatornákbán. Hatásuk kettős: egyrészt deformálják a pulpa-dentin határon a mechanoszenzitív receptorokat és fájdalmat váltanak ki (hidrodinamikai teória). Másrészt aktiválják az endotheliális nitrogénmonoxid szintáz is fokozva a vasodilatator hatású NO termelődését. Az így kiváltott fokozott véráramlás kimosó hatást fejt ki azokkal a fogászati anyagokkal szemben, amelyet az exponált dentinfelszínre viszünk fel. Feltételezhető tehát, hogy a kémiai csonkvédők által kiváltott pulpális válaszreakcióban a NO-nak is szerepe van.

Vizsgálatainkhoz egy in vivo keringésvizsgálati módszert – a patkánymetszőfog-pulpa vitálmikroszkópos modelljét – választottuk.

## **Irodalom**

1. Van Meerbeek, B. et al: Adhesives and cements to promote preservation dentistry. Oper Dent Suppl 6 26, 119-144, 2001.
2. Nakabayashi, N.: The hybrid layer: A resin-dentin composite. Proc Finn. Dent. Soc. 88, 321-329, 1992.
3. Langeland, K., Klötzer, T.W.: Verfahren zur Prüfung der biologischen Eigenschaften zahnärztlicher Werkstoffe. Dtsch Zahnärztl Z 26, 298-315, 1971.
4. Vélez, JU., Fernandez, RD., Palacios, JAR., Bánóczy, J., Nyárasdy, I.: Histological evaluation of pulpal responses to four composite resins in dog dental pulps Acta Morphol Hung, 36, 185-190, 1988.

5. Vélez, JU., Fernandez, RD., Palacios, JAR., Bánóczy, J., Nyárasdy, I.: Kompozíciós tömőanyagok pulpakárosító hatásának szövettani vizsgálata kutyafogakon. Fogorv Szle 81, 301-305, 1988.
6. Gängler, P., Langeland, K. Biologische Grundlagen der Endodontie. Zahn-, Mund- und Kieferheilkd 69, 531-548, 1981
7. Kim, S.: Regulation of pulpal blood flow. J Dent Res 64, (Spec. Iss) 590-596, 1985.
8. Nyárasdy I.: Kompozíciós tömőanyagok biológiai akceptabilitásának vizsgálati lehetőségei, különös tekintettel a pulpa vitálmikroszkópiájára (Irodalmi összefoglalás) Fogorv Szle 83, 247-252, 1990.
9. Gängler, P., Hoyer, I., Krehan, F.: Das Präparationstrauma der Pulpa und ihr reaktives Verhalten. Zahn-, Mund- und Kieferheilkd 67, 256-264, 1979.
10. Stanley, H.R., Bowen, R.L., Folio, J.: Compatibility of various materials with oral tissues. II. Pulp responses to composite ingredients. J Dent Res 58, 1507-1517, 1979.
11. Brännström, M., Nyborg, H.: Pulpal reaction to composite resin restorations. J Prosthet Dent 27, 181-189, 1972.
12. Schmalz, G., Schmalz, Ch., Rotgans, J.: Die Pulpaverträglichkeit eines Glasionomer- und eines Zinkoxiphosphat-Zementes. Dtsch Zahnärztl Z 41 806-812, 1986.
13. Quist, V.: Resin restorations: leakage, bacteria, pulp. Endod Dent Traumatol 9, 127-152, 1993.
14. Schedle, A. et al. Cytotoxic effects of dental composites, adhesive substances, compomers and cements. Dent Mater 14, 429-440, 1998.
15. Kim, S.: Microcirculation of the dental pulp in health and disease. J Endodon 11, 465-471, 1985.

## **II. Célkitűzések**

Az adhezív technikában használt kondicionáló anyagok patkányfogak pulpális ereire kifejtett hatásának vizsgálatával célunk volt megállapítani, hogy

A self-etch adhezívekhez tartozó „all in one” típusú ún. „strong” adhezív (pH = 1) lege artis alkalmazása milyen akut vascularis elváltozást okoz, közvetlenül a bondanyag felhelyezését követően patkány-metszőfogak pulpális erein.

