

Nd: YAG激光照射对正常或龋坏牙本 质应用粘接系统的微拉伸力的影响

Influence of Nd:YAG laser irradiation on microtensile bond strength of adhesive systems to sound or carious dentin

Maria Paula Gandolfi Paranhos, DDS, MS/ Ana Maria Spohr, DDS, MS, PhD/Maurem Marcondes, DDS, MS/ Hugo Mitsuo Silva Oshima, DDS MS PhD/ Eduardo Goncalves Mota DDS MS PhD/ Luiz Henrique Burnett Jr DDS MS PhD

原载 Quintessence Int 2009:40:145-153(英文)

张 笋 赵玉鸣 译 郑树国 审

目的:评估2种粘接系统[Adper Single Bond plus(3M ESPE)和Clearfil SE BOND(Kuraray)]与预先是否经过Nd: YAG 激光或 Nd: YAG 激光加氟处理的正常或龋坏牙本质粘接后的微拉伸力。

材料和方法: 将60 颗离体第三磨牙的牙本质表面暴露后分为12组。1~6组经过 pH 循环产生人工龋 7~12 组保持正常牙本质。牙本质表面采用3种处理方法:Nd:YAG激光照射(60mJ_15Hz_0,9w) 1min,Nd:YAG激光 照射联合氟凝胶处理: 不处理(对照组)。实验组根据产品说明书要求应用粘接材料并分层堆塑制成复合树脂块 (Filtek Z250,3M ESPE), 牙齿沿×和Y轴方向做连续片切,应用万能试验仪进行微拉伸力试验。

结果:通过 ANOVA 和 Tukey 统计分析 (P<0.05) 发现正常牙本质应用 Clearfil SE Bond 组的平均粘接力最 大(40.65MPa), Single Bond组次之(34.2MPa)。龋坏牙本质组无论是否事先经过激光照射应用两种粘接系统 后的粘接力明显下降。但激光照射后应用 Clearfil SE Bond 组微拉伸粘接力最高。另外,激光照射联合氟化物处 理后应用两种粘接系统的微拉伸力有所下降。

结论:与全酸蚀粘接系统和激光照射相比。临床上在备洞时用激光照射龋坏牙本质。然后应用自酸蚀粘接系 统可以获得较高的粘接力。

关键词

龋: 牙本质: 牙本质粘接剂: 激光: 拉伸试验



郑树国教授点评:Nd:YAG 激光的临床应用已有报道、目前更多地是应用于龋齿的治疗过程 中,但腐质去净后,通过 Nd:YAG 激光照射,应用自酸蚀粘接剂其达到的粘接力远远高于使用全 酸蚀粘接剂,虽然这一结论与我们传统印象中的结论不一致,但却给我们以启迪。同时,也希望 有更深入的研究来揭示这一发生机制。但不管怎样,本研究的结论对临床具有重要的指导意义。

译者 北京大学口腔医学院儿童口腔科 北京海淀区中关村南大街22号 100081

由于牙本质自身结构和组成的复杂性, 尤其是 其渗透性和湿润性等特点, 牙本质粘接方法仍然是 研究的焦点。自酸蚀粘接系统可以简化粘接步骤,降 低技术敏感性。其粘接原理主要是在牙本质脱矿的 同时粘接处理剂渗透和散布到同样深度的胶原纤维 内进行粘接,应用自酸蚀还可以减少术后敏感。

牙科应用激光已有30年。Nd:YAG激光可以 治疗牙本质过敏,去除软组织,治疗早期龋,甚至可 以对极深层的牙本质进行消毒。Nd:YAG激光照射 牙本质后可以发生化学改变和形态变化有利于牙本 质和粘接材料之间的粘接。激光照射联合应用高浓 度的氟化物有利于牙本质结构的改变,增加氟的吸 收,导致牙本质小管阻塞,降低牙本质通透性,增加 牙本质抵抗脱矿的能力,抑制进一步的脱矿。

