
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Influența materialelor de restaurare dentară asupra statusului parodontal

Doctorand **Andreea Cîndea**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Alexandra Roman**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Materiale de restaurare dentară directă. Clasificare și considerații asupra proprietăților	17
1.1. Materiale de restaurare directă nefizionomice: Amalgamul dentar	17
1.2. Materiale de restaurare directă fizionomice	18
1.1.1. Materiale pe bază de rășini: materiale compozite	18
1.2.2. Giomerii	27
1.2.3. Ormocerii	29
2. Rezultate clinice asociate restaurărilor compozite posterioare directe	31
2.1. Performanța restaurărilor compozite posterioare directe - date generale	31
2.2. Refacerea contactelor proximale în practica clinică	32
2.3. Sensibilitatea post-operatorie după restaurarea compozită posterioară directă	33
2.4. Longevitatea restaurărilor compozite posterioare directe	35
3. Evaluarea toxicității materialelor compozite	37
3.1. Testarea biocompatibilității materialelor compozite	37
3.1.1. Testele <i>in vitro</i>	37
3.1.2. Testele pe animale	39
3.1.3. Testele de utilizare	39
3.2. Toxicitatea preparatelor de tratare a plăgii dentinare, a sistemelor adezive și a materialelor pe bază de rășini	41
3.2.1. Toxicitatea preparatelor de tratare a plăgii dentinare	41
3.2.2. Toxicitatea sistemelor adezive	41
3.2.3. Toxicitatea materialelor dentare pe bază de rășini	42
3.3. Eliberarea compușilor toxici solubiliizați	43
3.4. Inducerea apoptozei celulare de către materialele dentare pe bază de rășini	43
3.5. Dezavantaje asociate materialelor compozite pe bază de rășini	44

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

1. Ipoteza de lucru/obiective	49
2. Metodologie generală	49
3. Studiul 1 - Evaluarea biocompatibilității unor materiale de restaurare dentară asupra celulelor mezenchimale stromale gingivale	53
3.1. Introducere	53
3.2. Ipoteza de lucru	56
3.3. Material și metodă	56
3.4. Rezultate	61
3.5. Discuții	71
3.6. Concluzii	74
4. Studiul 2 - Aprecierea influenței restaurărilor posterioare directe de clasa a II-a asupra parodontiului într-un studiu clinic observațional	77
4.1. Introducere	77
4.2. Ipoteza de lucru	78
4.3. Material și metodă	78
4.4. Rezultate	85
4.5. Discuții	97
4.6. Concluzii	101
5. Studiul 3 - Studiu <i>in vitro</i> asupra adeziunii și microinfiltrației în restaurarea directă de clasa a II-a cu materiale pe bază de rășini	103
5.1. Introducere	103
5.2. Ipoteza de lucru	105
5.3. Material și metodă	105
5.4. Rezultate	111
5.5. Discuții	119
5.6. Concluzii	123
6. Concluzii generale	125
7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	127
REFERINȚE	129
Cuvinte cheie: compozite, omoceri, restaurări directe, celule stem mezenchimale gingivale, parametri parodontali, microinfiltrație	

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

1. Materiale de restaurare dentară directă. Clasificare și considerații asupra proprietăților

Amalgamul dentar a fost cel mai folosit material de restaurare în medicina dentară, datorită costurilor reduse și datorită durabilității crescute. În timp, folosirea amalgamului dentar s-a asociat cu o serie de dezavantaje cum ar fi lipsa adeziunii, eliminarea excesivă de țesuturi dentare și nu în ultimul rând, au apărut îngrijorările legate de posibila toxicitate asociată mercurului.

Astfel, amalgamul dentar a fost înlocuit cu materialele de restaurare compozite care reprezintă unul dintre numeroasele succese ale cercetării moderne în materie de biomateriale, deoarece înlocuiesc țesutul biologic atât prin aspect, cât și prin funcție. Materialele compozite reprezintă prima alegere în restaurările posterioare directe, datorită proprietăților acceptabile pe care le prezintă la ora actuală.

