

ANNA TURSKA-SZYBKA^{1, A-F}, MARIUSZ ANDRZEJCZUK^{2, B-C}, MAŁGORZATA LEWANDOWSKA^{2, C},
DARIUSZ GOZDOWSKI^{3, C, E-F}, DOROTA OLCZAK-KOWALCZYK^{1, A-F}

Infiltracja żywicą naturalnych plam próchnicowych na powierzchniach gładkich zębów mlecznych – badania *in vitro*

Resin Infiltration of Natural Caries Lesions on Smooth Surfaces of Primary Teeth – *in Vitro* Studies

¹ Zakład Stomatologii Dziecięcej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

² Wydział Inżynierii Materiałowej, Politechnika Warszawska, Warszawa, Polska

³ Katedra Doświadczalnictwa i Bioinformatyki, Wydział Rolnictwa i Biologii, SGGW, Warszawa, Polska

A – koncepcja i projekt badania, B – gromadzenie i/lub zestawianie danych, C – analiza i interpretacja danych,
D – napisanie artykułu, E – krytyczne zrecenzowanie artykułu, F – zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Streszczenie

Wprowadzenie. Metoda infiltracji polega na zamknięciu mikroporów szkliwa żywicą. Celem infiltracji jest zmniejszenie mikroporowości i uszczelnienie powierzchni, tj. stworzenie bariery izolującej od wpływu bakterii kariogennych utrudniającej dyfuzję kwasów i zapobiegającej utracie minerałów. W badaniach *in vitro* wykazano zróżnicowaną penetrację żywicy w głąb demineralizacji szkliwa i zwiększenie twardości infiltrowanej powierzchni. Wyniki te mogą niecałkowicie odnosić się do zębów mlecznych. Jedynie nieliczne badania oceniają wrażliwość infiltrowanych powierzchni na działanie płynów o odczynie kwaśnym.

Cel pracy. Ocena *in vitro* infiltracji żywicą naturalnych plam próchnicowych zębów mlecznych.

Materiał i metody. Do badań wykorzystano 21 usuniętych zębów trzonowych mlecznych z plamami próchnicowymi. 3 plamy pozostawiono bez ingerencji, 18 infiltrowano żywicą Icon[®] (DMG, Germany), w tym 6 dodatkowo zanurzono w roztworach o odczynie kwaśnym 3-krotnie po 5 minut z godziną przerwą. Próbkę inkludowano w żywicę akrylowej. W skaningowym mikroskopie elektronowym oceniano powierzchnię infiltrowanej plamy, głębokość infiltracji i wpływ płynów o odczynie kwaśnym na powierzchnię infiltrowanego szkliwa oraz jej mikro-twardość według Vickersa.

Wyniki. Głębokość białych plam próchnicowych wynosiła średnio $270,8 \pm 147,7 \mu\text{m}$, głębokość penetracji żywicy $\sim 182,2 \pm 119,4 \mu\text{m}$ (64,2% głębokości plamy próchnicowej). W infiltrowanych próbkach nienarażonych na erozję kwasu oraz poddanych działaniu płynu o pH $\sim 3,6$ stwierdzono zachowaną ciągłość linii szkliwa w obrębie infiltrowanej plamy i w jej okolicy. Ekspozycja na płyn o pH $\sim 2,8$ spowodowała utratę konturu szkliwa. Mikro-twardość zdrowego szkliwa wyniosła średnio 310 VHN; szkliwa infiltrowanej plamy próchnicowej średnio 64,8 VHN, natomiast szkliwa w obrębie nieinfiltrowanej plamy średnio 27,0 VHN. Mikro-twardość szkliwa infiltrowanych plam była istotnie statystycznie większa w porównaniu z mikro-twardością szkliwa plam nieinfiltrowanych, jednak mniejsza niż zdrowego szkliwa.

Wnioski. Żywica infiltruje co najmniej połowę głębokości plamy próchnicowej szkliwa zęba mlecznego. Stopień penetracji żywicy zwiększa się wraz z głębokością zmiany. Infiltracja plamy próchnicowej nie wpływa jednak istotnie na jej mikro-twardość i wrażliwość na działanie płynów o odczynie kwaśnym (*Dent. Med. Probl.* 2014, 51, 3, 308–317).

Słowa kluczowe: plama próchnicowa, zęby mleczne, infiltracja żywicą, SEM, mikro-twardość.

Abstract

Background. Resin infiltration closes micropores of the enamel. The aim is to reduce the micropores and seal the surface, to create barrier from the influence of cariogenic bacteria, impede the diffusion of acids and prevent the loss of minerals. *In vitro* studies have shown partial resin penetration and a small increase in its hardness. These results

may not apply to primary teeth. Only a few studies have assessed the sensitivity of the infiltrated surface to acidic liquids.

Objectives. Evaluation of the resin infiltration of natural carious lesions including resin penetration, microhardness of lesions and protective potential against acidic challenge *in vitro*.

Material and Methods. 21 extracted primary molars showing white spots on smooth surfaces were selected. 18 samples were submitted to infiltration with Icon[®] according to the protocol, 3 samples were untreated. 6 infiltrated samples were further immersed in an acidic solution three times for 5 min with an interval of 1 h (3 to pH ~ 2.8 and 3 to pH ~ 3.6). Samples were positioned in acrylic resin. Infiltrated surface, the depth of infiltration and microhardness were evaluated.

Results. The mean depth of carious spots was $270.8 \pm 147.7 \mu\text{m}$, the maximum penetration depth of the resin ~ $182.2 \pm 119.4 \mu\text{m}$ (64.2% depth of carious spots). The infiltrated samples not exposed to acid challenge and exposed to pH of ~ 3.6 liquid had preserved the continuity of the contour. Exposure to pH of ~ 2.8 liquid resulted in the loss of enamel contour. Sound enamel microhardness was 310 VHN, within the infiltrated lesions 64.8 VHN, while non-infiltrated lesions 27.0 VHN.

Conclusions. Icon[®] infiltrates at least half the depth of enamel lesions in primary teeth. The degree of penetration increases with the depth of the lesion. Caries infiltration does not significantly affect its hardness and protective potential against acidic challenge (**Dent. Med. Probl.** 2014, 51, 3, 308–317).

Key words: white spot lesion, primary teeth, resin infiltration, microhardness, SEM.