然而, 很多粘接试验选用的牙本质是平滑的、抛 光的、新鲜切割的正常牙本质,与临床上受龋影响的 或磨耗硬化的牙本质不一样。临床上牙本质表面矿 化程度的不同导致硬度的改变, 从而影响与其粘接 的材料的粘接力。尽管对牙本质龋的发生机制有了 全面的认识,但龋坏牙本质是否被去净、表面是否彻 底清洁仍然很难进行判断,这是因为去除龋坏组织 的标准, 如牙本质的颜色, 探诊硬度等比较主观, 在 专业医师之间不能完全一致。因此,有必要建立一种 模型忠实地模拟临床去除龋坏的状况。实验室研究 应用人工龋获得龋坏牙本质,人工龋可以通过pH循 环建立, 其组织学形态和微观硬度与自然龋齿一样。

本实验研究验证假说 Nd:YAG 激光照射以及 是否联合应用氟化物并不影响两种粘接系统在正常 或龋坏牙本质上的粘接力大小。

本研究的目的是评价 Nd: YAG 激光照射或联 合应用氟化物后在正常或龋坏牙本质表面使用 Adper Single Bond plus (3M ESPE) 和 Clearfil SE Bond (Kuraray) 的微拉伸力;应用扫描电镜观 察激光照射前、后牙本质表面的形态,通过断口形貌 分析评定微拉伸力试验中粘接失败的模式。

材料和方法

牙体预备

60颗人类无龋第三磨牙储存在0.2%氯胺溶液 中4℃保存,6个月内备用。(本研究经过the Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul 伦理委员会批准, 获取牙齿时经过患者的知情同

意)。每一颗牙用自凝树脂(Jet, Classico)垂直固 定在圆柱形塑料管内。用切割机(Labcut 1010, Extec)的金刚砂切盘 (Arotec),在流动水冷却下低 速(400rpm)去除磨牙船面1/3的牙冠。牙本质应用 320 和 600grit 碳化硅砂纸磨平。牙齿随机分为 12 组 每组5颗,处理方法见表1。

人工龋制备——pH 循环

把30颗牙(1~6组)浸泡在脱矿液和再矿化液 内形成人工龋。牙齿在37℃经过8次脱矿和再矿化 循环,每次循环包括在脱矿液内浸泡7h后在再矿化 液内浸泡17h。在第五次循环开始前更换溶液。脱矿 液为醋酸缓冲液,包括2.2mmol/L钙盐(CaCl,), 2.2mmol/L 磷酸盐 (NaH,PO₄), 0.05mol/L 醋酸和 1ppm 氟化物, pH 值为 4.5。再矿化液的化学成分包 括1.5mmol/L 钙盐,0.9mmol/L 磷酸盐,0.15mol/L 氯化钾, pH 值为 7.0。

处理

激光和氟化物

在牙本质表面涂石墨粉(1和2组——龋齿,7 和8组——正常牙本质),气枪吹干后,在牙本质表 面涂布氟化物凝胶 pH3.6 (Odahcam, Herpo, Dentsply), Nd:YAG激光 (Pulsemaster 1000, American Dental Technologies) 照射,参数为波长1064nm, 额定脉宽150 µs, 每脉冲60 mJ, 15 Hz, 0.9 W, 光 导纤维长 400 μm, 输出能量 477 J/cm²。光导纤维位 置恒定,垂直于牙本质表面,接触式照射 lmin。激 光照射后。水汽枪冲洗表面15s。

激光

石墨粉涂布后选用上述同样参数的激光照射, 不用氟化物处理。(3和4组——龋齿组,9和10组— 正常组)。

不处理

5和6组(龋齿组)只进行pH循环。11和12组 牙本质正常组不作处理。

扫描电镜和能谱仪

进行表面观察和元素分析的牙本质切片与试验 组 (n=12) 一样进行处理。表面处理后,用硅胶把 牙本质切片固定在短柱上,在干燥器中真空状态下保 持2周。然后表面喷金1min,放在扫描电镜(Philips XL30, Philips) 下观察。通过扫描电镜,采用能谱 分析法在指定区域分析化学元素的重量百分比。