Au apărut și clase relativ noi de materiale de restaurare directă, cum sunt de exemplu giomerii care oferă estetica, manipularea și proprietățile fizice ale rășinilor compozite, dar care au beneficii suplimentare cum ar fi radiopacitatea ridicată, efectul anti-placă și eliberarea de fluor, sau ormocerii care s-au dezvoltat în încercarea de a depăși una dintre preocupările asociate umpluturilor convenționale ale compozitelor.

2. Rezultate clinice asociate restaurărilor compozite posterioare directe

Restaurările dentare directe au o durată de viață limitată, iar longevitatea acestora este influențată de mai mulți factori, precum manualitatea și experiența practicianului stomatolog, materialele selectate, dar există și o serie de factori legați de pacienți și anume localizarea și dimensiunea restaurării sau carioreceptivitatea.

Materialele de restaurare directă actuale cresc performanțele clinice prin compoziția avansată, care are un conținut crescut de micro și nano-umplutură, ceea ce optimizează proprietățile fizice, rezistența la uzură și funcționalitatea în timp.

3. Evaluarea toxicității materialelor compozite

Este ideal ca materialele utilizate în stomatologie, și nu numai, să fie inerte din punct de vedere biologic, însă există puține materiale care să nu creeze o interacțiune cu țesutul cu care vin în contact. În acest context, există protocoale standard recomandate pentru evaluarea biologică a siguranței materialelor utilizate în stomatologie, reglementate internațional.

Preparatele care sunt utilizate împreună cu materialele compozite pe bază de rășini, cum sunt de exemplu preparatele de tratare a plăgii dentinare și sistemele adezive pot avea un efect citotoxic asupra țesuturilor. De asemenea, monomerii solubilizați din rășinile compozite în urma polimerizării pot avea un efect toxic.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Studiul 1 - Evaluarea biocompatibilității unor materiale de restaurare dentară asupra celulelor mezenchimale stromale gingivale

Introducere. Materialele compozite pe bază de rășini sunt cele mai des folosite materiale de restaurare în practica curentă și sunt asociate cu o performanță clinică bună, însă unul dintre dezavantajele acestora este că nu sunt inerte și datorită componentelor solubilizate acestea pot induce efecte biologice negative asupra celulelor orale cum ar fi citotoxicitate, genotoxicitate sau pot avea efecte mutagenice, iar în cazul restaurărilor directe de clasa a II-a materialele sunt plasate în apropierea țesuturilor gingivale și acestea pot exercita de asemenea un efect negativ asupra celulelor progenitoare locale.

Obiectivul principal al studiului a fost de a evalua citotoxicitatea materialelor ormocere și compozitelor tradiționale puse în relație cu celule mezenchimale stromale gingivale (MSCs), prin realizarea testului MTT (bromură de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazoliu), prin realizarea de teste de funcționalitate și prin observații de microscopie electronică de baleiaj. De asemenea, s-a dorit identificarea și cuantificarea monomerilor solubiizați din materiale prin lichid cromatografie de înaltă performanță.

Material și metodă. Pentru studiul biocompatibilității s-au utilizat MSCs izolate din țesuturile gingivale izolate anterior de la pacienți care au suferit intervenții chirurgicale parodontale puse în relație cu patru materiale de restaurare: doi ormoceri (Admira Fusion X-tra® și Admira Fusion®, Voco) și două materiale compozite convenționale (Essentia® și G-aenial®, GC), din care s-au realizat câte 10 probe/material, sub formă de discuri cu diametru de 6 mm și grosime de 1 mm. S-au realizat teste de funcționalitate (unitățile formatoare de colonii (CFU-F), potențialul de migrare și cel de proliferare) și teste de viabilitate celulară (testul MTT). Morfologia celulelor s-a observat prin microscopie electronică de baleiaj, iar compușii majori solubiizați au fost identificați prin lichid cromatografie de înaltă performanță.