Metoda infiltracji zdeminerlizowanych tkanek zęba polega na zamknięciu mikroporów szkliwa światłoutwardzalną żywicą składającą się m.in. z dimetakrylanu glikolu tetraetylenowego, którą charakteryzuje mała gęstość i lepkość, mały kąt zwilżania i duże napięcie powierzchniowe, ułatwiające penetrację w głąb porów szkliwa dzięki siłom kapilarnym [1–10]. Drobne pory w obrębie plamy próchnicowej zachowują się jak drogi dyfuzji (*diffusion pathways*) dla kwasów oraz minerałów i dlatego umożliwiają rozpuszczanie szkliwa. Infiltracja zdeminerlizowanych tkanek zęba żywicą jest mikroinwazyjną metodą leczenia. Jej inwazyjność polega na usunięciu zewnętrznej warstwy szkliwa przez wytrawianie, co sprzyja lepszej penetracji żywicy. Metoda jest zalecana w leczeniu zmian próchnicowych na powierzchniach gładkich zębów oraz apoksykalnych, obejmujących nie więcej niż zewnętrzną 1/3 warstwę zębiny (zgodnie z klasyfikacją radiologiczną do poziomu D1) [9]. Celem infiltracji jest uszczelnienie powierzchni, tj. stworzenie bariery izolującej od wpływu bakterii kariogennych utrudniającej dyfuzję kwasów i zapobiegającej utracie minerałów, a także mechaniczne wzmocnienie zdeminerlizowanego szkliwa prowadzące do zatrzymania postępu próchnicy [1–10]. Może być wystarczającym i jedynym postępowaniem leczniczym w przypadku plam próchnicowych, bez konieczności stosowania technik inwazyjnych. Uważa się, że może wypełnić lukę między terapią fluorkową a leczeniem choroby próchnicowej, również w odniesieniu do uzębienia mlecznego [1].

Jednym z ujawnionych dotychczas problemów związanych z infiltrowaniem naturalnych plam próchnicowych szkliwa jest niedostateczna penetracja przez żywicę wewnętrznych warstw zdeminerlizowanego szkliwa ze względu na mniejszą objętość porów warstwy powierzchniowej. Wiele badań laboratoryjnych przeprowadzono, wykorzystując

szczerzoną demineralizację szkliwa. Istnieją jednak różnice strukturalne między sztucznymi a naturalnymi zmianami szkliwa. Warstwy powierzchniowe naturalnych zmian próchnicowych są mniej jednorodne, mogą być grubsze i zawierać więcej minerałów w porównaniu do sztucznych zmian o stosunkowo cienkiej, nienaruszonej warstwie powierzchniowej [1–3, 10–14]. Pory są często zanieczyszczone związkami organicznymi, takimi jak białka i węglowodany. Może to utrudniać przenikanie żywicy. Wyniki badań dotyczących infiltracji sztucznie wytworzonych zmian nie powinny być więc bezpośrednio odnoszone do badań przeprowadzonych na plamach naturalnych.

Badania *in vitro* wykazały, że infiltracja żywicą na głębokość około 60 μm jest wystarczająca, aby zapobiec dalszemu procesowi demineralizacji [1, 2, 9, 10, 15, 16].

O głębokości infiltracji w głąb zdeminerlizowanego szkliwa decyduje m.in. głębokość plamy próchnicowej i jej aktywność. Badania *in vitro* przeprowadzone z wykorzystaniem techniki podwójnego barwienia i fluorescencyjnego mikroskopu konfokalnego wykazały, że w zmianach o stopniu zaawansowania wg ICDAS II odpowiadającym kodom 2 i 3 infiltrant penetrował średnio 73–100% głębokości plamy, a w zmianach ubytkowych (kod 5) tylko 5% [17]. Plamy aktywne są ponadto bardziej podatne na infiltrację [10, 14]. O skuteczności klinicznej metody infiltracji nie decyduje jednak wyłącznie głębokość penetracji żywicy. Ważne jest także odtworzenie konturu szkliwa, przywrócenie twardości oraz zmniejszenie wrażliwości na kwasy. W przypadku wykorzystywania metody infiltracji w leczeniu plam próchnicowych u dzieci należy wziąć pod uwagę trudności w eliminacji lub ograniczeniu wpływu czynników kariogennych (popelniane błędy higieniczne i dietetyczne). Przeprowadzone dotychczas

badania *in vitro* oceniały przede wszystkim stopień penetracji żywicy w głąb zmiany o charakterze naturalnej plamy próchnicowej lub demineralizacji spowodowanej sztucznie w zębach zwierzęcych lub ludzkich zębach stałych [1–7, 9–13, 15–24]. Stosunkowo niewiele dotyczyło zębów mlecznych [8, 14, 25–29]. Budowa szkliwa zęba mlecznego, tj. mały stopień mineralizacji, mniejsze wymiary pryzmatów szkliwa, ich nieregularne rozmieszczenie, powierzchniowa warstwa szkliwa (*prismless layer*) o grubości około 30–100 μm sprawia, że w bardziej równomierny sposób rozpuszcza się w kwasie niż szkliwo zębów stałych, bez wytworzenia warstwy hybrydowej oraz odpowiednich rozmiarów strefy kosmków.

Celem pracy była ocena *in vitro* infiltracji żywicą naturalnych plam próchnicowych zębów mlecznych z uwzględnieniem penetracji żywicy w głąb plamy, mikrotwardości i wrażliwości infiltrowanej powierzchni na działanie kwasów.

Materiał i metody

Do badań wykorzystano 21 usuniętych z różnych wskazań stomatologicznych zębów trzonowych mlecznych z białymi, aktywnymi plamami próchnicowymi (matowa, chropowata powierzchnia, o kredowobiałej barwie) w okolicy przyszyjkowej (w miejscu odkładania się płytki nazębnej), na zachowanych powierzchniach stycznych, policzkowych lub podniebiennych/językowych, zakwalifikowanych na podstawie kodu 2 według systemu ICDAS II [17]. Do badania wybrano gładkie powierzchnie zębów trzonowych, na których nie stwierdzono uszkodzeń widocznych gołym okiem. Otrzymano zgodę Komisji Bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 14.12.2010 r., nr opinii KB/243/2010.