Egy „középtértékű strong” self-etch adhezív (pH = 1,5) lege artis alkalmazása milyen akut vascularis elváltozást okoz, közvetlenül a bondanyag felhelyezését követően patkány-metszőfogak pulpális erein.

. Az adhezív technikában alkalmazott polimerizációs fény hatásának vizsgálata

Polimerizációs lámpa 40 sec-os alkalmazásának akut vascularis hatása patkányfogak pulpális mikroereinek érátmérőjére.

Polimerizációs lámpa 80 sec-os alkalmazásának akut vascularis hatása patkányfogak pulpális mikroereinek érátmérőjére.

\_A lokális nitrogénmonoxid-szintézis gátlás hatása a pulpa arterioláinak érátmérőjére

A nitrogénmonoxidszintáz (NOS) működését specifikusan gátló L-NAME milyen akut vascularis hatást fejt ki egészséges patkányfogak nem stimulált, pulpális arterioláinak érátmérőjére?

A nitrogénmonoxidszintáz (NOS ) működését specifikusan gátló L-NAME milyen akut vascularis hatást fejt ki egészséges patkányfogak fogászati bond (Prime&Bond 2.1 total-etch bond) anyaggal kiváltott reverzibilis pulpitis tüneteit mutató pulpális arterioláinak érátmérőjére?

### **III. Anyagok és módszerek**

#### **III. 1. A kísérletek során vizsgált anyagok**

- Prompt L-Pop<sup>®</sup> - ESPE Dental AG, Seefeld
- Xeno III<sup>®</sup> - De Trey Dentsply, Konstanz
- L-NAME

#### **III. 2. Kísérleti állatok**

Vizsgálatainkat a Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Kóréletani Intézet, Haemodinamikai Laboratóriumában hím Sprague-Dawley patkányokon végeztük. A kísérleti patkányok állatházában az állandó szobahőmérsékletet és páratartalmat biztosítottuk. Táplálásukhoz standard tápot és vizet használtunk.

Az állatkísérleteket a Helsinki Deklaráció; a Magyar Állatvédelmi Törvény (243/1998) és a Semmelweis Egyetem állatkísérletekre vonatkozó rendelkezéseinek maximális figyelembe vételével és betartásával történtek.

### **III. 3. Kísérleti módszerek**

Pentobarbitál nátriummal (40 ill. 35 mg/kg; i.p.) altatott egészséges patkányokat használtunk. Az állatokon tracheotomiát végeztünk a szabad légzés biztosítása érdekében, majd a jobb a. femoralisba heparint tartalmazó (1500 IU/ml) polietilén kanült kötöttünk a szisztémás vérnyomás regisztrálására (Haemosys-rendszer). A keringési paraméterek méréséhez ill. a fog előkészítéséhez megvártuk, hogy a keringés normalizálódjék. Az állat állandó maghőmérsékletét ellenőriztük, kezdetben lámpával melegítve, a továbbiakban pedig fűthető patkány-padon dolgoztunk, amit Thermocontroller segítségével szabályoztunk.

A bal alsó metszőfogát sztereomikroszkóp alatt olyan vékonyságúra preparáltuk mind a mesialis, mind a distalis oldalon, hogy a pulpalis keringés a kamerával és képerősítővel felszerelt NIKON mikroszkópban követhető, ill. - a TV-képernyőn – az erek belső átmérője mérhető legyen. A preparáláshoz 15000-es fordulatszámú működő fűrőgépet és gyémánt fissura fűrőt használtunk, minimális nyomást alkalmazva. A preparációs hőkárosodástól ill. a kiszáradástól a fogat 37°C-os fiziológias sóoldat alkalmazásával védtük. Az alveoláris csont és zománc eltávolítása után a fog előkészítését preparációs mikroszkóp (Nikon, Japán 10x vizuális nagyítás) alatt folytattuk mindaddig, amíg a megmaradt dentinrétegen keresztül láthatóvá és ellenőrizhetővé nem vált a pulpalis erekben a keringés.