Rezultate. Testele CFU-F, potențialul migrator și testele de proliferare au relevat indirect efecte citotoxice ale tuturor biomaterialelor testate comparativ cu grupul control, iar testul MTT nu a evidențiat niciun efect nociv al materialelor asupra MSCs după 20 de ore, dar cu toate acestea după 7 și 14 zile de cultură, toate materialele testate au determinat o scădere a viabilității a MSCs comparativ cu grupul control.

Concluzii. Toate materialele testate au indus un efect citotoxic, indicat de funcționalitatea și viabilitatea afectate a MSCs gingivale.

Studiul 2 - Aprecierea influenței restaurărilor posterioare directe de clasa a II-a asupra parodonțiului într-un studiu clinic observațional

Introducere. Materialele compozite sunt cele mai folosite materiale de restaurare dentară directă pentru tratarea leziunilor carioase de clasa I și a II-a a dinților posteriori, însă deși s-au realizat multe îmbunătățiri ale acestora, contracția de polimerizare și stresul rezultat în urma polimerizării reprezintă încă limitări ale restaurărilor compozite. Pentru a depăși problemele materialelor compozite convenționale pe bază de rășini au fost introduse pe piața materialelor dentare de restaurare directă - ormocerii (materiale ceramice modificate organic) care prezintă proprietăți fizice și mecanice îmbunătățite.

Obiectivul studiului a fost evaluarea comportamentului clinic pe o perioadă de 3 luni a unor restaurări directe de clasa a II-a realizate cu 2 materiale de restaurare ormocere, aplicate prin două tehnici diferite.

Material și metodă. S-au realizat 30 de restaurări posterioare directe, de clasa a II-a, folosind două materiale ormocere (Admira Fusion X-tra® și Admira Fusion®, Voco), aplicate prin două tehnici diferite, tehnica bulk fill, respectiv tehnica de refacere a peretelui proximal. Restaurările dentare au fost urmărite și evaluate în 4 momente temporare diferite și anume momentul 0, la 14 zile post-tratament, la 1 lună și la 3 luni. Evaluarea clinică a monitorizat parametri parodontali (indice de placă, indice de sângerare, profunzime la sondare și pierdere de atașament) și criteriile de apreciere a restaurărilor (colorația marginală, integritatea marginală, textura suprafeței, abrazia, sensibilitatea post-operatorie și carii secundare).

Rezultate. Valorile indicilor de placă și de sângerare au înregistrat scăderi pe perioada de 3 luni de monitorizare pentru ambele tipuri de restaurări și materiale utilizate, iar profunzimea la sondare și pierderea de atașament au înregistrat aceleași valori pe tot parcursul evaluărilor.

Concluzii. 3. Rezultatele studiului au dovedit că ambele tehnici de restaurare –tehnica bulk fill și tehnica peretelui proximal- și ambele materiale de tip ormocer, Admira Fusion X-tra® și Admira Fusion® pot să fie cu succes folosite în practica clinică.

Studiul 3 - Studiu *in vitro* asupra adeziunii și microinfiltrației în restaurarea directă de clasa a II-a cu materiale pe bază de rășini

Introducere. Contracția de polimerizare a rășinilor compozite și acumularea de tensiune datorată contracției reprezintă încă dezavantajele majore ale utilizării rășinilor compozite în restaurările directe. Acest lucru se poate datora faptului că forțele și stresul apărute în urma contracției de polimerizare pot afecta adeziunea la pereții cavității, ducând la apariția de goluri de-a lungul interfeței dinte-restaurare,

prin care pot pătrunde fluidele din mediul oral. Microinfilturația este o problemă frecvent asociată restaurărilor compozite directe posterioare aplicate în cavitățile de clasa a II-a profunde, în special când marginile restaurării sunt plasate apical de joncțiunea amelo-cementară. Microinfilturația poate duce la colorarea marginilor restaurării, poate duce la apariția cariilor secundare la nivelul interfeței dinte-restaurare, poate induce hipersensibilitatea dinților restaurați și apariția patologiilor pulpare.

Obiectivul studiului a fost observarea comparativă a performanțelor adezive a două materiale ormocere versus două compozite micro-hibride, folosite la restaurarea directă a cavităților de clasa a II-a, prin măsurarea lungimii microinfilturației la nivel cervical și la nivelul smalțului ocluzal raportată la lungimea adezivă totală, după imersia în fucsina bazică.

