



Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Katedra Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją

DAGMARA PIESIAK-PAŃCZYSZYN

**„Poziom fluoru w ślinie po aplikacji lakieru fluorkowego
– badanie *in vivo* i *in vitro*”**

**„Fluoride level in saliva after application of fluoride varnish
- *in vivo* and *in vitro* study”**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
Cykl publikacji powiązanych tematycznie

Promotor:

dr hab. Maciej Dobrzyński, prof. uczelni

Katedra i Zakład Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wrocław 2023

*Bardzo dziękuję mojemu promotorowi
Profesorowi uczelni dr hab. Maciejowi Dobrzyńskiemu
za cierpliwość i wyrozumiałość okazaną mi podczas
tworzenia tej pracy, a także za życzliwość i merytoryczne
wsparcie, na które zawsze mogłam liczyć.*

Pragnę także podziękować mojej Rodzinie: Mężowi Tomkowi i moim dzieciom Karolinie i Bartkowi za wsparcie, wyrozumiałość i cierpliwość oraz wiarę w moje możliwości nawet wtedy, kiedy sama w siebie zwątpiłam. Bez nich nie osiągnęłabym tego wszystkiego.

Szczególne podziękowania dedykuję moim Rodzicom, którzy zawsze mnie motywowali i zachęcali do kontynuacji badań i dotarcia do wymarzonego finału.

Pracę tę dedykuję śp. Profesor Urszuli Kaczmarek – mojemu wieloletniemu kierownikowi i pierwszemu promotorowi.

Spis treści

I.	I Wykaz używanych skrótów.....	5
II.	II Streszczenie.....	6
	Abstract.....	9
	1. Wstęp.....	12
	2. Cel pracy.....	16
	3. Materiał i metody.....	16
	4. Wyniki.....	19
	5. Podsumowanie i wnioski.....	21
	6. Piśmiennictwo.....	22
III.	III Publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej.....	28
IV.	IV Załączniki.....	62
	1. Informacja o indywidualnym wkładzie współautorów.....	62
	2. Opinia Komisji Bioetycznej.....	71
	3. Dorobek naukowy autora.....	73

Podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej stanowi spójny tematycznie zbiór 3 artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowym o łącznej punktacji IF = 2,7 oraz MEiN = 260.

I WYKAZ UŻYWANYCH SKRÓTÓW

F - fluor

ppmF - czyli ilość cząsteczek fluoru na milion, inaczej ilość miligramów fluoru na litr (mg/L)

pH - jest to ilościowa skala zasadowości oraz kwasowości roztworu wodnego oparta na stężeniu jonów wodorowych w danej cieczy

ADA - American Dental Association

AAPD - American Academy of Pediatric Dentistry

EAPD - European Academy of Paediatric Dentistry

FDI - Federation Dentaire Internationale

IAPD - International Association for Paediatric Dentistry

FV – lakier fluorkowy

PTD – prawdopodobna toksyczna dawka

APF - żel zawierający zakwaszony fluorek fosforanowy

fTCP - sfunkcjonalizowany fosforan trójwapniowy

ACP - amorficzny fosforan wapnia

CCP-ACP – nanokompleks fosfopeptydu kazeiny i amorficznego fosforan wapnia

CCP-ACPF - nanokompleks fosfopeptydu kazeiny i amorficznego fosforan wapnia z fluorem

TCP – fosforan trójwapniowy

CSPS – fosfokrzemian sodowo – wapniowy – bioaktywne szkło

TMP – trójmetafosforan sodu

CaGP – glicerolofosforan wapnia

CXP - fosforan wapnia pokryty ksylitolem

NIR – bliska podczerwień

UV-VIS-NIR – ultrafiolet – światło widzialne – bliska podczerwień

UV - promieniowanie ultrafioletowe

mg/kg m.c. – miligram na kilogram masy ciała

DMF/T – wskaźnik próchnicy, który oznacza sumę liczby zębów stałych z próchnicą (D), zębów stałych usuniętych z powodu próchnicy (M) i zębów stałych wypełnionych (F)

dmf/t - wskaźnik próchnicy, który oznacza sumę liczby zębów mlecznych z próchnicą (d), zębów mlecznych usuniętych z powodu próchnicy (m) i zębów mlecznych wypełnionych (f)

TISAB – regulator całkowitej siły jonowej

F_{skum} – fluor skumulowany

II STRESZCZENIE

Rozprawę doktorską stanowi cykl trzech publikacji powiązanych tematycznie.