Usunięte zęby starannie płukano pod bieżącą wodą, oczyszczano mechanicznie z tkanek miękkich, usuwano korzenie zębów w odległości 2 mm od połączenia szkliwno-cementowego i przechowywano w roztworze płynu fizjologicznego z tymolem (0,1%) bez dostępu światła, w szczelnym pojemniku. Wszystkie powierzchnie zębów były dokładnie badane wizualnie niezależnie przez 2 lekarzy za pomocą nieuzbrojonego oka oraz z użyciem szkła powiększającego (4,3 \times). Wykluczano zęby mleczne z widocznymi uszkodzeniami (pęknięciami), zmianami próchnicowymi i wypełnieniami oraz zęby usunięte u dzieci powyżej 7. roku życia. Powierzchnie gładkie delikatnie oczyszczano przez minutę szczoteczką i wodą destylowaną. 3 plamy pozostawiono bez ingerencji, 18 plam infiltrowano żywicą Icon[®] zgodnie z zaleceniami producenta, a 6 spośród 18 infiltrowanych plam dodatkowo zanurzano w roztworach o odczynie kwaśnym 3-krotnie po 5 minut z godzin-

ną przerwą: 3 próbki w roztworze o pH \sim 2,8 (roztwór kwasu cytrynowego) i 3 próbki w roztworze o pH \sim 3,6 (sok pomarańczowy). Pięciominutowy czas użycia roztworów o odczynie kwaśnym został dostosowany do warunków fizjologicznych i odpowiada analogicznej wartości klirensu kwasu cytrynowego w jamie ustnej [30].

Po wykonaniu planowanych procedur oddzielano powierzchnie z plamami za pomocą chłodzonego wodą separatora diamentowego osadzonego na końcówce szybkoobrotowej i uzyskiwano przekrój poprzeczny przez centralną część plamy. Próbki dwukrotnie płukano w wodzie destylowanej, oczyszczano w płuczce ultradźwiękowej (5 minut), suszono zgodnie z wymaganiami procedury badania mikroskopowego. Próbki zęba o grubości 1 mm zatapiano w żywicy akrylowej (Durabase). Powierzchnie szlifowano papierem kolejno z nasypem diamentowym 600 \times , 800 \times i 1000 \times i polerowano pastą diamentową z nasypem ziarna 3 μm .

Obserwacje przekrojów poprzecznych przeprowadzono z użyciem skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) (Hitachi S-3500 N, Tokyo, Japan), pracującego z napięciem przyspieszającym 15 kV. Wszystkie próbki obserwowano w trybie niskiego poziomu próżni, stosując detektor elektronów wstecznie rozproszonych (*backscattered electrons*, BSE). Zastosowanie trybu niskiej próżni pozwoliło ominąć problem zbierania się ładunku na powierzchni obserwowanych próbek bez napyłania powierzchni warstwą przewodzącą. Uzyskano i zgromadzono obrazy w powiększeniach 100 \times , 150 \times , 200 \times , 400 \times , 500 \times , 1000 \times .

W próbkach infiltrowanych i próbkach infiltrowanych poddanych oddziaływaniu płynów o odczynie kwaśnym oceniano:

- głębokość plamy próchnicowej LD (*lesion depth*) – odległość między najgłębiej położonym mikroporem szkliwa a punktem w linii prostopadłej do powierzchni szkliwa;
- maksymalną głębokość infiltracji żywicy PD (*penetration depth*) – odległość między najgłębiej położonym punktem w obrębie infiltrowanej plamy próchnicowej, w którym nie uwidoczniły się mikropory szkliwa, a punktem w linii prostopadłej do powierzchni szkliwa;
- obecność erozji powierzchni infiltrowanej plamy próchnicowej i jej otoczenia (utrata konturu szkliwa).

Do oceny mikrotwardości szkliwa zastosowano test mikrotwardości według Vickersa przeprowadzony za pomocą mikrotwardościomierza (MHT-10, Anton Paar GmbH, Graz, Austria) w warunkach zgodnych z procedurą zawartą w Polskiej Normie PN-EN ISO 6507/1: 1999. Ten typ mikrotwardościomierza jest zintegrowany z mikroskopem świetlnym, który pozwala na reje-

stracę obrazów wykonanych odcisków i dokładny pomiar ich wielkości.

Oceniono mikrotwardość szkliwa poprzecznych przekrojów 9 próbek, w tym: 3 nieinfiltrowanych i 6 infiltrowanych, które nie były poddawane działaniu płynów o odczynie kwaśnym. Badanie polegało na prostopadłym wciskaniu w powierzchnię próbki diamentowego węgelnika o kształcie ostrosłupa o podstawie kwadratowej i kącie wierzchołkowym 136° i pomiarze długości przekątnych odcisku o przekroju równoległoboku powstałego na powierzchni próbki badanej po usunięciu siły $F = 0,981 \text{ N}$. Czas przyłożenia siły wynosił 10 sekund. Obciążenie i czas były stałe dla wszystkich próbek podczas badania. Wynik badania stanowiła średnia z uzyskanych pomiarów. Obliczano stosunek średnich wartości mikrotwardości szkliwa zdrowego (H) do średnich wartości mikrotwardości szkliwa w obrębie plamy próchnicowej infiltrowanej i nieinfiltrowanej (D). Obrazowanie odcisków

wykonywano za pomocą mikroskopu świetlnego Nikon EPIPHOT 200 przy powiększeniu 100×.

Porównania wartości średnich przeprowadzono z użyciem testu t przy poziomie istotności $p < 0,05$. Zależności między LD a odsetkiem głębokości określono z użyciem współczynnika korelacji Spearmana i analizy regresji liniowej. Analizy wykonano w programie Statistica 10 (StatSoft). Do oceny wiarygodności błędu obserwatora w odczytywaniu wgniecień użyto statystyki kappa. Została osiągnięta wartość współczynnika kappa Cohena 0,90.

Wyniki

Głębokość białych plam próchnicowych (LD) wahała się ~ 120–650 μm (średnio: $\sim 270,8 \pm 147,7 \mu\text{m}$) (tab. 1). We wszystkich próbkach stwierdzono obecność niezamkniętych mikroporów w głębszych warstwach zmiany próchnicowej (ryc. 1 i 2). Głębokość

Tabela 1. Przybliżona głębokość zmian o charakterze plam próchnicowych (LD) i penetracji żywicy (PD) oraz stan szkliwa w sąsiedztwie plamy

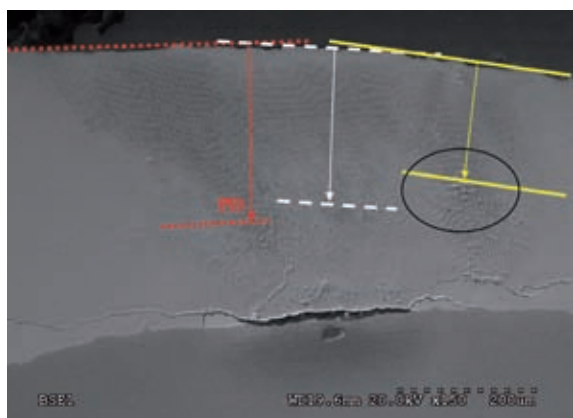
Table 1. Approximate carious lesions depths (LD), resin penetration depths (PD) and enamel contour