A fog preparálása után az állatot egy speciális tárgyasztal segítségével rögzítettük a vitálmikroszkópos berendezés. Nikon (10X10) mikroszkópjához. A kapott képet videokamera (Sony CCD Iris) és képerősítő (500X nagyítás) ill. digitális kamera (NIKON) és számítógépes ASUS–LIVE (ASUSTek Computer Inc.) program segítségével rögzítettük a későbbi mérésekhez.

Egy órás egyensúlyozási idő után kiválasztottunk egy arteriolát, amelynek belső átmérőjéről megfelelő minőségű felvételeket ill. digitális felvételt készíthettünk.

A fog felszínét abszorbens papírral leszártítottuk és a tesztanyagot applikáltuk. Az ér lumen belső átmérőjének mérése a tesztanyag felhelyezését követő 5., 15., 30. és 60. percben történt, az erre a célra szerkesztett mérőskála segítségével.

A kontrollcsoportban, ahol 37°C-os fiziológias sóoldatot alkalmazva álműtétet hajtottunk végre, a megfelelő mérési időpontokban ugyancsak elvégeztük a méréseket.

A digitális felvételeken a belső érátmérők pontos kiértékeléséhez Scion Image Software-t használtunk.

Statisztikai analízis: A kiindulási értékekhez viszonyított érátmérő-változást a teszt anyag applikálását követő 5., 15., 30. és 60. percben kiszámítottuk.

A vitálmikroszkópos vizsgálat érátmérő változásait a kiindulási értékek (0. perc) százalékában fejeztük ki. Az így kapott adatokat átlag  $\pm$  standard hiba formában adtuk meg. Az eredmények értékelését kétszemponos ANOVA teszt (variancia analízis) segítségével végeztük el, ahol a vizsgálati anyag és a vizsgálati idő szerepelt faktorként. A teszt csoportokat Dunnet-próbával és LSD teszt segítségével hasonlítottuk össze a kontrollcsoportokkal. A normál eloszlást Kolmogorov-Smirnov ill. Shapiro-Wilk's W teszttel vizsgáltuk. Csak a 0,05-nél kisebb valószínűségi érték (p) esetén fogadtuk el a változást szignifikánsnak.

### **III. 2. Kísérleti állatok**

Kompozíciós tömőanyagokkal kapcsolatos vizsgálatainknál a MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézetében (KOKI) 230-330 g súlyú, nőstény CFY patkányokkal, összesen öt csoporttal és csoportonként tíz-tíz állattal dolgoztunk.

További vizsgálatainkat a Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Kóréletani Intézet, Haemodinamikai Laboratóriumában folytattuk. Kísérleteinket 182 darab 250-380 g súlyú, hím Sprague-Dawley patkányokon végeztük. Összesen 20 csoporttal dolgoztunk. A kísérleti patkányok állatházában az állandó szobahőmérsékletet és páratartalmat biztosítottuk. Táplálásukhoz standard tápot és vizet használtunk.

Az állatkísérleteket a Helsinki Deklaráció; a Magyar Állatvédelmi Törvény (243/1998) és a Semmelweis Egyetem állatkísérletekre vonatkozó rendelkezéseinek maximális figyelembe vételével és betartásával történtek.

### **III. 3. Kísérleti módszerek**

A módszerek leírásánál a kettős értékek szerepeltetése az időrendben eltérő két nagy vizsgálatcsoportnál alkalmazott eltérő adatokat tüntetik fel. Az első érték mindig a KOKI-ban végzett, kompozíciós tömőanyagokkal végzett vizsgálatokra vonatkoznak.

Pentobarbitál nátriummal (40 ill. 35 mg/kg; i.p.) altatott egészséges patkányokat használtunk. Az állatokon tracheotomiát végeztünk a szabad légzés biztosítása érdekében, majd a jobb a.

femoralisba heparint tartalmazó (1500 IU/ml) polietilén kanült kötöttünk a szisztémás vérnyomás regisztrálására (elektro-manométer/Haemosys-rendszer). A keringési paraméterek méréséhez ill. a fog előkészítéséhez megvártuk, hogy a keringés normalizálódjék. Az állat állandó mag-hőmérsékletét ellenőriztük, kezdetben lámpával melegítve, a továbbiakban pedig fűthető patkány-padon dolgoztunk, amit Thermocontroller segítségével szabályoztunk.