Tematyka pierwszego artykułu zatytułowanego **„Review on fluoride varnishes currently recommended in dental prophylaxis”** (Polim. Med. 2023; 53(2). <https://doi.org/10.17219/acem/174078>) dotyczy przeglądu piśmiennictwa na temat lakierów fluorkowych i ich zastosowania w zapobieganiu i leczeniu próchnicy zębów. Praca została podzielona na 6 części: (1) wprowadzenie, (2) budowa lakierów fluorkowych, (3) mechanizm działania, (4) zastosowanie kliniczne z uwzględnieniem wskazań i przeciwwskazań, schematu postępowania i metod aplikacji, (5) dyskusja i (6) wnioski. We wprowadzeniu omówiono historię lakierów fluorkowych, które w stomatologii początkowo traktowane były jako leki na nadwrażliwość zębiny, obecnie rekomendowane na całym świecie przez krajowe i międzynarodowe towarzystwa stomatologiczne w zapobieganiu i leczeniu próchnicy zębów. W drugiej części pracy omówiono budowę lakierów z podziałem na pierwszą i drugą generację w zależności od rodzaju czynnika aktywnego o charakterze przeciwp próchnicowym. Egzogenny mechanizm działania lakierów został opisany w części trzeciej pracy z uwzględnieniem ich wpływu na formowanie i metabolizm płytki bakteryjnej, hamowanie demineralizacji i promowanie remineralizacji, z określeniem czynników, które według obecnej wiedzy mogą mieć znaczący wpływ na skuteczność i bezpieczeństwo tej terapii. W części dotyczącej klinicznego zastosowania lakierów fluorkowych omówione zostały wskazania i przeciwwskazania oraz zalecane postępowanie w zależności od oceny ryzyka próchnicy i wieku pacjenta. Zwrócono także uwagę na potencjalne zagrożenia i skutki uboczne, które mogą pojawić się po zastosowaniu tych preparatów. W części piątej omówiono tematykę lakierów fluorkowych w świetle nowoczesnej wiedzy opartej na licznych badaniach i doświadczeniach, porównano dane na temat uwalniania fluoru przez lakiery fluorkowe pierwszej i drugiej generacji, zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* oraz wpływ różnych czynników na mechanizm formowania na powierzchni szkliwa fluorku wapnia czyli tzw. stabilnego rezerwuaru fluoru. Poruszono także temat bezpieczeństwa stosowania fluoru uwzględniając doniesienia dotyczące cytotoksycznego działania na fibroblasty dziąsła. W piśmiennictwie zamieszczono 131 pozycji, w tym 73 pozycje z ostatnich 10 lat (2013 – 2023).

Druga praca zatytułowana **„Uwalnianie jonów fluorkowych z lakieru fluorkowego drugiej generacji zawierającego CPP – ACP w warunkach *in vitro* i *in vivo* z zastosowaniem jonoselektywnej elektrody”** (Inż. Fiz. Med. 2023, 12, 5, 445-454) jest oryginalną pracą badawczą, w której oceniano dynamikę uwalniania jonów fluorkowych z lakieru MiVarnishTM (firmy GC, Tokyo, Japonia) w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Badany lakier zaliczany jest do lakierów drugiej generacji z zawartością 5% NaF oraz kompleksem fosfopeptydu kazeiny i amorficznego fosforanu wapnia (CPP-ACP) będącego źródłem łatwo przyswajalnego wapnia i jonów fosforanowych. Materiał badawczy w warunkach *in vitro* stanowiło 30 próbek przygotowanych z 15 usuniętych zębów ludzkich (trzonowców i przedtrzonowców) podzielonych losowo na trzy grupy po 10 próbek każda. Po naniesieniu na nie określonej ilości testowanego lakieru próbki umieszczono w szczelnych pojemnikach zawierających sztuczną ślinę o różnym pH (4,0, 5,0 lub 7,0). Oznaczono poziom uwolnionego fluoru po upływie 1, 2, 24, 48 oraz 168 godzin za pomocą jonoselektywnej elektrody ORION model 9609 połączonej z mikrokomputerem pH/jonometrem CPI – 551 Elmetron. W badaniach *in vivo* udział wzięło 10 ochotników, u których badany lakier został nałożony na powierzchnie żujące, policzkowe i podniebienne wszystkich zębów. Pomiary poziomu fluoru wykonano czterokrotnie, tzn.: przed aplikacją lakieru, po godzinie, po 2 godzinach oraz po 168 godzinach po aplikacji, zbierając za każdym razem 5 ml śliny mieszanej niestymulowanej. W badaniu *in vitro* uwalnianie fluoru z lakieru fluorkowego różniło się istotnie w każdej godzinie obserwacji i przy każdej kwasowości środowiska ($p < 0,001$). Najwyższe przyrosty uwalnianego fluoru odnotowano w ciągu pierwszych dwóch godzin obserwacji w każdej badanej grupie, natomiast najwięcej skumulowanego fluoru zostało zmierzonego w środowisku o pH=4,0. W badaniu *in vivo*, przyjmując jako poziom wyjściowy fluoru w ślinie $0,158 \pm 0,05$ ppmF, już po 1 godzinie od aplikacji wzrósł on 12-krotnie do $1,909 \pm 0,427$ ppmF, po 2 godzinach nieznacznie spadł, przy czym nadal był 9-krotnie wyższy niż przed aplikacją i wynosił $1,468 \pm 0,276$ ppmF. Po 168 h osiągnął wartość zbliżoną do stanu początkowego równą $0,195 \pm 0,08$ ppmF. Lakier MiVarnishTM zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* uwalniał jony fluorkowe przez cały okres badania, przy czym najwięcej fluoru uwalniał w pierwszej godzinie po aplikacji prezentując opisywaną w literaturze fazę gwałtownego wyrzutu jonów fluorkowych. W badaniu *in vitro* zarówno pH sztucznej śliny, jak i czas po aplikacji miały istotny wpływ na ilość uwalnianych jonów fluoru. Również interakcja pH i czasu okazała się istotna statystycznie.

