



两步法酸蚀-冲洗粘结剂对脱胶原蛋白牙本质的粘结

Adhesion of a Two-step Etch-and-Rinse Adhesive on Collagen-depleted Dentin

Vicente P. A. Saboia / Fernando Nato / Annalisa Mazzoni / Giovanna Orsini / Angelo Putignano / Marcelo Giannini / Lorenzo Breschi
原载 J Adhes Dent 2008;10(6):419-422 (英文)

徐杰 冯琳 译 岳林 审

摘要

目的:评估 XP-Bond 与人脱蛋白牙本质粘结即刻和人工老化 6 个月后粘结界面的微拉伸粘结强度和纳米渗漏的表现。**材料和方法:**选择成人无龋磨牙,暴露中深层牙本质,分为组 1 (XP-Bond 与脱蛋白的牙本质粘结)和组 2 (按照生产商的说明使用 XP-Bond)。在组 1 中,酸蚀牙本质表面后,用 10% 次氯酸钠处理 60s 以去除暴露的已脱矿的有机基质,再与 XP-Bond 粘结。树脂/牙本质柱采用无缝微拉伸技术,24h 或人工老化 6 个月后被拉伸至断裂。数据分析使用 two-way ANOVA 和 Tukey's post-hoc 检测 ($P < 0.05$)。通过在粘结界面上定量检测银示踪剂的量来评价界面的纳米渗漏。**结果:**在 XP-Bond 粘结前使用次氯酸钠处理组的即刻粘结强度[组 1: (18.9 ± 5.8) MPa]比对照组降低 62% [组 2: (49.9 ± 10.3) MPa; $P < 0.05$]。人工老化 6 个月后,组 1 和组 2 的粘结强度分别显著降低到 (10.1 ± 2.7) MPa 和 (35.2 ± 8.7) MPa ($P < 0.05$)。应用次氯酸钠和人工老化均会使 XP-Bond 粘结界面的纳米渗漏增加。**结论:**脱胶原的牙本质即刻粘结强度和长期的粘结稳定性均有所降低,提示胶原纤维对牙本质的粘结起着重要的作用。

关键词 牙齿粘结系统;牙本质;次氯酸钠;胶原;混合层

随着时间的推移,混合层内所含牙本质蛋白基质可能是造成粘结界面受损的原因。鉴于混合层中裸露的胶原纤维不能被树脂单体完全充满的特点,酶或其他能够作用于裸露的胶原纤维网的因素,可能会影响到混合层结构的稳定性。

为了获得更高的粘结强度,提高混合层的长期稳定性,有学者推荐使用次氯酸钠处理酸蚀过的牙本质表面以去除暴露的脱矿有机基质,从而形成所谓的“无胶原蛋白”的界面。之前的大量报道是关

于在脱胶原的牙本质上使用粘结剂对于粘结效果的影响,研究结果不尽相同,在某种程度上与被测试的粘结剂的种类有关。有些报道粘结效果有明显的提高,而另一些结果则没有差异,或者粘结力甚至会有所降低,因此对于次氯酸钠的使用以及它能否提高全酸蚀粘结剂的粘结性能依然没有定论。有趣的是,大多数的研究报道中,对于 Prime & Bond 2.1 和 Prime & Bond NT(登士柏公司 DeTrey, Konstanz, 德国)这两种丙酮基的两步法酸蚀-冲洗粘结剂,在所有不同的测试条件下,无论是在即刻粘结强度还是耐久性以及混合层的结构完整性方面,

译者 北京大学口腔医学院牙体牙髓科
北京海淀区中关村南大街22号 100081

都表现出明显的提高。最近,同一生产厂家推出了一种新配方的两步法酸蚀-冲洗粘结剂,即以叔丁醇为溶剂的XP-Bond。厂家声称与Prime & Bond 2.1和Prime & Bbond NT相比,XP-Bond对酸蚀后的牙本质有更高的粘结力,然而它对脱胶原蛋白的牙本质的粘结力目前没有相应的研究。另外,也没有关于这类粘结剂在脱蛋白牙本质上使用寿命的研究。我们推测脱胶原蛋白可能是通过去除蛋白来增加粘结的稳定性,即去除了粘结界面上能被细菌或内源性酶水解的薄弱环节。

本研究的目的是:(a)测定XP-Bond与人脱蛋白牙本质粘结即刻或人工老化6个月后的粘结强度;(b)评估界面的纳米渗漏表现。待验证的假设是用次氯酸钠处理酸蚀过的牙本质表面将会:①提高微拉伸粘结强度;②使粘结即刻或在37℃人工唾液贮存6个月后的微渗漏减少。