Nr próbki	Procedura	Plama próchnicowa			Okolica plamy	
		głębokość plamy (μm)	penetracja żywicy (μm)	penetracja żywicy (%)	linia szkliwa	
1	infiltracja żywicą	650	500	76,9	gładka, ciągłość zachowana	
2		450	250	55,6		
3		150	80	53,3		
4		150	75	50,0		
5		140	100	71,4		
6		120	60	50,0		
7		400	325	81,3		
8		380	250	65,8		
9		260	200	76,9		
10		200	100	50,0		
11		175	90	51,4		
12		160	90	56,3		
Infiltracja + działanie płynu o odczynie kwaśnym					utrata ciągłości	
13	pH ~ 2,8	500	350	70,0	tak	tak
14		180	90	50,0	tak	tak
15		300	220	73,3	tak	tak
16	pH ~ 3,6	200	125	62,5	nie	nie
17		210	150	71,4	nie	nie
18		250	225	90,0	nie	nie
Ogółem Średnia \pm SD		270,8 \pm 147,7	182,2 \pm 119,4	64,2 \pm 12,7		

penetracji żywicy (PD) w poszczególnych próbkach wahała się ~ 60–500 μm (50,0–90,0% głębokości plamy próchnicowej), średnio: $\sim 182,2 \pm 119,4 \mu\text{m}$ (64,2%) Wraz ze zwiększaniem głębokości zmian próchnicowych LD zwiększał się odsetek głębokości penetracji infiltranta PD (współczynnik korelacji Spearmana: $-0,586/n = 18$; $p = 0,011$). Na podstawie funkcji regresji można stwierdzić, że wraz ze zwiększeniem LD o 100 μm , głębokość penetracji żywicy PD zwiększa się średnio o 4% (ryc. 3).

We wszystkich infiltrowanych próbkach nienarażonych na erozję kwasem oraz poddanych działaniu płynu o pH $\sim 3,6$ stwierdzono zachowaną ciągłość linii szkliwa w obrębie infiltrowanej plamy i w jej okolicy (ryc. 4). Utratę konturu szkliwa zauważono we wszystkich próbkach po ekspozycji na płyn o pH $\sim 2,8$ (ryc. 4).

Mikrotwardość (MH) zdrowego szkliwa wahała się 262–364 VHN, (średnio: $314,0 \pm 45,9$ VHN); szkliwa w obrębie infiltrowanej plamy próchnicowej 44–89 VHN (średnio: $64,8 \pm 16,1$ VHN), a szkliwa w obrębie nieinfiltrowanej plamy 20–37 VHN (średnio: $27,0 \pm 8,9$ VHN). Mikrotwardość szkliwa plam nieinfiltrowanych była istotnie statystycznie mniejsza ($p < 0,05$) w porównaniu z mikrotwardością szkliwa infiltrowanych plam (tab. 2). Różnice między MH szkliwa zdrowego a szkliwa w obrębie nieinfiltrowanej plamy próchnicowej były większe (średnio: $12,32\times$) w porównaniu do stwierdzonych między szkliwem zdrowym a plamami infiltrowanymi ($4,95\times$) (tab. 2).



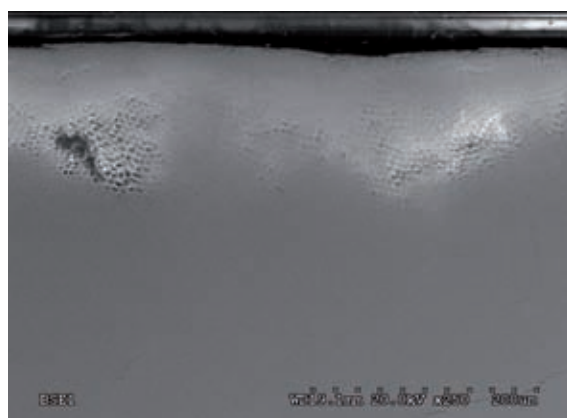
Ryc. 1. Obraz w skaningowym mikroskopie elektronowym (SEM) zmiany próchnicowej szkliwa zęba mlecznego po infiltracji żywicą – nierównomierna linia penetracji szkliwa żywicą, maksymalna głębokość penetracji (PD), widoczne niezamknięte mikropory (powiększenie 150 \times)

Fig. 1. Representative image of carious enamel of primary teeth after resin infiltration – uneven line resin penetration, the maximum penetration depth (PD), visible not closed micropores (magnification 150 \times). Scanning Electron Microscope

Omówienie

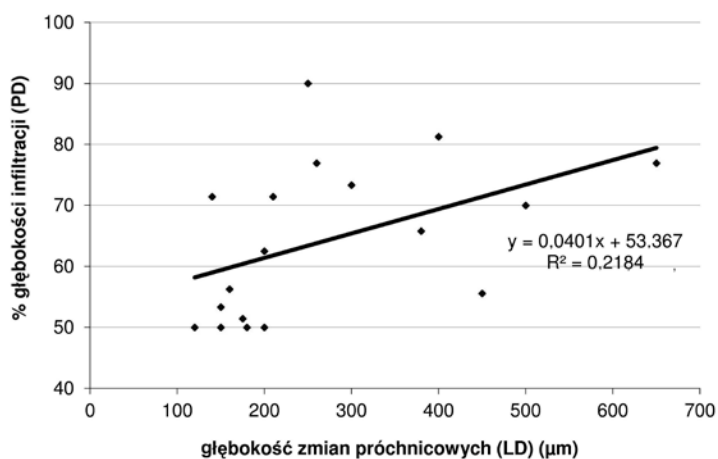
Wyniki wielu badań *in vitro* wskazują, że metoda infiltracji żywicą zdemineralizowanego szkliwa może okazać się przydatna w leczeniu początkowych zmian próchnicowych. Większość z nich przeprowadzano z wykorzystaniem zębów stałych. Tylko pojedyncze dotyczą szkliwa zębów mlecznych. Badania oceniały głównie głębokości penetracji infiltranta w głąb demineralizacji szkliwa. Stopień penetracji żywicy metakrylanowej w szkliwie zębów według różnych autorów wahał się między 18,8 a 98% [7, 11, 18, 27, 29].