Ostatnia praca zatytułowana **„In vitro comparison of the fluoride ion release from the first and second generation fluoride varnishes”** (Appl. Sci. 2023, 13, 7327) jest także oryginalną pracą badawczą, w której oceniano dynamikę uwalniania jonów fluorkowych w warunkach *in vitro* z lakierów fluorkowych pierwszej (Duraphat) i drugiej generacji (MiVarnishTM i EmbraceVarnishTM) oraz wpływ rodzaju lakieru, czasu od jego aplikacji i pH środowiska na ten proces. Materiał do badań stanowiło 90 próbek przygotowanych z usuniętych ludzkich zębów (przedtrzonowych i trzonowych), które podzielono losowo na dziewięć grup po 10 próbek w każdej. Każdą próbkę po wypłukaniu i osuszeniu pokryto lakierem kwasoodpornym z pozostawieniem na powierzchni gładkiej policzkowej lub podniebiennej odsłoniętego szkliwa o rozmiarze średnio 4mm/4mm. Odmierzone ilości badanych lakierów наносzono na próbki, które zanurzano w sztucznej ślinie o pH dostosowanym do wartości 4,0, 5,0 lub 7,0. Poziom uwalniania fluoru mierzono po 1, 2, 24, 48 oraz 168 godzinach od aplikacji za pomocą jonoselektywnej elektrody ORION model 9609 połączonej z mikrokomputerem pH/jonometrem CPI – 551 Elmetron. System podlegał kalibracji przed każdym kolejnym oznaczeniem przy użyciu TISAB. Pomiar stężenia uwalnianych jonów fluorkowych wyrażano w ppm, które później przeliczano na $\mu\text{mol/L}$ oraz w odniesieniu do ilości na $\mu\text{g/mg}$ naniesionego lakieru. W badaniu zmierzono skumulowany poziom ich uwalniania oraz przyrosty uwalniania w określonych przedziałach czasowych oraz w odniesieniu do jednostki czasu – 1 godziny. Dodatkowo wykonano pomiary widma przepuszczalności Duraphatu, EmbraceVarnishaTM i MiVarnishaTM w obszarze UV-VIS-NIR. Średnie ilości zastosowanego lakieru wahały się w granicach od $7,9 \pm 0,2645$ mg do $8,2 \pm 0,1527$ mg, co odpowiadało średniej zawartości fluoru w przedziale od $0,1249 \pm 0,0055$ mg dla MiVarnishaTM, $0,1512 \pm 0,0027$ mg dla Duraphatu i $0,1640 \pm 0,0065$ mg dla EmbraceVarnishaTM. W ciągu 168 godzin eksperymentu, niezależnie od pH środowiska, najwięcej fluoru uwolnił lakier MiVarnishTM, a najmniej lakier EmbraceVarnish. Dla pH=4,0 skumulowane uwalnianie fluoru dla MiVarnishaTM wyniosło 11,52 ppmF, dla pH=5,0 9,33 ppmF i dla pH=7,0 6,470 ppmF. Lakiery Duraphat i EmbraceVarnishTM uzyskały dla pH=4,0 odpowiednio 9,864 ppmF i 7,513 ppmF, dla pH=5,0 9,30 ppmF i 6,826 ppmF oraz dla pH=7,0 5,724 ppmF i 4,821 ppmF. W większości grup badawczych istotnie wyższe wartości uzyskano w środowiskach kwaśnych (pH=4,0 i pH=5,0) w porównaniu ze środowiskiem neutralnym. Opierając się na wynikach analizy wariancji i testów post-hoc, skumulowane uwalnianie fluoru z trzech badanych lakierów różniło się istotnie w każdej godzinie obserwacji i przy każdej kwasowości środowiska ($p < 0,001$) Autorzy pracy postawili hipotezę, że nie będzie różnic w uwalnianiu jonów fluorkowych związanych z rodzajem zastosowanego

lakieru, czasem od aplikacji oraz pH sztucznej śliny. Uzyskane wyniki okazały się wysoce istotne dla wszystkich trzech elementów ($p < 0,001$), co spowodowało odrzucenie hipotezy zerowej.

II ABSTRACT

The doctoral dissertation is a series of three thematically related publications.

The subject of the first article titled **„Review on fluoride varnishes currently recommended in dental prophylaxis”** (Polim. Med. 2023; 53(2). <https://doi.org/10.17219/acem/174078>) is a review of the literature on fluoride varnishes and their use in the prevention and treatment of dental caries. The paper was divided into 6 parts: (1) introduction, (2) composition of fluoride varnishes, (3) mechanism of action, (4) clinical application with regard to indications and contraindications, scheme of the procedure and methods of application, (5) discussion and (6) conclusions. The introduction discusses the history of fluoride varnishes initially introduced as dentin hypersensitivity medicaments, now recommended worldwide by national and international dental societies for prevention and treatment of dental caries. The second part of the paper discusses the composition of varnishes, which are divided into the first and second generation depending on the type of anticariogenic active agent. The varnish's exogenous mechanism of action was described in the third part of the article, considering their effect on the formation and metabolism of dental plaque, inhibition of demineralization and promotion of remineralization, with the identification of factors that, according to current knowledge, may significantly impact the efficacy and safety of this therapy. The clinical use section describes indications and contraindications and the recommended course of action depending on the caries risk assessment and the age of the patient. Attention was also drawn to the potential risks and side effects that may occur after use of these medicaments. The fifth part discusses the topic of fluoride varnishes in the light of modern knowledge based on numerous studies and experiments, compares data on the release of fluoride by first and second generation fluoride varnishes, both in vivo and in vitro conditions, and the influence of various factors on the mechanism of calcium fluoride formation on the enamel surface, i.e. so-called stable fluoride reservoir. The safety of fluoride use was also discussed based on reports of cytotoxicity on gingiva fibroblasts. The literature contains 131 items, including 73 items from the last 10 years (2013 – 2023).