A bal alsó metszőfogát sztereomikroszkóp alatt olyan vékonyságúra preparáltuk mind a mesialis, mind a distalis oldalon, hogy a pulpalis keringés a kamerával és képerősítővel felszerelt Zeiss ill. NIKON mikroszkópban követhető, ill. - a TV-képernyőn – az erek belső átmérője mérhető legyen. A preparáláshoz 15000-es fordulatszámú működő fúrógépet és gyémánt fissura fúrót használtunk, minimális nyomást alkalmazva. A preparációs hőkárosodástól ill. a kiszáradástól a fogat 37°C-os fiziológiás sóoldat alkalmazásával védjük. Az alveoláris csont és zománc eltávolítása után a fog előkészítését preparációs mikroszkóp (Zeiss 1,6 x 6,3 ill Nikon, Japán 10x vizuális nagyítás) alatt folytattuk mindaddig, amíg a megmaradt dentinrétegen keresztül láthatóvá és ellenőrizhetővé nem vált a pulpalis erekben a keringés.

A fog preparálása után az állatot egy speciális tárgyasztal segítségével rögzítettük a vitálmikroszkópos berendezés Zeiss (10X2,5) ill. Nikon (10X10) mikroszkópjához. A kapott képet képerősítővel felszerelt (Siemens 320X) kamera illetve videokamera (Sony CCD Iris) és képerősítő (500X nagyítás) ill. digitális kamera (NIKON) és számítógépes ASUS-LIVE (ASUSTek Computer Inc.) program segítségével rögzítettük a későbbi mérésekhez.

Egy órás egyensúlyozási idő után kiválasztottunk egy arteriolát és venulát, későbbi vizsgálatunkban egy arteriolát, amelynek belső átmérőjéről megfelelő minőségű felvételeket ill. digitális felvételt készíthettünk.

Majd a kiválasztott érszakasztól distalisan, az alveoláris nyúlvány felé eső területre random módon vagy 37 °C-os fiziológiás konyhasó-oldatot vittünk fel Kutesz-f. perisztaltikus pumpa segítségével, ugyanolyan mennyiségben, mint az a tesztcsoportban a fog nedvesen tartására és állandó hőmérsékletének biztosítására történt (kontroll csoport), vagy valamelyik kompozitot (teszt-csoport), előírásnak megfelelően és ugyanolyan mennyiségben applikálva. A további vizsgálatoknál is a fog felszínét abszorbens papírral leszárítottuk és a tesztanyagot applikáltuk. Az ér lumen belső átmérőjének mérése a tesztanyag felhelyezését követő 1., 5., 15., 30. és 60. percben történt, az erre a célra szerkesztett mérőskála segítségével.

A kontrollcsoportban, ahol 37°C-os fiziológiás sóoldatot alkalmazva álműtétet hajtottunk végre, a megfelelő mérési időpontokban ugyancsak elvégeztük a méréseket.



A digitális felvételeken a belső érátmérők pontos kiértékeléséhez Scion Image Software-t használtunk.

Statisztikai analízis: A kiindulási értékekhez viszonyított érátmérő-változást a teszt anyag applikálását követő 5., 15., 30. és 60. percben kiszámítottuk.

A vitálmikroszkópos vizsgálat érátmérő változásait a kiindulási értékek (0. perc) százalékában fejeztük ki. Az így kapott adatokat átlag  $\pm$  standard hiba formában adtuk meg. Az eredmények értékelését kétszemponos ANOVA teszt (variancia analízis) segítségével végeztük el, ahol a vizsgálati anyag és a vizsgálati idő szerepelt faktorként. A teszt csoportokat Dunnet-próbával és LSD teszt segítségével hasonlítottuk össze a kontrollcsoportokkal. A normál eloszlást Kolmogorov-Smirnov ill. Shapiro-Wilk's W teszttel vizsgáltuk. Csak a 0,05-nél kisebb valószínűségi érték (p) esetén fogadtuk el a változást szignifikánsnak.

### **III. 2. Kísérleti állatok**

Kompozíciós tömőanyagokkal kapcsolatos vizsgálatainknál a MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézetében (KOKI) 230-330 g súlyú, nőstény CFY patkányokkal, összesen öt csoporttal és csoportonként tíz-tíz állattal dolgoztunk.