粘接步骤

Adper Single Bond Plus (全酸蚀)

单号组应用 37% 磷酸酸蚀 (3M ESPE) 15s, 冲 洗30s, 用吸水纸吸去多余水分。Adper Single Bond Plus 在牙本质表面涂布 2 层,每次涂布后轻轻吹干 5s, 卤素光固化灯 (XL3000,3M ESPE) 固化20s。 Clearfil SE Bond (自酸蚀)

双号组牙齿表面吹干,涂布 Clearfil SE Bond Primer, 静置 20s。气枪吹干 3s 待挥发性成分挥发后 放置一层 Clearfil SE Bond 树脂, 轻轻吹干 5s, 光 固化 20s。

所有组应用粘接系统后,再选用 Filtek Z250 A3 树脂 (3M ESPE), 分 3 层加高树脂至 6mm, 每 层光固化 20s。

微拉伸试验

标本置 37℃蒸馏水中储存 24h。用 Labcut 1010 切片机的 15280 号金刚砂盘 (Buehler) 在流动水冷 却下,以500rpm的频率沿X和Y轴垂直切割获得 矩形截面积大约0.8mm2的柱状试件标本。所有标本 在光学显微镜下(HMV-2, Shimadzu)放大10倍观 察气泡和裂隙。每组制备25个标本。

用氰基丙烯酸酯胶(Super Bonder Gel, Loctite Brasil) 和催化剂 Zip Kicker (Pacer Technology)

将标本固定在专用设备上做微拉伸试验。应用万能 试验仪 (EMIC 2000, EMIC) 以每分钟 0.5mm 的 拉伸速度进行微拉伸试验 (μTBS), 在测试过程中 标本的粘接面与张力的长轴垂直。在切割过程中或 μTBS 实验前没有标本的丢失或脱粘。

应用 SPSS 10.0 进行统计分析。收集的数据进行 洛夫-斯米尔诺夫正态检验,采用方差分析(ANOVA) 和 Tukey 检验分析差异的显著性 (P < 0.05)。

断口形貌分析

微拉伸试验后, 所有断裂的表面通过扫描电镜 放大200倍进行观察分析每组的断裂模式, 在扫描电 镜显微照片上使用 PowerPoint (Office XP, Microsoft)软件的100方格计数屏幕计算每组不同断裂模式 的折断面积占所有样本的总断裂表面的面积百分比 (图1)。断裂模式分为基底层断裂(牙本质/复合树 脂结合处)和结合层断裂(混合层的顶部或基底部与 粘接剂结合处)。断口形貌分析结果进行 Kruskal-Wallis 和 Mann-Whitney 检验 (P < 0.05)。

进行扫描电镜观察的标本处理方案:每个标本的 两端粘在一起使断面并排。标本在4℃,2.5%戊二 醛溶液中固定 12h, 在 20ml 二甲胂酸钠(0.2mol/L), pH7.4)缓冲液中洗 lh,蒸馏水洗 3 次每次 lmin。乙 醇溶液中连续梯度脱水 (25%20min, 50%20min, 75%20min 和 95%20min),用硅胶干燥剂在 37℃干 燥 48h。处理后的样本以 10mA/min 喷金, 然后扫 描电镜观察。

		表 组别和处理	70 /広	
组别		处理		粘接系统
1	人工龋	氟化物	激光	SB
2	人工龋	氟化物	激光	CSE
3	人工龋	=	激光	SB
4	人工龋		激光	CSE
5	人工龋	-	=	SB
6	人工齲	-		CSE
70	_	氟化物	激光	SB
8		氟化物	激光	CSE
9	=	-	激光	SB
10			激光	CSE
11	5 4		_	SB
12	14 14			

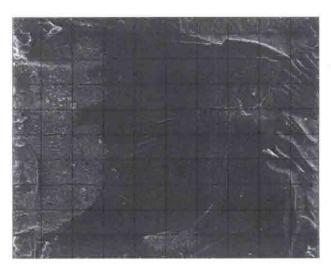


图 1 断口形貌分析的显微照片 (× 200 倍)