材料和方法

微拉伸粘结强度检测

患者签署知情同意后,选择20颗新鲜拔除的第三磨牙(实验方案经博洛尼亚大学审批)。使用慢速金刚砂锯在水冷却下磨平牙冠(Micromet, Remet; 博洛尼亚,意大利),样本用35%磷酸凝胶酸蚀15s(登士柏 Detrey),水冲洗,轻柔空气吹干2s,按照湿粘结技术要求使界面始终保持湿润。

样本被随机均分($n=10$)为2组。在组1中,于脱胶原的牙本质表面涂布XP-Bond(实验组)。在组2中,按照生产商的说明使用XP-Bond(对照组)。在组1中,用10%NaOCl(Sigma;Milano,Italy)处理酸蚀过的牙本质表面60s,以去除暴露的脱矿有机基质,用水冲洗30s,然后涂布XP-Bond。涂布粘结剂后,样本均使用石英-钨-卤素光固化灯光照20s(固化灯2500,3M公司,St Paul,MN,USA),光强为 $600\text{mW}/\text{cm}^2$ 。在粘结过的牙本质表面上逐层填加4层1mm厚的微填料复合树脂,每层均固化20s。

粘结处理过的样本按照微拉伸技术的要求连续分切,取1mm厚的小柱。然后将每颗牙齿切成的小柱随机分为2个亚组,分别在人工唾液中浸泡24h(T_0)和6个月(T_6),然后拉伸至断裂。对粘结小柱的加压使用简化的通用测试仪(Bisco;Schaumburg,IL,USA),加载速度为 $1\text{mm}/\text{min}$,拉伸至断

裂。断裂的牙本质面使用立体显微镜(Stemi 2000-C,CarlZeiss;Jena,德国)在 $50\times$ 放大下观察,分为内聚破坏(C),粘结破坏(A)或混合破坏(M)三类。记录每组在样本制备过程中过早出现断裂的样本数量。

统计学分析

由于数据呈正态分布(Kolmogorov-Smirnov检验),数据分析采用two-way ANOVA(变量:表面处理和贮存)和Tukey's post-hoc检验,预设的统计学检测水平为0.05。

界面纳米渗漏的评价

另外制备8颗牙齿(每组 $n=4$)用于界面纳米渗漏的评价。切取牙本质中深层,制成圆盘状,按照之前所述的过程制备样本,即使用XP-Bond在脱胶原的牙本质上粘结(组1)和按照生产商的使用说明(组2)用XP-Bond粘结。在粘结处理过的圆盘状样本上涂布1mm厚度的流动复合树脂(Filtek Flow,3M公司),然后光照固化。暴露粘结表面,分别保存在37℃人造唾液8中24h(T_0)和6个月(T_6)。

然后按照Suppa等的方法将样本浸泡在50%重量比的氨 AgNO_3 溶液中,彻底用蒸馏水清洗后,再浸泡在显影液中。把银浸染后的样本进行固定,脱水,用环氧树脂(Epon 812,Fluka;Buchs,Switzerland)包埋,以备在光学显微镜(LM)下观察。

样本用氰基丙烯酸酯粘固在载玻片上,用600-,800-,1200-,和2400-目的SiC砂纸伴流动水冲洗打磨平滑(LS2,Remet)。每颗牙齿可以得到5个切片,每个组有10个切片。然后使用0.5%的酸性品红将切片染色15min,在 $100\times$ 放大率的光学显微镜(Nikon E 800;Tokyo,Japan)下进行分析。对粘结界面的图像在 $100\times$ 的放大倍数下观察沿界面渗入的银示踪剂的量,由两位观测者评分,评价界面纳米渗漏的情况,详见表1。统计学分析界面评分相同的图像数量,组间的差异采用卡方检验进行分析($P<0.05$)。

结果

微拉伸粘结强度

组1和组2在粘结即刻和贮存6个月后拉伸粘结强度以MPa为单位,其平均数和标准差值见表1。

是否用 NaOCl 处理, 以及是否长期贮存, 两组间的差异均有统计学意义。对失败样本的分析显示, 多数为粘结破坏(数据未给出)。

界面纳米渗漏

评分相同的切片数量(表1)经统计学分析显示, 所有测试组间的评分差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表1 组1和组2微拉伸粘结强度和纳米渗漏均数和标准差