További vizsgálatainkat a Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Kóréletani Intézet, Haemodinamikai Laboratóriumában folytattuk. Kísérleteinket 182 darab 250-380 g súlyú, hím Sprague-Dawley patkányokon végeztük. Összesen 20 csoporttal dolgoztunk. A kísérleti patkányok állatházában az állandó szobahőmérsékletet és páratartalmat biztosítottuk. Táplálásukhoz standard tápot és vizet használtunk.

Az állatkísérleteket a Helsinki Deklaráció; a Magyar Állatvédelmi Törvény (243/1998) és a Semmelweis Egyetem állatkísérletekre vonatkozó rendelkezéseinek maximális figyelembe vételével és betartásával történtek.

### **III. 3. Kísérleti módszerek**

A módszerek leírásánál a kettős értékek szerepeltetése az időrendben eltérő két nagy vizsgálatcsoportnál alkalmazott eltérő adatokat tüntetik fel. Az első érték mindig a KOKI-ban végzett, kompozíciós tömőanyagokkal végzett vizsgálatokra vonatkoznak.

Pentobarbitál nátriummal (40 ill. 35 mg/kg; i.p.) altatott egészséges patkányokat használtunk. Az állatokon tracheotomiát végeztünk a szabad légzés biztosítása érdekében, majd a jobb a.

femoralisba heparint tartalmazó (1500 IU/ml) polietilén kanült kötöttünk a szisztémás vérnyomás regisztrálására (elektro-manométer/Haemosys-rendszer). A keringési paraméterek méréséhez ill. a fog előkészítéséhez megvártuk, hogy a keringés normalizálódjék. Az állat állandó mag-hőmérsékletét ellenőriztük, kezdetben lámpával melegítve, a továbbiakban pedig fűthető patkány-padon dolgoztunk, amit Thermocontroller segítségével szabályoztunk.

A bal alsó metszőfogot sztereomikroszkóp alatt olyan vékonyságúra preparáltuk mind a mesialis, mind a distalis oldalon, hogy a pulpalis keringés a kamerával és képerősítővel felszerelt Zeiss ill. NIKON mikroszkópban követhető, ill. - a TV-képernyőn – az erek belső átmérője mérhető legyen. A preparáláshoz 15000-es fordulatszámú működő fúrógépet és gyémánt fissura fúrót használtunk, minimális nyomást alkalmazva. A preparációs hőkárosodástól ill. a kiszáradástól a fogat 37°C-os fiziológiás sóoldat alkalmazásával védtük. Az alveoláris csont és zománc eltávolítása után a fog előkészítését preparációs mikroszkóp (Zeiss 1,6 x 6,3 ill Nikon, Japán 10x vizuális nagyítás) alatt folytattuk mindaddig, amíg a megmaradt dentinrétegen keresztül láthatóvá és ellenőrizhetővé nem vált a pulpalis erekben a keringés.

A fog preparálása után az állatot egy speciális tárgyasztal segítségével rögzítettük a vitálmikroszkópos berendezés Zeiss (10X2,5) ill. Nikon (10X10) mikroszkópjához. A kapott képet képerősítővel felszerelt (Siemens 320X) kamera illetve videokamera (Sony CCD Iris) és képerősítő (500X nagyítás) ill. digitális kamera (NIKON) és számítógépes ASUS–LIVE (ASUSTek Computer Inc.) program segítségével rögzítettük a későbbi mérésekhez.

Egy órás egyensúlyozási idő után kiválasztottunk egy arteriolát és venulát, későbbi vizsgálatinkban egy arteriolát, amelynek belső átmérőjéről megfelelő minőségű felvételeket ill. digitális felvételt készíthettünk.