结果

根据表2示,粘接力均值最高的是正常牙本质按说明书要求应用 Clearfil SE Bond组 (40.65MPa)和 Single Bond组 (34.22MPa)。龋坏牙本质明显降低与2种粘接系统的粘接力。激光照射牙本质后也降低了与 Clearfil SE Bond的粘接力。另外,激光和氟化物联合应用时牙本质的粘接力也有所降低。

扫描电镜观察 Nd: YAG 激光照射后的牙本质不规则并有多孔,这和激光引起牙本质表面融熔和

再结晶有关。正常的牙本质经激光照射后表现牙本质小管部分闭锁(图2),龋坏牙本质表现清晰的牙本质小管,可能由于管周牙本质的重建(图3)。正常的牙本质表面存在玷污层(图4),受龋影响的牙本质表现牙本质小管口开放(图5)。

能谱元素分析结果见表 3。激光照射正常和龋坏 牙本质后钙、磷成分增加,氧含量降低。正常牙本质 中存在微量的氟。表 4显示断裂出现在牙本质和混合 层,尤其是龋坏牙本质中明显。

表 2 比	:较正常或龋坏	牙本质经过	激光照射与	否的微拉伸试验	(µTBS)	均值 (MPa)
-------	---------	-------	-------	---------	--------	----------

组别n=25	正常牙本质	龋坏牙本质
Adper Single Bond plus		
不照射	34.22 ± 8.79 ab	19,77 ± 8,15 cd
激光	32.85 ± 8.79 b	13.82 ± 5.32 de
激光+氟化物	18.23 ± 6.95 d	10.26 ± 5.19 e
Clearfil SE Bond		
不照射	40.65 ± 11.62 a	13,93 ± 5,03 de
激光	$27.02 \pm 7.34 \text{bc}$	18.17 ± 8.90 d
激光+氟化物	17,32 ± 11,32 de	19.74 ± 7.46 cd

均值后面的字母并不代表 Tukey 检验的统计学差异 P < 0.05

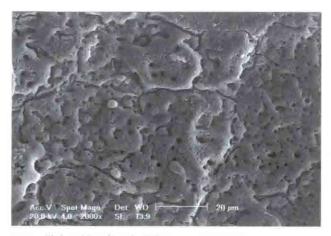


图 2 激光照射正常牙本质表面 (× 2000 倍)



图 3 激光照射龋坏牙本质表面 (×2000倍)

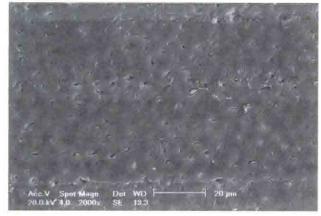


图 4 正常牙本质表面 (×2000倍)

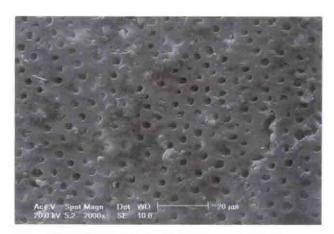


图 5 龋坏牙本质的牙本质小管口开放 (×2000倍)

表 3 能谱分析 (EDS) 结果 (%)

	-		化学元素 (wt%)			
治疗	氧	磷	钙	氟	钠	
正常牙本质						
不处理	40.25	20.40	39.35	_	=	
激光	33,83	22.38	43.79			
激光+氟	26.16	18.29	52.03	2.37	1.15	
龋坏牙本质						
不处理	43,39	19.42	37.19	-		
激光	37,69	20,15	42.16			
激光+氟	40.59	17.27	42.14	<u> </u>	-	