The second article titled **„In vitro and in vivo release of fluoride ions from second generation fluoride varnishes containing CPP-ACP using ion-selective electrode”** (Inż. Fiz. Med. 2023, 12, 5, 445-454) is the original research paper that evaluated the dynamics of fluoride ion release from MiVarnish™ (GC, Tokyo, Japan) in the *in vitro* and *in vivo* conditions. The second generation varnish contains 5% NaF, casein phosphopeptide and amorphous calcium phosphate complex (CPP-ACP) which is a source of easily absorbable calcium and phosphate ions. The research material in the *in vitro study* consisted of 30 samples prepared from 15 extracted human teeth (molars and premolars) randomly divided into three groups of 10 samples each. After applying a specified amount of tested varnish, the samples were placed in sealed containers with artificial saliva of different pH values (4,0, 5,0 or 7,0). The level of fluoride released after 1, 2, 24, 48 and 168 hours was determined using an ion-selective electrode ORION model 9609 connected to a microcomputer pH/ionometer CPI – 551 Elmetron. *In vivo* studies were conducted in 10 volunteer patients, in which the tested varnish was applied to the occlusal, buccal and palatal surfaces of all teeth. Fluoride levels were measured four times, i.e. before varnish application, after one hour, after two hours and after 168 hours after application; measurements were conducted after collecting 5 ml of mixed non-stimulated saliva each time. In an *in vitro* study, the release of fluoride from the fluoride varnish varied significantly at each observation hour and at each environmental acidity ($p < 0,001$). The highest growths of released fluoride were observed during the first two hours of observation in each study group, while the highest cumulative fluoride was measured at pH = 4,0. In the *in vivo* study, considering $0,158 \pm 0,05$ ppmF as a baseline level of fluoride in saliva, after only 1 hour from application it increased 12 times to the level of $1,909 \pm 0,427$ ppmF, then slightly decreased after 2 hours, while still being 9 times higher than prior to the application and equal to $1,468 \pm 0,276$ ppmF. After 168 hours, it reached a value close to baseline of $0,195 \pm 0,08$ ppmF. MiVarnish™ in both, *in vitro* as well as *in vivo* conditions, released fluoride ions throughout the study period, with most fluoride released in the first hour after application, presenting the literature-reported phase of rapid fluoride ion ejection. In the *in vitro* study, both the pH of artificial saliva and the time since the application had a significant effect on the amount of fluoride ions released. The interaction of pH and time also proved to be statistically significant.

The last article titled **„In vitro comparison of the fluoride ion release from the first and second generation fluoride varnishes”** (Appl. Sci. 2023, 13, 7327) is also an original research paper that evaluated the dynamics of *in vitro* fluoride ion release from the first generation fluoride varnishes (Duraphat) and second generation fluoride varnishes

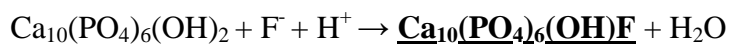
(MiVarnishTM and EmbraceVarnishTM), as well as the influence of varnish type, time since its application and environmental pH on this process. The material consisted of 90 samples prepared from extracted human teeth (premolars and molars), which were randomly divided into nine groups of 10 samples each. After rinsing and drying, each sample was coated with an acid-resistant varnish, with exposed enamel of an average size of 4 mm/4 mm left on the buccal and palatal smooth surfaces. Measured quantities of tested varnishes were applied onto samples which later were immersed in artificial saliva with pH adjusted to 4,0, 5,0 or 7,0. Fluoride release was then measured at 1, 2, 24, 48 and 168 hours after application using an ORION model 9609 ion-selective electrode connected to a CPI – 551 Elmetron pH/ionometer microcomputer. The system was calibrated prior to every subsequent measurement using TISAB. Results of measured concentration of released fluoride ions were expressed in ppm, which then were converted to $\mu\text{mol/L}$ and, for the amount of applied varnish, to $\mu\text{g/mg}$. In the study, cumulative level of fluoride released was measured, the release over the specified time intervals as well as with reference to a time unit of 1 hour. Additionally, Duraphat, EmbraceVarnishTM and MiVarnishTM transmittance spectra were measured in the UV-VIS-NIR region. The quantity of the applied varnish ranged from $7,9 \pm 0,2645$ mg to $8,2 \pm 0,1527$ mg, which corresponded to an average fluoride content of $0,1249 \pm 0,0055$ mg for MiVarnishTM, $0,1512 \pm 0,0027$ mg for Duraphat and $0,1640 \pm 0,0065$ mg for EmbraceVarnishTM. Over the 168 hours of the experiment, regardless of the pH of the environment, MiVarnishTM released the most of fluoride ions and EmbraceVarnishTM released the least. For pH=4,0, the cumulative fluoride release for MiVarnishTM was 11,52 ppmF, for pH=5,0 9,33 ppmF and for pH=7,0 6,470 ppmF. Duraphat and EmbraceVarnishTM reached 9,864 ppmF and 7,513 ppmF, for pH=5,0 9,30 ppmF and 6,826 ppmF, and for pH=7,0 5,724 ppmF and 4,821 ppmF respectively. In most of research groups, significantly higher values were obtained in acidic (pH=4,0 and pH=5,0) compared to a neutral environment. Based on the results of the variance analysis and post-hoc tests, the cumulative release of fluoride from the three varnishes was significantly different in each hour of observation and at each acidity of the environment ($p < 0,001$). The authors hypothesized that there would be no differences in the release of fluoride ions related to the type of varnish used, time from the application and the pH of the artificial saliva. The obtained results were highly significant for all three elements ($p < 0,001$), which led to the rejection of the null hypothesis.