Material și metodă. Studiu *in vitro* a utilizat 25 de molari extrași, integri, împărțiți aleator în 5 grupuri, la nivelul cărora au fost realizate câte două cavități de clasa a II-a, respectiv restaurări directe proximo-ocluzale, realizate cu două materiale ormocere, unul de tip bulk fill Admira Fusion X-tra®(Voco) și un ormocer convențional Admira Fusion®(Voco) precum și două compozite micro-hibride Essentia®(GC) și G-aenial®(GC), folosind tehnici diferite de aplicare, tehnica bulk fill, respectiv tehnica de refacere a peretului proximal. Dinții restaurați au fost imersați pentru 24 de ore în soluție de fucsina bazică (0,2 %), apoi au fost secționati în sens ocluzo-apical, cu ajutorul unei mașini de tăiat de precizie (microtom). Evaluarea microinfilturației colorantului de la nivelul secțiunilor s-a realizat cu ajutorul microscopiei optice.

Rezultate. Majoritatea restaurărilor (secțiunilor) evaluate, au prezentat microinfilturație în proporții diferite, atât la nivel cervical cât și la nivelul smalțului ocluzal, excepție făcând un dinte din grupul restaurat cu materialul Admira Fusion® care nu a prezentat microinfilturație nici la nivel cervical și nici la nivelul smalțului ocluzal.

Concluzii. Nu au fost găsite diferențe statistice semnificative între materialele utilizate și nici între tehnicile de restaurare utilizate, deoarece gradele cele mai scăzute și similare de microinfilturație au fost observate la un grup restaurat cu un material ormocer prin tehnica bulk fill și la un grup restaurat cu un material compozit micro-hibrid, prin tehnica de refacere a peretului proximal.

PhD THESIS – ABSTRACT

The influence of dental restoration materials on the periodontal status

Doctorand **Andreea Câdea**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Alexandra Roman**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	13
STATE OF THE ART	
1. Direct dental restoration materials. Clasification and considerations over the properties	17
1.1. Unesthetic direct restoration materials: Dental Amalgam	17
1.2. Esthetic direct restoration materials	18
1.1.1. Resin based materials: Composites	18
1.2.2. Giomers	27
1.2.3. Ormocers	29
2. Clinical results associated with direct posterior resin composite restorations	31
2.1. Performance of direct posterior composite restorations - general data	31
2.2. Restoration of proximal contacts in clinical practice	32
2.3. Postoperative sensitivity after direct posterior composite restoration	33
2.4. Longevity of direct posterior composite restorations	35
3. Toxicity assessment of resin composite materials	37
3.1. Testing the biocompatibility of composite materials	37
3.1.1. In vitro tests	37
3.1.2. Animal tests	39
3.1.3. Usage tests	39
3.2. Toxicity of dentin surface healing preparations, adhesive systems and resin-based materials	41
3.2.1. Toxicity of dentin surface treatment preparations	41
3.2.2. Toxicity of adhesive systems	41
3.2.3. Toxicity of resin-based dental materials	42
3.3. Release of leachable toxic compounds	43
3.4. Induction of cellular apoptosis by resin-based dental materials	43
3.5. Drawbacks associated with resin based composite materials	44
PERSONAL CONTRBUTION	
1. Research hypothesis/Objectives	49

2. General methodology	49
3. First study - Evaluation of the biocompatibility of dental restorative materials on gingival stromal mesenchymal cells	53
3.1. Introduction	53
3.2. Working hypothesis	56
3.3. Materials and method	56
3.4. Results	61
3.5. Discussions	71
3.6. Conclusions	74
4. Second study - Evaluation of the influence of direct class II posterior restorations on the periodontium in an observational clinical study	77
4.1. Introduction	77
4.2. Working hypothesis	78
4.3. Materiala and method	78
4.4. Results	85
4.5. Discussions	97
4.6. Conclusions	101
5. Third study - <i>In vitro</i> study on adhesion and microleakage in direct class II restoration with resin based materials	103
5.1. Introduction	103
5.2. Working hypothesis	105
5.3. Materiala and method	105
5.4. Results	111
5.5. Discussions	119
5.6. Conclusions	123
6. General Conlusions	125
7. Originality and Innovative Contributions of the Thesis	127
REFERENCES	129