Wyniki badań, w których wykorzystano zęby stałe mogą niecałkowicie odnosić się do zębów mlecznych. Szkliwo zębów mlecznych bardziej równomiernie rozpuszcza się w kwasie niż szkliwo zębów stałych, różni się morfologicznie od zębów stałych. Zgodnie z wynikami prezentowanych badań we wszystkich próbkach stwierdzono obecność niezamkniętych mikroporów w głębszych warstwach zmiany próchnicowej. Głębokość badanych plam próchnicowych wahała się 120–650 μm , a penetracji żywicy 60–500 μm (50,0–90,0% głębokości plamy próchnicowej). Wg Robinsona et al. [15], Graya i Shella [16] oraz Davila et al. [31] przenikanie żywicy na głębokość około 60 μm jest wystarczające, aby zapobiec dalszemu procesowi demineralizacji. W jednym z pierwszych badań dotyczących infiltracji żywicą metakrylanową (Icon pre-produkt) przeprowadzonych przez Meyer-Lueckela



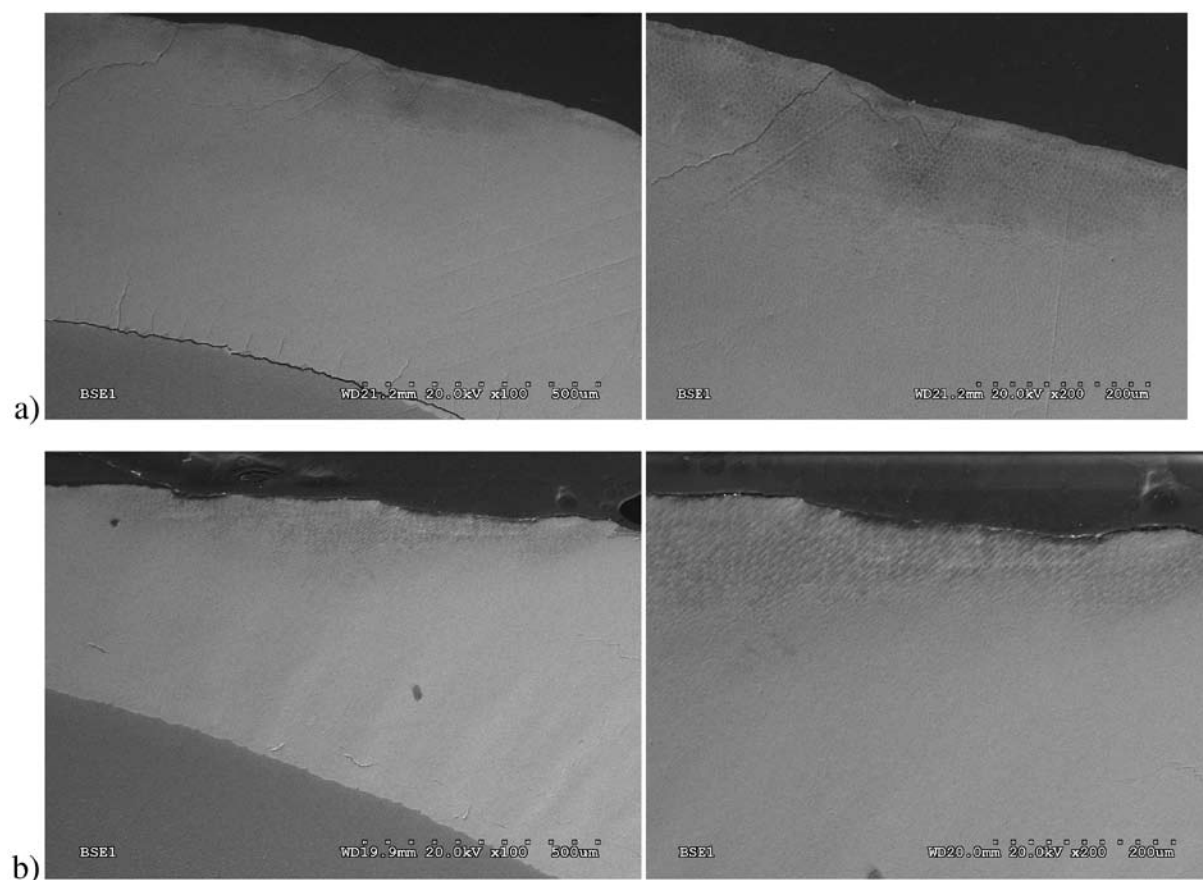
Ryc. 2. Widoczne niezamknięte mikropory w środkowej i wewnętrznej warstwie plamy próchnicowej szkliwa zęba mlecznego po infiltracji żywicą (powiększenie 250 \times); SEM

Fig. 2. Visible unclosed micropores in the middle and inner layer of carious enamel lesion of primary tooth after resin infiltration (magnification 250 \times); SEM



Ryc. 3. Funkcja regresji liniowej między głębokością plam próchnicowych (LD) a % głębokości infiltracji (PD)

Fig. 3. The linear regression between the depth of caries lesions (LD) and the percentage of the depth of infiltration (PD)



Ryc. 4. Obrazy w SEM dwóch plam próchnicowych po infiltracji żywicą i szkliwa w okolicy zmiany próchnicowej zębów mlecznych poddanych działaniu płynu o odczynie kwaśnym (powiększenia 100× i 200×); a) płyn o odczynie pH ~ 3,6 – zachowanie konturu szkliwa; b) płyn o odczynie pH ~ 2,8 – utrata ciągłości linii szkliwa

Fig. 4. Representative SEM images of two spots lesions after resin infiltration and enamel in the area of carious lesion of primary teeth treated with an acidic liquid (magnification 100× and 200×); a) pH ~ 3.6 liquid – preserving the contour of the enamel; b) pH ~ 2.8 liquid – loss of continuity of the enamel contour

i Parisa [11] stopień penetracji żywicy w szkliwie ludzkich zębów stałych wynosił średnio 20–36%. Podobne wyniki uzyskali Schneider et al. [18]. Średnia głębokość infiltracji (PD) opisana przez Parisa et al. [19] miała wartość 238 µm, a w kolejnym badaniu Parisa i Meyer-Lueckela [21] już 606 µm. Z publikacji Meyer-Lueckela et al. [7] wy-

nika, że jest możliwe uzyskanie penetracji żywicy na prawie całą głębokość zmiany próchnicowej szkliwa zębów stałych (98%, 414 µm). Paris et al. [8] uzyskali głębokość penetracji (PD) żywicy w zębach mlecznych około 286 µm. Duży stopień infiltracji plam próchnicowych o głębokości mniejszej niż 300 µm (średnio 182 ± 119 µm)

Tabela 2. Mikrotwardość szkliwa plam próchnicowych nieinfiltrowanych i infiltrowanych w porównaniu ze szkliwem zdrowym w okolicy plamy (*Vickers hardness number*, VHN)

Table 2. Enamel microhardness of non-infiltrated, infiltrated and infiltrated compared to sound enamel in white spot lesions area – Mean Vickers Hardness Number (VHN)

Nr próbki	Procedura	Średnie wartości mikrotwardości – (VHN)		Stosunek H/D
		biała plama (D) – średnia	szkliwo zdrowe (H) średnia	
1	plama bez infiltracji	37	331	8,94
2		20	349	17,1
3		24	262	10,92
	średnia ± SD	27,0 ± 8,9	314,0 ± 45,9	12,32 ± 4,26
4	plama po infiltracji	69	364	5,27
5		44	272	6,18
6		58	327	5,63
7		75	303	4,04
8		54	285	5,28
9		89	295	3,31
	średnia ± SD	64,8 ± 16,1	307,6 ± 33,2	4,95 ± 1,07
	p	0,008*	0,817	0,004*

* istotne statystycznie ($p < 0,05$; test t).