1. WSTĘP

Od połowy XX wieku związki fluoru odgrywają istotną rolę w profilaktyce próchnicy zębów będąc jedną z najskuteczniejszych metod walki z tą chorobą. W 1945 roku w Grand Rapids w stanie Michigan po raz pierwszy wprowadzono tzw. fluorkowanie wody, natomiast w późnych latach 50 - tych XX wieku w Stanach Zjednoczonych opracowano pierwsze zalecenia dotyczące tzw. fluoryzacji systemowej, która przez wiele lat była uważana za najbardziej korzystną metodę zapobiegania próchnicy. Głównym jej założeniem było dostarczenie fluoru drogą endogenną czyli w trakcie rozwoju tkanek twardych zębów, najczęściej biernie z wodą pitną, solą czy mlekiem albo aktywnie za pomocą suplementacji kroplami lub tabletkami (1,2,3,4). Systemowo podany fluor miał wpływać na procesy zachodzące w trakcie amelogenezy czyli rozwoju szkliwa, będąc katalizatorem reakcji powstawania hydroksyapatytów, biorąc udział w tworzenie fluorohydroksyapatytów w miejsce węglano- i hydroksyapatytów, zwiększając stabilność kryształów i zapobiegając przestrzennym dyslokacjom o charakterze śrubowym lub krawędziowym czy biorąc udział w usuwaniu nadmiaru wody i białek z nowo powstałego szkliwa (1,2,3). Uważano także, że obecność fluoru wpływa korzystnie na morfologię rozwijających się zębów, charakteryzującą się bardziej zaokrąglonymi guzkami i płytszymi bruzdami (2,4). Uzyskanie w zewnętrznej warstwie szkliwa wysokiego stężenia fluoru miało skutecznie i trwale chronić zęby przed rozwojem choroby próchnicowej. Okazało się jednak, że nie istnieje tzw. względna odporność szkliwa na atak kwasów, a ilość fluoru zawartego w tej tkance nie odgrywa istotnej roli w redukcji próchnicy (4,5,6), natomiast samo postępowanie obarczone jest wysokim ryzykiem przedawkowania prowadzącym do powstawania fluorozy, co zwróciło uwagę na toksyczny efekt tej suplementacji. Spowodowało to zwrot ku metodzie egzogennej (kontaktowej), która zgodnie z nowym spojrzeniem na profilaktykę fluorkową zakłada, że nawet niewielkie ilości fluoru w fazie płynnej płytki nazębnej, na poziomie minimum 0,03 ppm, istotnie zmniejszają rozpuszczalność szkliwa w kwasach i są korzystniejsze w redukcji próchnicy niż wysokie stężenia tego pierwiastka wbudowane w szkliwo (2,4,5,6,7,8,9).

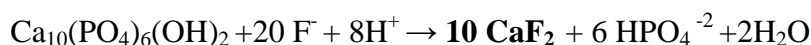
Egzogenna fluoryzacja kontaktowa polega na bezpośrednim i systematycznym działaniu na powierzchnie wyrżniętych zębów poprzez zabiegi pędzlowania, wcierania, szczotkowania czy płukania z zastosowaniem organicznych (aminofluorki I i II generacji), jak i nieorganicznych (fluorek sodu, fluorek cyny, zakwaszony monofluorofosforan sodu) związków fluoru. Mechanizm działania fluoru w przypadku miejscowej aplikacji opiera się na oddziaływaniu na płytkę bakteryjną, hamowaniu procesu demineralizacji oraz promowaniu

remineralizacji szkliwa (1,3,4,8,10,11,12). Efekt bakteriostatyczny lub/i bakteriobójczy zostaje osiągnięty poprzez kilka mechanizmów. Pierwszy polega na zaburzeniu adherencji drobnoustrojów do błonki nabytej i w konsekwencji zmniejszeniu odkładania płytki nazębnej. W drugim dochodzi do zmian metabolizmu bakterii: hamowania aktywności enolazy, zmniejszenia transportu glukozy do wnętrza komórki, zakłócania syntezy zewnątrzkomórkowych i wewnątrzkomórkowych polisacharydów bakteryjnych i spadku aktywności fosfataz komórkowych. Ponadto dochodzi do obniżenia stężenia wytwarzanego przez bakterie kwasu mlekowego (1,2,10,12,13). Miejscowe działanie jonów fluorkowych ma też istotny wpływ na przebieg procesów de- i remineralizacji, a charakter tych reakcji jest uzależniony od ich stężenia w ślinie i płytce nazębnej. Przy niskim stężeniu fluoru, poniżej 50 ppm, spadek pH w jamie ustnej prowadzi do rozpuszczania hydroksyapatytów i ucieczki minerałów (Ca^{+2} , PO_4^{-3} , HCO_3^{-}) ze szkliwa przy jednoczesnym dyfundowaniu fluorków w kierunku przeciwnym. Są one adsorbowane na powierzchni kryształu i wbudowywane w strukturę w miejsce grup hydroksylowych, powodując jego naprawę i modyfikację (1,2,4,14,15,16). Biologicznie tylko część grup OH^- ulega podstawieniu, stąd finalnie powstaje nie czysty fluoroapatyt a fluorohydroksyapatyt (4,5), zgodnie z reakcją opisaną poniżej:



Związek ten jest bardzo silnie związany z najbardziej zewnętrznymi warstwami szkliwa, często w literaturze określany jako fluor związany (*bonded fluoride*), który może zostać utracony tylko w przypadku starcia całej tkanki lub całkowitego jej rozpuszczenia (2).