Key words: composites, ormocers, direct restorations, gingival stromal mesenchymal cells, periodontal parameters, microleakage

STATE OF THE ART

1. Direct dental restoration materials. Clasification and considerations over the properties

Dental amalgam was the most widely restorative material used in dentistry, due to its low cost and high durability. Over time, the use of dental amalgam was associated with a number of disadvantages such as lack of adhesion, excessive removal of dental tissue and some concerns about the possible toxicity associated with mercury.

Thus, dental amalgam has been replaced with composite restorative materials considered one of the many successes of modern research in biomaterials, because they replace biological tissue in both appearance and function. Composite materials are the first choice in direct posterior restorations, due to the acceptable properties they currently present.

New classes of direct restoration materials were also developed, such as giomers, which provide the aesthetics, handling and physical properties of the composite resins, but have additional benefits such as: high radiopacity, anti-plaque effect and fluoride release; or ormocers that were developed in an attempt to overcome one of the concerns associated with conventional composite fillings.

2. Clinical results associated with direct posterior resin composite restorations

Dental restorations have a limited lifespan, and their longevity is influenced by several factors, such as: the ability and the experience of the dentist, the chosen materials, but there are a number of factors related to patients, location, size of restoration or cario-receptivity.

Current direct restoration materials increased clinical performance through advanced composition of the resin composites, which has an increased content of micro and nano-filler, which optimizes: physical properties, wear resistance and functionality over time.

3. Toxicity assessment of resin composite materials

It is ideal that the materials used in dentistry, and not only, to be biologically inert, but there are only a few materials that do not create an interaction with the tissue when coming into contact. In this context, there are standard protocols recommended for the biological evaluation of the safety of materials used in dentistry, which are internationally regulated.

Preparations used in addition with resin-based composites, such as dentin surface treatment preparations and adhesive systems, may have a cytotoxic effect on the tissues. Also, leachable monomers may have a toxic effect after resins composite polymerization.

PERSONAL CONTRIBUTION

First study - Evaluation of the biocompatibility of dental restorative materials on gingival stromal mesenchymal cells

Introduction. Resin-based composites are the most commonly used restorative materials in the current practice and are associated with good clinical performance, but one of their disadvantages is that they are not inert and due to eluted components they can induce negative biological effects on oral cells such as: cytotoxicity, genotoxicity or may have mutagenic effects, and in case of direct class II restorations the materials which are placed near the gingival tissues may also induce a negative effect on local progenitor cells.

The main objective of the study was to evaluate the cytotoxicity of ormocer materials and traditional composites related to gingival stromal mesenchymal cells (MSCs), by performing the MTT (3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) assay and functionality assays, and by scanning electron microscopy observations. A second objective was to identify and quantify the leached monomers from materials using high-performance liquid chromatography.

Materials and method. For the biocompatibility study, MSCs was isolated from gingival tissues, previously isolated from patients undergoing periodontal surgery, related to four restoration materials: two ormocers (Admira Fusion X-tra[®] and Admira Fusion[®], Voco) and two conventional composites (Essentia[®] and G-aenial[®], GC), from which 10 samples/material were made, in the form of discs with a diameter of 6 mm and a thickness of 1 mm. Functionality assays (colony forming units (CFU-F), migratory potential and proliferation potential) and cell viability assay (MTT test) were performed. The cells' aspect was observed by scanning electron microscopy, and the major leached compounds were identified by high-performance liquid chromatography.

Results. CFU-F assay, migratory potential and proliferation assays, indirectly revealed cytotoxic effects of all biomaterials tested compared to the control group, and the MTT assay did not reveal any harmful effects of materials on MSCs after 20 hours; however after 7 and 14 days of culture, all tested materials resulted in a decreasing viability of MSCs compared to the control group.