* (statistically significant [$p < 0.05$, t test]).

w zębach mlecznych na powierzchniach proksymalnych przedstawili Ogodescu et al. [27] – 85,7%. Również Soviero et al. [29] uzyskali dużą średnią wartość PD (70–80%). Autorzy zaobserwowali jednocześnie, że 60% powierzchni zmian przenikniętych żywicą miało umiarkowaną jednorodność [29]. Zgodnie z przedstawionymi przez wielu autorów oraz prezentowanymi wynikami głębokość infiltracji plamy próchnicowej zwiększa się wraz ze zwiększeniem głębokości zmiany [6–8, 10, 23, 32].

Przenikalność infiltranta zależy od morfologii zmiany, zwłaszcza stopnia porowatości. Aktywne plamy są bardziej podatne na infiltrację niż nieaktywne [10, 14, 17, 23, 32]. W przeciwieństwie do niektórych badań, w których odnotowano prawie całkowitą infiltrację żywicą plam próchnicowych, Neuhaus et al. [23], podobnie do obserwacji własnych, wykazali, że około 80% obszaru aktywnych zmian i 75% nieaktywnych nie zostało całkowicie wypełnionych żywicą. Potwierdzają to badania Arnolda i Gaenglera [32]. Dzięki połączeniu technik fluoroscencyjnej mikroskopii i mikroskopii światła spolaryzowanego po raz pierwszy powiązано morfologiczne cechy plam próchnicowych z penetracją żywicy. Zaletą połączenia obu metod mikroskopowych jest możliwość wizualizacji ścieżek dyfuzji żywicy [32].

Uważa się, że przyczynami niepełnej penetracji żywicy mogą być: nadmierne usunięcie materiału przed utwardzeniem światłem (procedura usunię-

cia nadmiaru jest wymagana) [21]; pęcherzyki powietrza jako rezultat powierzchniowego napięcia, podobnie jak w przypadku uszczelniaczybruzd [17]; hamowanie polimeryzacji przez tlen i niecałkowite odparowanie rozpuszczalnika w materiale infiltrującym [7, 33] oraz obecność substancji organicznych (białka, lipidy, węglowodany), zamykających mikropory, zwłaszcza w warstwie ciemnej plamy próchnicowej [7, 11, 17, 23, 32].

Czynnikiem ograniczającym penetrację żywicy może być również niecałkowite usunięcie wysoce zmineralizowanej powierzchniowej warstwy plamy próchnicowej [3, 4, 13, 14]. Jak zauważają Meyer-Lueckel et al. [13] przygotowanie powierzchni zmiany dwuminutową aplikacją 15% HCl powoduje erozję 90% powierzchniowej warstwy szkliwa w 70% przypadków. Istnieją także obawy, że obecność mikroszczelin w powierzchniowej warstwie szkliwa może zmniejszać długoterminową skuteczność leczenia. W piśmiennictwie niewiele badań opisuje wpływ płynów o odczynie kwaśnym na powierzchnię szkliwa infiltrowanego żywicą Icon®. Obserwacje Schmidlina et al. [34] wydają się potwierdzać wrażliwość powierzchni infiltrowanej na działanie kwasów. Autorzy wskazują, że infiltracja zdeminalizowanej podpowierzchniowej warstwy plamy próchnicowej i dodatkowe uszczelnienie powierzchni infiltrowanej zmiany powoduje wzmożone zabezpieczenie przed kwasami. W badaniu własnym w niektórych próbkach poddanych działaniu pły-

nu o odczynie silnie kwaśnym zauważono utratę ciągłości infiltrowanej powierzchni spowodowaną rozpuszczeniem pryzmatów szkliwa. Autorzy zauważają, że chociaż infiltracja zmniejsza rozwój zmian próchnicowych narażonych na oddziaływanie kwasów, demineralizacja po infiltracji żywicą jest możliwa [1, 2, 12, 34, 35]. Wynika to z częściowego rozpuszczenia substancji mineralnych w warstwie centralnej zmiany próchnicowej, niewypełnionej całkowicie przez infiltrant oraz ze skurczu polimeryzacyjnego żywicy podczas utwardzania światłem, co powoduje powstanie mikroprzecieku i zmniejszenie odporności na działanie kwasów [2, 33]. Kliniczne implikacje wyników badań *in vitro* pozostawiają miejsce do dyskusji. Z biologicznego punktu widzenia, niebezpieczna wydaje się utrata zewnętrznej ochronnej warstwy wczesnej zmiany próchnicowej z powodu trawienia kwasem, gdyż jeśli żywica ulega degradacji w czasie, zmiany mogą narastać [36]. Wiadomo, że duża zawartość TEGDMA w żywicy metakrylanowej może zwiększać podatność na degradację infiltranta w porównaniu z żywicami o małej zawartości TEGDMA [37, 38].

Z drugiej strony Neuhaus et al. [23] poddają w wątpliwość, czy pełna penetracja infiltranta w głąb zmiany próchnicowej ma zasadnicze znaczenie dla efektów klinicznych. Autorzy zastanawiają się, czy „uszczelnienie” powierzchniowej warstwy zmiany (podobnie jak w przypadku uszczelniania bruzd) zapobiegające dotarciu do szkliwa kwasów bakteryjnych jest wystarczające, aby kontrolować progresję zmiany.