Jeżeli stężenie fluorków jest większe niż 100 ppm, oprócz inkorporacji fluoru do sieci krystalicznej hydroksyapatytu, na powierzchni szkliwa, w płytce i błonce nabytej tworzą się niewielkie ziarnistości fluorku wapnia (zgodnie z reakcją opisaną poniżej), określane jako fluor luźny, niezwiązany (1,2,4,6,9,10,13,14,17,18,19,20,21).



Ponieważ czysty kryształ CaF_2 jest raczej sześcienny niż sferyczny, powstałe złogi kuliste są opisywane jako związki podobne do fluorku wapnia, które z jednej strony blokują dyfuzję kwasów, z drugiej zaś tworzą rezerwuar fluoru, stabilny i nierozpuszczalny w środowisku o pH neutralnym (1,2,15,16,19,23). Ze względu na nienasylenie płynów w odniesieniu do fluorku wapnia, będzie on stopniowo ulegał rozpuszczaniu w zależności od wartości pH. Dodatek jonów fosforanowych zwiększa jego rozpuszczalność w porównaniu z czystym

CaF₂, a jednocześnie spełnia funkcje buforujące (22,23,24). Przy spadku pH poniżej 5,0 powłoka błonkowa ulega rozpuszczeniu, dochodzi do uwalniania jonów fluorkowych oraz ich wbudowywania w strukturę szkliwa. Spadek stężenia fluoru poniżej 100 ppm oraz wzrost pH prowadzi do wysycenia szkliwa w stosunku do otaczającego go płynu i zahamowania opisanego powyżej procesu (1,2,12,14,16,20,25,26). Na proces formowania się CaF₂, zdaniem wielu badaczy (15,16,22,27,28,29,30,31), ma wpływ nie tylko wysokie stężenie jonów fluoru, ale także obecność jonów wapnia i fosforu. Podobnie jak w przypadku niższych stężeń, po początkowej ekspozycji jamy ustnej na fluorki, poziom jonów fluorkowych w ślinie osiąga bardzo wysokie stężenie (nawet 8-krotnie wyższe od wyjściowego), a następnie obniża się, przy czym powrót do stanu zbliżonego do wyjściowego trwa znacznie dłużej i zależy w dużej mierze od szybkości wydzielania śliny (15,28,32,33,34,35,36).

Lakiery fluorkowe (FV) używane w metodzie fluoryzacji kontaktowej są najbardziej stężonymi preparatami fluorkowymi dopuszczonymi do profesjonalnego stosowania, a jednocześnie jednymi z najbezpieczniejszych i najlepiej przebadanych związków. Nakładane bezpośrednio na zęby, tworząc cienką warstwę, która pozostaje na nich do 4 godzin (22), w efekcie zapewniają przedłużone uwalnianie fluoru. Pierwsze informacje o ich zastosowaniu w stomatologii pojawiły się w roku 1964 za sprawą niemieckiego badacza Hansa Joachima Schmidta. Wykorzystał on do badań 2% fluorek sodu w alkoholowym roztworze naturalnej żywicy stanowiąc alternatywę dla preparatów będących roztworami wodnymi (19). Wyniki badań klinicznych potwierdzające jego skuteczność zostały opublikowane cztery lata później (37), czego efektem było wprowadzenie na rynki pierwszego komercyjnego lakieru fluorkowego pod nazwą Duraphat (Woelm Pharma Co., Eshwege, Niemcy) zawierającego 5% NaF. Obiecujące rezultaty badań przyczyniły się do wprowadzania kolejnych preparatów, takich jak: Fluor Protector (Vivadent, Schaan, Liechtenstein) zawierający 0,9% difluorosilanu (1975 r.), Duraflo (AMD Medicom Inc., Montreal, Kanada) z 5% NaF (1984 r.), Bifluorid 12 (Voco Chemie GmbH, Cuxhaven, Niemcy) z 6% NaF (1986 r.) (38). Zatwierdzone w 1994 roku przez FDA jako leki na nadwrażliwość zębiny, z biegiem lat weszły na stałe do praktyki stomatologicznej, rekomendowane od 2006 roku przez międzynarodowe organizacje i towarzystwa stomatologiczne, tj. ADA, AAPD, EAPD, FDI, IAPD czy American Dental Association Council on Scientific Affairs (1,7,39,40,41,42,43,45,46).

W skład każdego lakieru fluorkowego wchodzi zazwyczaj trzy podstawowe elementy, tj. żywica (mastyks, szelak lub/i kalafonia zwana także kolofonią), alkohol (najczęściej etanol) oraz czynnik aktywny. Ponadto dodawane są środki sprzyjające przyczepności,