组	微拉伸粘结强度		评分	纳米渗漏	
				粘结界面的微渗漏百分比	影像数量(全部影像)
组1 NaOCl 处理	T_0	$(18.9 \pm 5.8)^{\circ}\text{MPa}$ (104/3)	0	无纳米渗漏	5 (48)
			1	纳米渗漏 < 25%	33 (48)
			2	纳米渗漏在 25% ≤ 50%	5 (48)
			3	纳米渗漏在 50% ≤ 75%	5 (48)
			4	纳米渗漏 > 75%	0 (48)
	T_6	$(10.1 \pm 2.7)^{\circ}\text{MPa}$ (74/14)	0	无纳米渗漏	0 (44)
			1	纳米渗漏 < 25%	2 (44)
			2	纳米渗漏在 25% ≤ 50%	4 (44)
			3	纳米渗漏在 50% ≤ 75%	9 (44)
			4	纳米渗漏 > 75%	29 (44)
组2 对照	T_0	$(49.9 \pm 10.3)^{\circ}\text{MPa}$ (141/0)	0	无纳米渗漏	21 (38)
			1	纳米渗漏 < 25%	12 (38)
			2	纳米渗漏在 25% ≤ 50%	2 (38)
			3	纳米渗漏在 50% ≤ 75%	1 (38)
			4	纳米渗漏 > 75%	2 (38)
	T_6	$(35.2 \pm 8.7)^{\circ}\text{MPa}$ (121/2)	0	无纳米渗漏	1 (40)
			1	纳米渗漏 < 25%	7 (40)
			2	纳米渗漏在 25% ≤ 50%	9 (40)
			3	纳米渗漏在 50% ≤ 75%	13 (40)
			4	纳米渗漏 > 75%	10 (40)

T_0 : 粘结即刻; T_6 : 人工唾液中 37℃ 贮存 6 个月以后。每一组样本界面的纳米渗漏依据全部图像, 记录各级分数的切片数量, 以及纳米渗漏的分值。微拉伸粘结强度的值为平均数 ± 标准差 [所有未受损的检测后样本数 / 过早失败因而未检测的样本数] 相同上标的组间差异没有统计学意义 ($P > 0.05$)

讨论

无效假设被拒绝, 在酸蚀处理过的牙本质表面使用 NaOCl 后, 导致粘结强度明显削弱, 表现为即刻粘结强度降低和界面纳米渗漏增加。经 6 个月人工老化后的实验结果与之相似, 在胶原蛋白清除后, XP-Bond 与牙本质间粘结界面的稳定性, 随着时间的推移并没有增加。

步骤经简化的粘结剂, 如两步法全酸蚀(例如, XP-Bond)或一步法自酸蚀都被证实在很大程度上存在界面的纳米渗漏, 这是由于对牙本质基质浸润

不足, 或者是树脂单体聚合不完全, 或者是聚合物基质中存在可使水透过的亲水区域所造成的。

正如 Van Meerbeek 最近报道所显示, 在电镜下纳米渗漏的表现有相当大的区域性差异(也就是说, 在 TEM 或 SEM 下观察, 在同一个样本中能够同时看到有广泛纳米渗漏的区域和几乎完全没有纳米渗漏的区域), 本研究通过光镜下对混合层和粘结层中的银粒子渗透情况评分, 定量分析纳米渗漏的表现(表1)。

有趣的是, 过去曾有报道在人牙本质上使用

NaOCl 会使牙本质基质的硬度、弹性模量、润湿性和渗透性增加,从而有利于粘结剂的渗入。由于胶原蛋白相对于无机矿物来说,表面自由能较低,因此在酸蚀后的牙本质上使用 NaOCl 会增加基质的自由能,增加牙本质的润湿性和渗透性。然而,本研究的结果却表明,使用 NaOCl 和脱胶原蛋白并不能增加 XP-Bond 的粘结性能。在无胶原蛋白的牙本质表面形成的混合层的图像分析显示(图1),在脱蛋白的表面有大面积的银粒子渗入,表明 XP-Bond 浸润的量减少。

对人工老化6个月后的样本分析显示,去除胶原蛋白的样本(组1, $T_0:T_6$; $P<0.05$)和对照组(组2, $T_0:T_6$; $P<0.05$)的粘结强度分别降低了大约45%和28%,表明在水中贮存影响了粘结的稳定性。对照组的结果与以往的研究结果是一致的,在人造唾液中贮存6个月之后,两步法全酸蚀粘结剂的粘结力下降大约30%,而在人造唾液中贮存1年后几乎下降50%。值得注意的是,随着时间的推移,在脱胶原的牙本质上的粘结强度降低的速度在增加。因此,提示只要牙本质基质中胶原纤维网是完好的,