Własna ocena mikrotwardości zdrowego szkliwa okazała się zgodna z przedstawianymi w piśmiennictwie. Według badań Ryge'a et al. [39] przeprowadzonych z zastosowaniem metody Vickersa mikrotwardość szkliwa zdrowego wynosi 254–383 VHN, co jest zgodne z aktualnymi danymi (268–375 VHN) [40]. Podobnie w badaniu własnym mikrotwardość (MH) zdrowego szkliwa wahała się 262–364 VHN. Mikrotwardość szkli-

wa w obrębie infiltrowanej płamy próchnicowej była wprawdzie większa niż nieinfiltrowanej, jednak znacznie mniejsza niż szkliwa zdrowego. Infiltracja zdemineralizowanego szkliwa żywicą tylko w niewielkim stopniu wpływa więc na jego twardość. Wyniki te są zgodne z przedstawionymi przez Parisa i Meyera-Lueckela [21], którzy mikrotwardość infiltrowanego szkliwa ocenili na 37 ± 16 VHN. Autorzy ci zauważyli również, że dwukrotne przeprowadzenie infiltracji zwiększa mikrotwardość do 48 ± 17 VHN. Przeciwnie Taher et al. [41] porównując mikrotwardość zdrowego szkliwa infiltrowanego i pokrytego uszczelniającym, wykazali większą wartość VHN szkliwa po infiltracji ($246,4 \pm 123,9$ VHN) niż po uszczelnieniu ($37,5 \pm 14,2$ VHN). Podobną mikrotwardość (MH) infiltrowanego, sztucznie demineralizowanego ludzkiego szkliwa opisali Pancu et al. [42]. Wyniki badań mikrotwardości szkliwa zmieniały się w zakresie: 246–67 VHN dla szkliwa poddanego infiltracji materiałem Icon, 125–40 VHN dla szkliwa poddanego remineralizacji i 44–24 VHN dla nieleczzonej zdemineralizowanej powierzchni szkliwa [42]. Torres et al. [43] analizowali mikrotwardość sztucznych demineralizacji szkliwa ludzkiego infiltrowanego, remineralizowanego środkami zawierającymi fluor (codziennie 0,05% NaF i raz w tygodniu 2% żel z fluorem) oraz niepoddanych interwencji. Wykazali najwyższą wartość MH szkliwa po infiltracji ($160,83 \pm 91,11$ VHN), mniejszą po remineralizacji ($107,75 \pm 67,38$ VHN – codziennie i $83,25 \pm 51,17$ VHN – raz w tygodniu) i najniższą ($45,18 \pm 29,17$ VHN) dla demineralizacji niepoddanej terapii.

W podsumowaniu należy podkreślić, że żywica Icon[®] infiltruje co najmniej połowę głębokości płamy próchnicowej szkliwa zęba mlecznego, przy czym stopień penetracji żywicy zwiększa się wraz z głębokością zmiany. Infiltracja płamy próchnicowej nie wpływa jednak istotnie na jej mikrotwardość i wrażliwość na działanie płynów o odczynie kwaśnym.

Piśmiennictwo

- [1] KIELBASSA A.M., MULLER J., GERNHARDT C.R.: Closing the gap between oral hygiene and minimally invasive dentistry: a review on the resin infiltration technique of incipient (proximal) enamel lesions. *Quintessence Int.* 2009, 40, 663–681.
- [2] KIELBASSA A.M., ULRICH I., TREVEN L., MUELLER J.: An updated review on the resin infiltration technique of incipient proximal enamel lesions. *Med. Evol.* 2010, 26, 4, 3–15.
- [3] PARIS S., MEYER-LUECKEL H., KIELBASSA A.M.: Resin infiltration of natural caries lesions. *J. Dent. Res.* 2007, 86, 662–666.
- [4] PARIS S., MEYER-LUECKEL H.: Inhibition of caries progression by resin infiltration *in situ*. *Caries Res.* 2010, 44, 47–54.
- [5] PARIS S., HOPFENMUELLER W., MEYER-LUECKEL H.: Resin infiltration of caries lesions: efficacy randomized trial. *J. Dent. Res.* 2010, 89, 823–826.
- [6] PARIS S., MEYER-LUECKEL H.: Infiltrants inhibit progression of natural caries lesions *in vitro*. *J. Dent. Res.* 2010, 89, 1276–1280.
- [7] MEYER-LUECKEL H., CHATZIDAKIS A., NAUMANN M., DÖRFER C.E., PARIS S.: Influence of application time on penetration of an infiltrant into natural enamel caries. *J. Dent.* 2011, 39, 465–469.