stabilizujące i smakowe, a także barwniki. Mastyks i szelak są odpowiedzialne za elastyczność i lepkość, a kalafonia otrzymywana z oleożywicy martwego drewna sosnowego lub z oleju talowego polepsza płynność materiału. Etanol lub inne alkohole są stosowane jako rozpuszczalniki, które ulegają odparowaniu po wystawieniu na działanie powietrza (14,29,46). Ze względu na czynnik aktywny obecnie wyróżnia się pierwszą i drugą generację lakierów fluorkowych. Lakiery pierwszej generacji zawierają sole fluorkowe, powszechnie znane jako fluorki, występujące zazwyczaj pod postacią neutralnego lub zakwaszonego 5% NaF zawierającego 2,26% jonów fluorkowych (22600 ppmF) albo 1% difluorosilanu zawierającego 0,1% jonów fluorkowych (1000 ppmF) (1,2,8,9,12,16,47). Ze względu na ograniczoną ilość jonów wapniowych w środowisku jamy ustnej, co z kolei może wpływać na dostępność jonów fluorkowych (16,20,23,48), wprowadzono lakiery drugiej generacji wzbogacone w jony wapnia i fosforowe inkorporowane w różnej postaci, np. jako tzw. sfunkcjonalizowany fosforan trójwapniowy (fTCP), amorficzny fosforan wapnia (ACP), nanokompleks fosfopeptydu kazeiny i amorficznego fosforanu wapnia (CPP – ACP), fosfokrzemian wapniowo - sodowy (Novamin) czy fosforan wapnia pokryty ksylitolem (CXP) (1,14,15,18,21,29,34,36,48). Uważa się, że ich obecność ma pozytywny wpływ na dynamikę uwalniania jonów fluorkowych, zwiększa ich biodostępność, polepsza retencję w jamie ustnej i wzmacnia efekt przeciwbakteryjny (1,12,16,20,23,27,31,34,48,49,50,51).

Skuteczność lakierów fluorkowych jest ściśle powiązana z bezpieczeństwem ich stosowania. Są to najbardziej stężone preparaty, zawierające niemal dwukrotnie tyle fluoru co żel APF i ponad 15-krotnie więcej niż standardowe pasty do zębów. Pomimo tego wyniki wielu badań wskazują na brak zagrożenia dla zdrowia i życia w przypadku ich stosowania (52,53,54,55,56). Aplikacja 0,50 ml lakieru 5% NaF dostarcza do organizmu 3-11 mg fluoru przy prawdopodobnej toksycznej dawce (PTD) na poziomie 5 mg/kg m.c. Wykazano także, że szczyt koncentracji fluoru w surowicy po takiej aplikacji waha się na poziomie 3,2 – 6,3 $\mu\text{mol/ml}$ i jest zbliżony do poziomu uzyskiwanego po szczotkowaniu zębów standardową pastą z 1450 ppm fluoru (3,63 $\mu\text{mol/mL}$) oraz, że stanowi tylko 1/7 szczytowych wartości występujących po aplikacji 1,25% żelu APF (52,53,54). Z tego też względu lakiery fluorkowe są zalecane bez tzw. bariery wiekowej, co oznacza, że można je stosować od pierwszego zęba mlecznego czyli średnio od 6 miesiąca życia pod warunkiem przestrzegania zaleconych dawek (1,52,54,55,57,58). Zgodnie z rekomendacjami są one wskazane przede wszystkim u osób z wysokim i średnim ryzykiem próchnicy, odpowiednio czterokrotnie i dwukrotnie w ciągu roku, w szczególności w trakcie leczenia ortodontycznego lub protetycznego, przy

obnażonych szyjkach zębów i kserostomii (1,3,7,8,43,44,59,60). Szczególną popularność zdobyły w stomatologii dziecięcej ze względu na łatwość i bezpieczeństwo aplikacji, umożliwiając ich stosowanie u dzieci przygotowywanych do zabiegów operacyjnych, z nadmiernym odruchem wymiotnym, wymagających specjalistycznej opieki zdrowotnej (7,43,57,61).

Badania wykazały, że stosowanie lakierów fluorkowych jest skuteczne w profilaktyce próchnicy wczesnodziecięcej i redukuje ją od 25% do 45% (62,63). W przeglądzie Cochrana przeprowadzonym przez Marinho i wsp. w 2013 roku (18) stwierdzono, że FV skutecznie obniżają próchnicę u dzieci i młodzieży, zarówno w zębach stałych i mlecznych, przy wskaźnikach trwałej redukcji próchnicy odpowiednio 43% i 37%. Spadek wskaźników DMF/T i dmf/t zanotowano odpowiednio dla 13 i 10 grup badawczych.

Pomimo wielu publikacji na temat działania lakierów i ich wpływu na stan zdrowia jamy ustnej, specyfika i bezpieczeństwo uwalniania fluoru oraz czynniki mające na to wpływ są nadal badane. Pojawienie się drugiej generacji lakierów fluorkowych, a także różnorodność dodawanych komponentów wymaga dalszej oceny klinicznej.

2. CEL PRACY

Głównym celem pracy było porównanie uwalniania jonów fluorkowych z lakierów pierwszej i drugiej generacji w warunkach *in vitro* i *in vivo*.

Cele szczegółowe pracy obejmowały:

1. Zbadanie dynamiki uwalniania jonów fluorkowych z lakierów fluorkowych pierwszej i drugiej generacji w zależności od rodzaju materiału.
2. Zbadanie dynamiki uwalniania jonów fluorkowych z lakierów fluorkowych w zależności od pH środowiska.
3. Porównanie dynamiki uwalniania fluoru z lakieru fluorkowego w warunkach *in vivo* i *in vitro*.
4. Określenie korelacji między ilością fluoru dostarczoną w lakierze a poziomem fluoru w ślinie uzyskanym po upływie określonego czasu.