			断裂种类		
	TH	ВН	CA	CR	CD
正常牙本质					
Adper Single Bond plus					
不照射	9.20bc	0.52°	15.40b	53.64"	21.24 ^{ab}
激光	20.56	4.64b	6.52ab	27.80°	30.48
激光+氟化物	32.04*	0.28°	6.12bc	26.16ab	35.40
Clearfil SE Bond					
不照射	7,12	0,48 ^b	13,96 ^b	68,68*	9,76
激光	34.44	1.00	25.76	36.16*	2.64b
激光+氟化物	43,96°	4,08°	28.28 ^{sb}	11.48°	12.20bc
龋坏牙本质					
Adper Single Bond plus					
不照射	26.08ab	1,08°	10.28bc	23,68ab	38.88
激光	21.12ab	9,20°	6,12 ^{bc}	6,16°	58.40°
激光+氟化物	42.12ª	7.00b	7.56b	11.96b	31,36*
Clearfil SE Bond					
不照射	15.32 ^b	-	3.84bc	18.96b	61,88°
激光	31.24		13.88*	24.76	30,12*
激光+氟化物	29.52	0.68°	9.96bd	28 . 40ab	31.44ªb

表 4 每组断裂模式的分布(%)

(TH) 混合层的顶部(BH) 混合层的底部(CA)与粘接剂结合(CD)与牙本质结合(CR)与复合树脂结合。数字后面的字母并不代表Kruskal-Wallis 和Mann-Whitney 检验的统计学差异,每组统计数据在横行中表示。

讨论

本研究假说不能成立,因为应用于正常牙本质和龋坏牙本质的粘接系统的粘接力存在显著差异。 Clearfil SE Bond应用在正常牙本质上的粘接力最大,Adper Single Bond Plus应用于正常牙本质组粘接力次之,但两者无统计学差异(表 2)。

龋坏牙本质常分类为软化的、不能再矿化的、细菌感染的牙本质和硬的、可再矿化的、没有细菌感染的受影响的牙本质。由于管间牙本质矿化成分少,受龋影响的牙本质硬度低,疏松多孔。虽然管间牙本质的酸蚀深度可以更深,一般认为自酸蚀剂的渗透性比在正常牙本质上更明显,但受龋影响的牙本质小管内有矿物质沉积影响了树脂突的形成。因此,粘接剂渗透不均衡,使混合层疏松多孔降低了材料对于受龋影响的牙本质和感染牙本质的粘接力。

根据 Yoshiyama 等学者的研究,用 35% 磷酸酸

蚀受龋影响的牙本质时,可以去除大部分管内的矿物沉积,有利于树脂突和混合层的形成。然而粘接聚合后,这种混合层对酸碱刺激的敏感性明显高于用同样方法在正常牙本质上产生的混合层,从而降低粘接张力。这些学者也报告在受龋影响的牙本质内可能含有较多有机质影响粘接剂的均一渗透或单体的聚合。

龋坏牙本质的弹性模量和粘接强度的降低也可以解释本研究中与正常牙本质相比龋坏牙本质的粘接力低,这和其他学者的研究一致。

本研究结果显示,牙本质经 Nd:YAG 激光照射 后应用 Clearfil SE Bond 的粘接力降低。这个结果 与 Matos 等学者的研究不一致,他们认为在自酸蚀 粘接系统使用前或使用后照射 Nd:YAG 激光对粘 接无影响。Nd:YAG 激光照射后使牙本质表面产生 化学的和形态学的改变。化学改变包括钙、磷成分增 加,氧浓度下降正如本研究所示(表3)。形态学改变为牙本质表层熔融和再结晶造成牙本质小管狭窄或闭锁(图2和3),降低小管通透性从而减少术后疼痛,降低牙本质易感性,增加龋坏过程中牙本质对酸蚀的抵抗力。

尽管如此,牙本质酸蚀以利粘接剂渗入的效果有所降低。因为 Clearfil SE Bond 内的温和的自酸蚀处理剂不能穿过激光照射后形成的再结晶牙本质屏障,也阻止了粘接单体在管间牙本质、管周牙本质和牙本质小管内的渗透,以至于很难形成混合层和树脂突,导致树脂平铺在牙本质上。本研究中,对正常牙本质组 12 和 10 进行比较,其粘接强度的结果也证实了这点。