- [8] PARIS S., SOVIERO V.M., SEDDIG S., MEYER-LUECKEL H.: Penetration depths of an infiltrant into proximal caries lesions in primary molars after different application times *in vitro*. *Int. J. Paediatr. Dent.* 2012, 22, 349–355.
- [9] www.dmg-dental.com/www.drilling-no-thanks.com.
- [10] KANTOVITZ K.R., PASCON F.M., NOBRE-DOS-SANTOS M., PUPPIN-RONTANI R.M.: Review of the effects of infiltrants and sealers on non-cavitated enamel lesions. *Oral Health Prev. Dent.* 2010, 8, 295–305.
- [11] MEYER-LUECKEL H., PARIS S.: Improved resin infiltration of natural caries lesions. *J. Dent. Res.* 2008, 87, 1112–1116.
- [12] MEYER-LUECKEL H., PARIS S.: Progression of artificial enamel caries lesions after infiltration with experimental light curing resins. *Caries Res.* 2008, 42, 117–124.
- [13] MEYER-LUECKEL H., PARIS S., KIELBASSA A.M.: Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in preparation for resin infiltration. *Caries Res.* 2007, 41, 223–230.
- [14] PARIS S., DÖRFER C.E., MEYER-LUECKEL H.: Surface conditioning of natural enamel caries lesions in deciduous teeth in preparation for resin infiltration. *J. Dent.* 2010, 38, 65–71.
- [15] ROBINSON C., BROOKES S.J., KIRKHAM J., WOOD S.R., SHORE R.C.: *In vitro* studies of the penetration of adhesive resins into artificial caries-like lesions. *Caries Res.* 2001, 35, 136–141.
- [16] GRAY G.B., SHELLIS P.: Infiltration of resin into white spot caries-like lesions of enamel: an *in vitro* study. *Eur. J. Prosthodont. Restor. Dent.* 2002, 10, 27–32.
- [17] PARIS S., BITTER K., NAUMANN M., DÖRFER C.E., MEYER-LUECKEL H.: Resin infiltration of proximal caries lesions differing in ICDAS codes. *Eur. J. Oral Sci.* 2011, 119, 182–186.
- [18] SCHNEIDER H., ALBERT M., BUSCH M., HAEFER M., JENTSCH H.: Infiltration of natural caries lesions with monomer under simulated conditions of the oral cavity. DMG 2008, Hamburg, Germany, www.dmg-dental.com.
- [19] PARIS S., BITTER K., RENZ H., HOPFENMULLER W., MEYER-LUECKEL H.: Validation of two dual fluorescence techniques for confocal microscopic visualization of resin penetration into enamel caries lesions. *Microsc. Res. Tech.* 2009, 72, 7, 489–494.
- [20] MEYER-LUECKEL H., PARIS S.: Infiltration of natural caries lesions with experimental resins differing in penetration coefficients and ethanol addition. *Caries Res.* 2010, 44, 408–414.
- [21] PARIS S., MEYER-LUECKEL H.: Influence of application frequency of an infiltrant on enamel lesions. *J. Dent. Res.* 2008, 87, Spec Iss B, 1585.
- [22] SUBRAMANIAM P., GIRISH BABU K.L., LAKHOTIA D.: Evaluation of penetration depth of a commercially available resin infiltrate into artificially created enamel lesions: An *in vitro* study. *J. Conserv. Dent.* 2014, 17, 146–149.
- [23] NEUHAUS K.W., SCHLAFFER S., LUSSI A., NYVAD B.: Infiltration of natural caries lesions in relation to their activity status and acid pretreatment *in vitro*. *Caries Res.* 2012, 47, 203–210.
- [24] PARIS S., SOVIERO V.M., SCHUCH M., MEYER-LUECKEL H.: Pretreatment of natural caries lesions affects penetration depth of infiltrants *in vitro*. *Clin. Oral Investig.* 2013, 17, 2085–2089.
- [25] PARIS S., MEYER-LUECKEL H., STIEBRITZ M., KIELBASSA A.M.: Surface layer erosion of enamel caries lesions in primary teeth in preparation for resin infiltration. *Caries Res.* 2007, 41, 268–334.
- [26] PARIS S., SOVIERO V.M., CHATZIDAKIS A.J., MEYER-LUECKEL H.: Penetration of experimental infiltrants with different penetration coefficients and ethanol addition into natural caries lesions in primary molars. *Caries Res.* 2012, 46, 113–117.
- [27] OGODESCU A., MORVAY A.A., OGODESCU E., RUSU L.C., SALA C., ZETU I., ARDELEAN L., BRATU C.: Visualization of resin penetration into enamel caries lesions of temporary teeth – a confocal microscopic study. *Rev. Chim.* 2012, 63, 82–85.
- [28] SOVIERO V., PARIS S., SÉLLOS M., MEYER-LUECKEL H.: Effects of application time on infiltrant caries penetration *ex vivo*. *J. Dent. Res.* 2010, 89, Spec Iss A, 2521.
- [29] SOVIERO V.M., PARIS S., LEAL S.C., AZEVEDO R.B., MEYER-LUECKEL H.: *Ex vivo* evaluation of caries infiltration after different application times in primary molars. *Caries Res.* 2012, 47, 110–116.
- [30] BASHIR E., EKBERG O., LAGERLOF F.: Salivary clearance of citric acid after an oral rinse. *J. Dent.* 1995, 23, 209–212.
- [31] DAVILA J.M., BUONOCORE M.G., GREELEY C.B., PROVENZA D.V.: Adhesive penetration in human artificial and natural white spots. *J. Dent. Res.* 1975, 54, 999–1008.
- [32] ARNOLD W.H., GAENGLER P.: Light – and electronmicroscopic study of infiltration of resin into initial caries lesions – a new methodological approach. *J. Microsc.* 2012, 245, 26–33.
- [33] PARIS S., MEYER-LUECKEL H., CÖLFEN H., KIELBASSA A.M.: Resin infiltration of artificial enamel caries lesions with experimental light curing resins. *Dent. Mater. J.* 2007, 26, 582–588.
- [34] SCHMIDLIN P.R., SENER B., ATTIN T., WIEGAND A.: Protection of sound enamel and artificial enamel lesions against demineralisation: caries infiltrant versus adhesive. *J. Dent.* 2012, 40, 851–856.
- [35] ROCHA GOMES TORRES C., MARCONDES SARMENTO TORRES L., SILVA GOMES I., SIMOES DE OLIVEIRA R., BUHLER BORGES A.: Effect of caries infiltration technique and fluoride therapy on the color masking of white spot lesions. *J. Dent.* 2011, 39, 202–207.
- [36] VAN LANDUYT K.L., NAWROT T., GEEBELN B., DE MUNCK J., SNAUWAERT J., YOSHIHARA K., SCHEERS H., GODDERIS L., HOET P., VAN MEERBEEK B.: How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dent. Mater.* 2011, 27, 723–747.
- [37] ORTENGREN U., WELLENDORF H., KARLSSON S., RUYTER I.E.: Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in an aqueous environment. *J. Oral Rehabil.* 2001, 28, 1106–1115.
- [38] SIDERIDOU I.D., KARABELA M.M., VOUVOURI E.C.: Volumetric dimensional changes of dental light-cured dimethacrylate resins after sorption of water or ethanol. *Dent. Mater.* 2008, 24, 1131–1136.
- [39] RYGE G., FOLEY D.E., FAIRHURST C.W.: Micro-indentation hardness. *J. Dent. Res.* 1961, 40, 1116–1126.

- [40] CHUENARROM CH., BENJAKUL P., DAOSODSAI P.: Effect of indentation load and time on Knoop and Vickers microhardness tests for enamel and dentin. *Materials Res.* 2009, 12, 473–476.
- [41] TAHER N.M., ALKHAMIS H.A., DOWAIDI S.M.: The influence of resin infiltration system on enamel microhardness and surface roughness: an *in vitro* study. *Saudi Dent. J.* 2012, 24, 79–84.
- [42] PANCU G., ANDRIAN S., IOVAN G., GHIORGHE A., TOPOLICEANU C., MOLDOVANU A., GEORGESCU A., PANCU I., STOLERIU S.: Study regarding the assessment of enamel microhardness in incipient carious lesions treated by Icon method. *Rom. J. Oral Rehab.* 2011, 3, 4, 94–100.
- [43] TORRES C.R., ROSA P.C., FERREIRA N.S., BORGES A.B.: Effect of caries infiltration technique and fluoride therapy on microhardness of enamel carious lesions: *Oper. Dent.* 2012, 37, 363–369.

Adres do korespondencji:

Anna Turska-Szybka
Zakład Stomatologii Dziecięcej
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Miodowa 18
00-246 Warszawa
Polska
tel.: 22 502 20 31
e-mail: aturskaszybka@orange.pl

Konflikt interesów: nie występuje

Praca wpłynęła do Redakcji: 5.04.2014 r.

Po recenzji: 19.06.2014 r.

Zaakceptowano do druku: 26.06.2014 r.

Received: 5.04.2014

Revised: 19.06.2014

Accepted: 26.06.2014