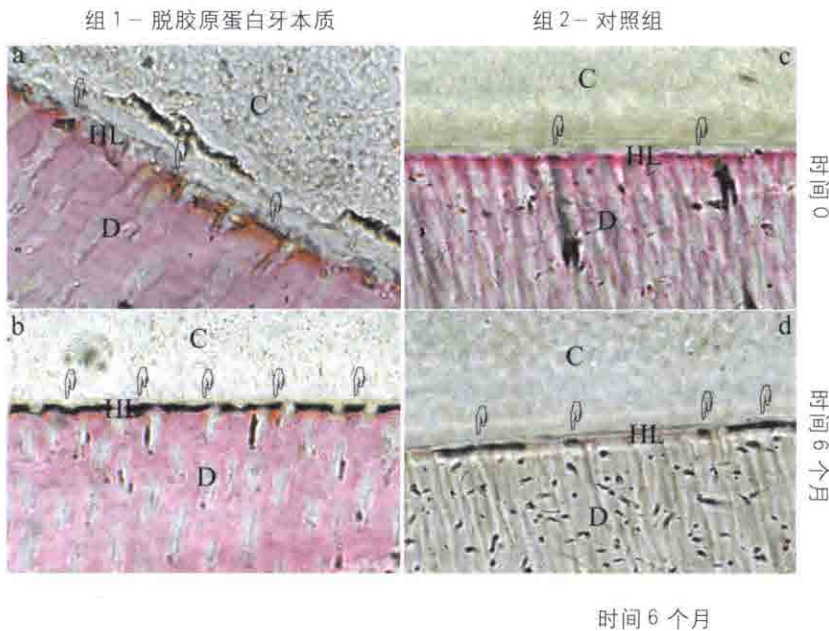


图1 光镜照片显示纳米渗漏界面的代表性图像。C:复合树脂,HL:混合层,D:牙本质。(a) XP-Bond 即刻粘结后形成的粘结界面(T_0)。硝酸银出现在混合层的管间牙本质区中(指示处),评分=1。(b) 在37℃人造唾液中贮存6个月之后(T_6),XP-Bond 在脱胶原蛋白的牙本质上形成的粘结界面显示出广泛均匀的银沉积,并且贯穿整个粘结界面,评分=4。(c) 在酸蚀后的人牙本质样本上使用 XP-Bond,所形成的即刻粘结界面表现有较少的银粒子吸收,仅有较少的样本于混合层出现小面积的银沉积(指示处),评分=1。(d) 在 T_6 时间,纳米渗漏明显增加,显示出大面积的银沉积物(指示处),但是粘结界面的另一些区域没有纳米渗漏,评分=3

则无论对 XP-Bond 与人牙本质的即刻粘结还是对其长期的稳定性都是有益的。

另外,还应该认识到 NaOCl 是一种强氧化剂。由于牙本质粘结剂的聚合主要靠自由基和丙烯酸甲酯单体的链化学反应来实现,残余的氧通过与自由基产生反应而降低了单体的活性,从而干扰固化过程。由于残余氧能够干扰固化过程,因此会影响牙本质粘结剂的粘结强度。以往的研究表明,如果在使用含有活性氧的漂白剂进行漂白后的牙本质基质上进行粘结,那么牙本质粘结剂就可能出现聚合不全。较低的转化率也与粘结界面的渗透性增加有关,这可以解释在组1样本的 T_6 中,界面纳米渗漏增加;同时,还可能存在水分的加速吸收,这些都会加快粘结的破坏。同时也可以解释组1中样本在 T_6 相对于对照组样本(组2)微拉伸粘结强度的降低和界

面纳米渗漏的增加。为了进一步证明这一假设,在后续的研究中可以采用延长粘结剂的光照时间和使用抗坏血酸钠来进行检测,因为已经证明这两者对牙本质基质自由基有相反的作用。

结论

本研究的结果表明,使用 NaOCl 进行预处理,降低了 XP-Bond 对人牙本质粘结界面的粘结性能。以下的假设得到支持:牙本质有机基质的充分浸润是即刻粘结的重要步骤,有利于粘结的寿命和长期稳定性。

临床意义:XP-Bond 与牙本质粘结界面的粘结性能和耐久性依赖于裸露的牙本质胶原蛋白网的充分浸润,用 NaOCl 处理牙本质表面会大大降低粘结强度,增加界面的纳米渗透。