虽然如此,当 Clearfil SE Bond 应用于组 11 和 9,组 5 和 3 时,激光照射并未改变粘接力水平。因 为,Nd:YAG 激光在牙本质表面造成解剖结构的变化,如牙本质融熔导致的不规则性,形成沟裂和陷窝(图 2)等,在粘接过程中,这些结构影响酸蚀剂的渗透,但同时还可以使牙本质和树脂之间形成机械锁结。如 Kinney等学者报道,激光照射产生一层抵抗脱矿的屏障,但不能阻止下方牙本质脱矿,这是由于脱矿液可以通过裂缝和大气泡渗入。磷酸是一种强酸,可以使激光照射变性层脱矿,粘接剂渗入形成机械锁结。

一些研究中Nd:YAG激光和高浓度氟化物联合应用以期促进氟离子的吸收,提高牙本质抵抗脱矿的能力。根据Lan等学者的报告,氟化钠漆联合应用Nd:YAG激光后更容易渗入牙本质小管,即使用电动牙刷也不能去除。Kumar和Mehta通过临床和扫描电镜检查评价单独应用Nd:YAG激光或与0.5%氟化钠漆联用治疗牙本质过敏的疗效。他们认为联合应用后牙本质小管数量明显减少,敏感性降低。而且,Hicks等学者报告涂布氟化物后联合应用激光治疗可以增加牙本质的抗龋性和抑制龋的发展。

虽然很多研究发现激光和氟化物联合应用效果 很好,但并未有评价激光照射牙本质后应用粘接系 统对粘接力影响的研究。本研究发现这种联合应用 降低了两种粘接系统与正常牙本质的粘接力。然而, 从表3发现,激光和氟化物处理龋坏牙本质后,没有 发现氟离子的存在。因此,微拉伸试验结果显示,其 粘接力与单纯激光处理的龋坏牙本质上的粘接力相 同(表2)。Itota等学者研究了氟化物对自酸蚀粘接 系统与牙本质之间粘接张力的影响,结果显示,在氟 化物溶液处理的牙齿表面发现很多氟离子和钙离子, 这种溶液可以促进在树脂—牙本质界面形成树脂突, 略微增加自酸蚀粘接系统与脱矿牙本质的粘接力。 但是,研究中氟化物溶液应用后没有冲洗,牙齿也没 有经过激光处理。根据Itota等学者的研究,应用氟 化物溶液后进行冲洗可以去除牙本质表面的晶体, 使胶原纤维网塌陷从而影响粘接力。

本研究证实了以往的结论,氟化物应用降低了 正常牙本质的粘接力(表2)。可能的解释是氟化物 和激光应用后牙本质过度矿化,影响了酸蚀的效果, 粘接材料不能渗透无法形成混合层。能谱分析结果 也证实激光照射正常牙本质后氟离子含量略有增加 (表3)。

根据本研究结果提示,对临床上窝洞内硬的、再矿化的、无菌的受龋影响的牙本质,激光照射后应用自酸蚀粘接系统是很好的选择,因为在这种特殊情况下,自酸蚀粘接剂的粘接力高于全酸蚀 Single Bond。另外,激光适合于消毒甚至更深层的牙本质。根据 Yoshiyama 等学者的研究,在临床上受龋影响的牙本质和龋感染牙本质的自身弱点不是主要问题,因为在去除的病损周围是正常的牙本质或牙釉质,可以与树脂产生高的粘接强度。

本研究中没有对样本进行长期观察。根据 Breschi 等学者的研究,时间因素影响树脂/牙本质粘接机制的各个方面。这个问题还需进一步研究。

结论

对于所研究的两种粘接系统来说,Nd:YAG激光无论是否与氟化物联用,都降低了树脂和龋坏牙本质或正常牙本质之间的粘接力。从粘接强度方面考虑,与激光照射后应用全酸蚀粘接系统相比,在去除龋坏牙本质后,采用激光照射后应用自酸蚀粘接系统是较好的选择。

因此,Nd:YAG激光照射是一种重要的方法, 而粘接系统的化学成分是提高此项技术效率的关键。