Majd a kiválasztott érszakasztól distalisan, az alveoláris nyúlvány felé eső területre random módon vagy 37 °C-os fiziológiás konyhasó-oldatot vittünk fel Kutesz-f. perisztaltikus pumpa segítségével, ugyanolyan mennyiségben, mint az a tesztcsoportban a fog nedvesen tartására és állandó hőmérsékletének biztosítására történt (kontroll csoport), vagy valamelyik kompozitot (teszt-csoport), előírásnak megfelelően és ugyanolyan mennyiségben applikálva. A további vizsgálatoknál is a fog felszínét abszorbens papírral leszárítottuk és a tesztanyagot applikáltuk. Az ér lumen belső átmérőjének mérése a tesztanyag felhelyezését követő 1., 5., 15., 30. és 60. percben történt, az erre a célra szerkesztett mérőskála segítségével.

A kontrollcsoportban, ahol 37°C-os fiziológiás sóoldatot alkalmazva álműtétet hajtottunk végre, a megfelelő mérési időpontokban ugyancsak elvégeztük a méréseket.

A digitális felvételeken a belső érátmérők pontos kiértékeléséhez Scion Image Software-t használtunk.

Statisztikai analízis: A kiindulási értékekhez viszonyított érátmérő-változást a teszt anyag applikálását követő 5., 15., 30. és 60. percen kiszámítottuk.

A vitálmikroszkópos vizsgálat érátmérő változásait a kiindulási értékek (0. perc) százalékában fejeztük ki. Az így kapott adatokat átlag  $\pm$  standard hiba formában adtuk meg. Az eredmények értékelését kétszemponos ANOVA teszt (variancia analízis) segítségével végeztük el, ahol a vizsgálati anyag és a vizsgálati idő szerepelt faktorként. A teszt csoportokat Dunnet-próbával és LSD teszt segítségével hasonlítottuk össze a kontrollcsoportokkal. A normál eloszlást Kolmogorov-Smirnov ill. Shapiro-Wilk's W teszttel vizsgáltuk. Csak a 0,05-nél kisebb valószínűségi érték (p) esetén fogadtuk el a változást szignifikánsnak.

#### IV. Eredmények

##### IV.1. Az adhezív technikában használt bondanyagok/adhezívek patkányfogak pulpális ereire kifejtett hatásának vizsgálata

###### Prompt L Pop<sup>®</sup> hatásának vizsgálata

	Érátmérő változások %				
	0.perc	5. perc	15. perc	30.perc	60. perc
kontroll	0	10,91 $\pm$ 3,41	11,3 $\pm$ 4,09	8,52 $\pm$ 4,02	8,23 $\pm$ 2,91
teszt	0	-11,15 $\pm$ 5,0	-14,66 $\pm$ 7,7	-13,35 $\pm$ 5,7	-11,82 $\pm$ 5,6

Egy esetben stasis volt megfigyelhető.

###### Xeno<sup>®</sup> III hatásának vizsgálata

	Érátmérő változások %				
	0.perc	5. perc	15. perc	30.perc	60. perc
kontroll	0	-0,3 $\pm$ 5,11	1,78 $\pm$ 6,8	0,77 $\pm$ 3,29	-1,54 $\pm$ 6,12
teszt	0	11,15 $\pm$ 9,11	17,59 $\pm$ 8,43	11,81 $\pm$ 8,67	11,76 $\pm$ 8,69

## IV.2. Polimerizációs fény hatásának vizsgálata a pulpa arterioláinak érátmérőjére

### Polimerizációs fény hatásának vizsgálata - 40 sec

	Érátmérő változások %				
	0.perc	5. perc	15. perc	30.perc	60. perc
kontroll	0	-0,27 ± 3,08	3,02 ± 2,24	3,28 ± 3,55	0,33 ± 2,69
Teszt	0	-4,11 ± 3,09	4,81 ± 1,82	0,63 ± 3,13	-2,07 ± 4,99

### Polimerizációs fény hatásának vizsgálata - 80 sec

	Érátmérő változások %				
	0.perc	5. perc	15. perc	30.perc	60. perc
kontroll	0	1,80 ± 2,35	2,82 ± 1,67	2,44 ± 2,83	2,05 ± 2,50
teszt	0	3,58 ± 5,73	4,75 ± 8,13	10,52 ± 7,78	6,56 ± 8,37