Conclusions. All tested materials induced a cytotoxic effect, indicated by the affecting functionality and viability of gingival MSCs.

Second study – Evaluation of the influence of direct class II posterior restorations on the periodontium in an observational clinical study

Introduction. Resin based composites are most widely used as a direct dental restorative material for the treatment of class I and class II carious lesions of the posterior teeth, but although many improvements have been made, polymerization shrinkage and stress resulting from the polymerization are still limitations of composite restorations. To overcome the problems of the conventional resin based composite materials, ormocers (organically modified ceramic materials) were introduced to the dental market of direct restoration materials – which have improved physical and mechanical properties.

The objective of the study was to evaluate the clinical behavior, over a period of 3 months, of direct class II restorations, made with 2 ormocers materials, applied through two different techniques.

Materials and method. 30 class II direct posterior restorations were made using two ormocer materials (Admira Fusion X-tra® and Admira Fusion®, Voco), applied by two different techniques, the bulk fill technique and the proximal wall restoration technique. The direct restorations were evaluated at 4 different times, at the start, 14 days post-treatment, 1 month and 3 months post-treatment. The clinical evaluation observed periodontal parameters (plaque index, bleeding index, probing depth and attachment loss) and restoration correctness criteria (marginal staining, marginal integrity, surface texture, abrasion, postoperative sensitivity and secondary caries).

Results. The values of the plaque and bleeding indices decreased during the 3-month monitoring period for both types of restorations and materials used, and the probing depth and attachment loss measurements recorded the same values throughout the period of evaluation.

Conclusions. The results of the study proved that both restoration techniques - bulk fill technique and proximal wall technique - and both ormocer type materials, Admira Fusion X-tra® and Admira Fusion® can be successfully used in the clinical practice.

Third study - *In vitro* study on adhesion and microleakage in direct class II restoration with resin based materials

Introduction. The polymerization shrinkage of resin composites and the accumulation of stress due to shrinkage are still the major disadvantages of using resin composites in direct restorations. This may be due to the fact that the forces and stress caused by the polymerization shrinkage can affect the adhesion to the cavity walls, leading to the appearance of gaps along the tooth-restoration interface, through which fluids can enter the oral environment. Microleakage is a frequently problem associated with

direct posterior composite restorations applied in deep class II cavities, especially when the edges of the restoration are placed apically to the amelo-cement junction. Microleakage can lead to staining of the restorations, to appearance of secondary caries at the tooth-restoration interface, can induce hypersensitivity of the restored teeth and can also produce pulpal pathologies.

The objective of the study was to make a comparative observation of the adhesive performances of two ormocer materials versus two micro-hybrid composites, used in the direct class II restorations, by measuring the length of microleakage at the cervical level and at the occlusal enamel, relative to the total adhesive length, after the immersion in basic fuchsin.

Materials and method. This *in vitro* study used 25 extracted, intact molars, randomly divided into 5 groups, at which two class II cavities were made, respectively direct proximo-occlusal restorations, performed with two ormocer materials, Admira Fusion X-tra®(Voco) - bulk fill type, and a conventional ormocer, Admira Fusion®(Voco) as well as two micro-hybrid composites, Essentia®(GC) and G-aenial®(GC), placed by using different application techniques, bulk fill technique, and proximal wall technique. The restored teeth were immersed for 24 hours in basic fuchsin solution (0,2%), then the teeth were cut in occlusal-apical direction, with the help of a precision cutting machine (microtom). The evaluation of the microleakage of the dye penetration from the samples was performed using optical microscopy.

Results. Most of the evaluated restorations (samples) showed microleakage in different proportions, both on cervical level and on occlusal enamel level, except for one tooth restored with the ormocer material Admira Fusion®, which did not show microleakage either at the cervical level or at the level of the occlusal enamel.

Conclusions. No statistically significant differences were found between the materials or between the restoration techniques used, because low and similar proportions of microleakage were observed in a group restored with a ormocer material associated with the bulk fill technique and in a group restored with a micro-hybrid composite, associated with proximal wall restoration technique.