## IV.3. A lokális nitogénmonoxid-szintézis gátlás hatása a pulpa arterioláinak érátmérőjére

### L-NAME hatásának vizsgálata egészséges állatokban

	Érátmérő változások %				
	0.perc	5. perc	15. perc	30.perc	60. perc
kontroll	0	2,95 ± 0,93	2,77 ± 1,57	3,13 ± 1,95	2,98 ± 1,77
teszt	0	-7,56 ± 3,05	-16,54 ± 3,4	-15,48 ± 2,7	-21,1 ± 4,2

### L-NAME hatásának vizsgálata bond anyag indukálta reverzibilis pulpitis után

	Érátmérő változások %						
	0. perc	5. perc	15. perc	20. perc	30. perc	45. perc	75. perc
kontroll	0	-2,01 ± 4,1	3,14 ± 4,73	5,21 ± 6,72	0,85 ± 5,83	-2,05 ± 3,82	-1,92 ± 3,69
teszt	0	15,9 ± 10,7	15,6 ± 12,5	6,06 ± 10,7	-3,65 ± 10,3	-4,39 ± 10,8	-9,03 ± 8,99

## V. Következtetések

Az „in vivo” biokompatibilitási kísérletek azon a tényen alapulnak, hogy a pulpa-közeli dentin-rétegre applikált fogászati anyagok reverzibilis ill. irreverzibilis változásokat okozhatnak a fogbél mikrocirkulációjában. Vitálmikroszkópos kísérleteinkben az alkalmazott tesztanyagok (tömőanyagok, kondicionálók, adhezívek) hatását vizsgáltuk a mikrokeringésre, a pulpa-közeli (20-40µm) szituációt modellezve. Az akut vascularis reakciók jó markerei az anyagok iniciális, legnagyobb mérvű toxicitásának. A szisztémás keringés befolyásolása nélkül, lokálisan alkalmazott anyagok vizsgálatának előnyeiben túlmenően kiszűrhetőek a preparációs károsodások és a széli hasadékokban jellegzetes bakteriális fertőzések – az eredményeket befolyásoló - következményei is.

**V.1.** Az adhezív technikában alkalmazott bondanyagok/adhezívek patkányfogak pulpális ereire kifejtett hatása

A következő vizsgálati sorozatunkban self-etch sealerek pulpális hatását vizsgáltuk. A legújabb self-etch bondok, amelyek csak egyetlen applikációs lépést igényelnek, időt takarítanak meg a fogorvos részére és egyszerűségük révén a bondozó procedúra során számos hibalehetőséget is eliminálnak. Az 'önsavazó rendszerek' szimultán képesek leöblítés nélkül kondicionálni és resin monomerekkel átítatni a preparált zománc- és dentinfelszínt.

A Prompt L-Pop<sup>®</sup>-ot igen vékony dentinrétegre applikálva kilenc esetben szignifikáns vasoconstrictiot és egy esetben stasist tapasztaltunk. Eredményeink jelzik, hogy ez az önsavazó rendszer jelentős hatást gyakorol a fogbél keringésére.

A Xeno<sup>®</sup> III mérési adatai szignifikáns vasodilatatio-t mutattak. Amennyiben a demineralizáció és a smear layerbe történő penetráció alapján vizsgáljuk a self-etch primer Xeno<sup>®</sup> III-at, igen jó penetráló képességet feltételezhetünk. Ezt nanofiller tartalma alapozza meg, amely a nanoretenció mellett alacsony viszkozitást biztosít, megnöveli az adhézios szilárdságot és tökéletesíti a marginális integritást. Ezek a „közéértékű strong” self-etch adhezívek pH 1,5 körüli értékeket mutatnak. Mindezek alapján igen vékony dentin réteg esetén, amely (jelen esetünkben) már oly vékony, hogy nem képes hatásos barrierként funkcionálni, a Xeno<sup>®</sup> III pulpális koncentrációja elérhet egy olyan szintet, amelyre már pulpális válaszreakció alakul ki. Összehasonlítva a két self-etch primert elmondhatjuk, hogy a Prompt L-Pop<sup>®</sup>

agresszivitása, pulpális toxicitása a kifejezettebb. Ennek háttérében a magasabb aciditás áll.

**V.2.** A polimerizációs fény hatására bekövetkező változásokat – sealer használatától függetlenül is – megvizsgáltuk 40 és 80 secundos behatási idővel. Mindkét kísérletsorozat kimutatta, hogy a polimerizációs lámpa az adott vizsgálati körülmények között a fogbél mikroereinek átmérőjében nem okozott szignifikáns eltérést. Így a sealerek pulpális hatását a polimerizációs fény közvetlenül nem befolyásolta.

**V.3.** A lokális nitrogénmonoxid-szintézis gátlás hatása a pulpa arterioláinak átmérőjére  
Vizsgálatainkban, az L-NAME lokális adagolása nem stimulált egészséges fogbélben szignifikánsan csökkentette a pulpális arteriolák belső átmérőjét. Kísérleti modellünk nem tette lehetővé a NOS blokkoló diffúzióját az extrapulpális, környező szövetekbe, így saját vizsgálatunk adataiból feltételezhető, hogy a fogbélben a NO egy folyamatos bazális értékben termelődik és a NO vasodilatator hatását a fogbélben képes kifejteni.

Berggren és Heyeraas vizsgálataiban rámutatott arra, hogy a NO a postkapilláris venulákon és vénákon keresztül fejt ki hatását. Mivel vizsgálatunkban a NO arteriolákra kifejtett hatását teszteltük, adataink azt mutatják, hogy a nitrogénmonoxid az arteriolákra is hat.

Másik vizsgálati csoportunkban az L-NAME-t polimerizálandó, total-etch rendszerű bond anyag okozta szignifikáns vasodilatatio után applikáltuk. Korábbi, de ugyanezen kísérleti beállítással végzett vizsgálatainkban már igazoltuk, hogy a bondanyag kiváltotta vasodilatatio a 15. percig fokozódik Ezen eredményeket felhasználva, a hiperémiát 15 perces bondanyag applikálásával váltottuk ki. 15 perc eltelte után az L-NAME eliminálta a bond által kiváltott szignifikáns vasodilatatiót. Ezen eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a NO részt vesz a károsító noxára, jelen esetben a total etch csonkvédő applikálására adott védekező válaszreakcióban.

## **VI. Új tudományos megállapítások és az eredmények hasznosítása**

A hazai gyakorlatban elsőként alkalmazott és részben módosított, továbbfejlesztett (quantitatív mérések) vizsgálati módszerünk a fogászati tömőanyagok biológiai acceptabilitásának megítéléséhez alkalmazott teszt-eljárásoknak jó kiegészítője lehet, amely az azonnali, inicialis toxicitásra adott válaszreakciók tisztázásához nyújt jó lehetőséget.

A módszer további nagy előnye az „in vivo” helyi applikáció, amely a szisztémás hatásokat mintegy szeparálja, „kiszűri”, szinte egyedülálló lehetőséget biztosítva a vizsgáló-eljárások között, bizonyítva a mikrocirkuláció vitálmikroszkópos tanulmányozási lehetőségének jelentőségét.

A self-etch rendszereknél a „strong” rendszerek erős savi valenciáit a dentin-pulpa komplex nem képes maximalisan kivédeni. Lehetséges, hogy a létrejövő kémiai kötések ennél az adhezívinnél nem elégségesek a nem leöblítendő sav neutralizálására (7).

A „középtértékű strong” rendszerek viszont már minden pulpalis károsodás nélkül alkalmazhatóak.

A polimerizációs lámpa 80 secundumot meghaladó alkalmazásánál mindenképp tartsunk szünetet az expozíciók között, vagy az ún. „soft-start” vagy a „pulse cure” megvilágítási technikákat alkalmazzuk.

Mindenesetre az általunk alkalmazott megvilágítási idő az eredményeinket nem befolyásolta.

Kimutattuk, hogy az L-NAME lokális alkalmazása, nem stimulált, egészséges fogbélben szignifikánsan csökkenti a pulpális arteriolák belső átmérőjét.

Total-etch rendszerű bondanyag indukálta szignifikáns vasodilatációt az L-NAME eliminálja.

Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a NO-nak igen fontos szerepe van egyrészt a bazális véráramlás fenntartásában, másrésztől viszont részt vesz a bond anyagra adott pulpális válaszreakcióban.

Kimutattuk, hogy a NO a pulpális arteriolákon is hat.