3. MATERIAŁ I METODY

W *badaniu in vitro* ocenie podlegały trzy lakiery fluorkowe: jeden lakier pierwszej generacji z zawartością 5% NaF - Colgate® Duraphat Varnish - single dose (Colgate Oral Care, Sydney, Australia) oraz dwa lakiery drugiej generacji: MiVarnish™ (GC, Tokyo, Japan)

zawierający 5% NaF oraz kompleks fosfopeptydu kazeiny i amorficznego fosforanu wapnia (CPP-ACP) a także EmbraceVarnish™ (Pulpdent, Watertown Massachusetts, USA), w skład którego wchodzi 5% NaF wzbogacony jonami wapnia i fosforu pokrytymi ksylitolem (CXP). Widma absorpcji elektronów mierzono w zakresie widmowym 275–750 nm za pomocą spektrofotometru Cary-Varian 5E UV–vis-NIR. Badania przeprowadzono na pozbawionych próchnicy, defektów szkliwnych i demineralizacji 45 zębach ludzkich (przedtrzonowych i trzonowych), po wcześniejszym uzyskaniu zgody pacjenta, usuniętych ze wskazań ortodontycznych. Do momentu rozpoczęcia badania zęby przechowywane były w roztworze tymolu. Przygotowanie próbek polegało na przecięciu każdego zęba wzdłuż długiej osi z pozostawieniem nienaruszonych powierzchni gładkich policzkowych i podniebiennych. Po opłukaniu wodą destylowaną i osuszeniu, zostały one pokryte preparatem kwasoodpornym z pozostawieniem na powierzchniach gładkich policzkowej lub podniebiennej odsłoniętego szkliwa o rozmiarze średnio 4mm/4mm, na które zaaplikowano lakier fluorkowy. W celu dokładnego oszacowania ilości zaaplikowanego preparatu, próbki zostały dwukrotnie zważone, przed i po aplikacji, przy pomocy wagi laboratoryjnej Radwag, kalibrowanej z dokładnością do trzech miejsc po przecinku. Tak przygotowany materiał badawczy podzielono losowo na 9 grup, po 10 próbek w każdej i umieszczono w szczelnych, plastikowych pojemnikach zawierających 5 ml sztucznej śliny o różnym pH. Podział na grupy badawcze przedstawiono poniżej :

1. grupa DV/A – lakier Duraphat, pH=4,0
2. grupa DV/B – lakier Duraphat, pH=5,0
3. grupa DV/C – lakier Duraphat, pH=7,0
4. grupa MV/A – lakier MiVarnish, pH=4,0
5. grupa MV/B – lakier MiVarnish, pH=5,0
6. grupa MV/C – lakier MiVarnish, pH=7,0
7. grupa EV/A – lakier EmbraceVarnish, pH=4,0
8. grupa EV/B – lakier EmbraceVarnish, pH=5,0
9. grupa EV/C – lakier EmbraceVarnish, pH=7,0

Skład sztucznej śliny był następujący: NaCl (0,4 g), KCl (4,0 g), mocznik (1,0 g), Na₂S·9H₂O (0,005 g), NaH₂PO₄·2H₂O oraz CaCl₂·2H₂O (0,795g). Do uzyskania pH = 7,0 doprowadzono za pomocą 1 M NaOH, natomiast do pH = 4,0 i 5,0 za pomocą 1M HCL. W trakcie trwania pomiarów próbki przechowywane były w temperaturze 37°C. Oznaczanie poziomu fluorków w środowisku sztucznej śliny wykonano po upływie 1, 2, 24, 48 oraz 168 godzin,

każdorzazowo powtarzając je trzykrotnie, a następnie obliczając wartość średnią. W każdym przypadku, po upływie okresu pomiarowego, do oznaczeń wykorzystywano 5 ml eluatu, następnie osuszano próbkę i wprowadzano do świeżego roztworu sztucznej śliny. Do oznaczania jonów fluorkowych zastosowano jonoselektywną elektrodę ORION model 9609 połączoną z mikrokomputerem pH/jonometrem CPI-551 Elmetron (Thermo Fisher Scientific Co., Waltham, MA, USA) zaliczaną do tzw. elektrod kombinowanych, czyli niewymagających osobnej elektrody odniesienia. Przygotowanie elektrody do pomiaru polegało na jej napełnieniu tzw. roztworem wypełniającym (roztworem wewnętrznym) w celu zredukowania potencjałów złącza, a także określeniu tzw. współczynnika regresji, czyli wartości zmiany potencjału (w przypadku elektrody ORION powinna mieścić się w granicach 54-60 mV/dekadę). W celu zniwelowania błędów związanych z nieprawidłowym pH roztworu, system podlegał kalibracji przed każdym kolejnym oznaczeniem przy użyciu tzw. regulatora całkowitej siły jonowej (TISAB). Po każdym pomiarze elektrodę opłukano wodą dejonizowaną, żeby usunąć ewentualne zabrudzenia. Pomiaru stężenia uwalnianych jonów fluorkowych wyrażano w ppm, które później przeliczano na $\mu\text{mol/L}$ oraz w odniesieniu do ilości na $\mu\text{g/mg}$ naniesionego lakieru. W badaniu zmierzono skumulowany poziom fluoru, przyrosty uwalniania fluoru w określonych przedziałach czasowych oraz w odniesieniu do jednostki czasu – 1 godziny.

W **badaniu in vivo** udział wzięło 10 ochotników, w wieku od 18 do 40 roku życia z minimalnie 24 zębami własnymi. Za kryteria wykluczające uznano: zdiagnozowane zapalenie dziąseł lub/i przyzębia, aktywne niezabezpieczone ubytki próchnicowe oraz obecne uzupełnienia protetyczne i aparaty ortodontyczne. Także osoby ze zdiagnozowaną astmą oskrzelową lub innymi chorobami dróg oddechowych, silną alergią oraz kobiety w ciąży nie były kwalifikowane do badania. Ochotnicy nie mogli być poddani jakiegokolwiek profesjonalnej profilaktyce fluorkowej w okresie ostatnich 6 miesięcy. Stan jamy ustnej określano na podstawie badania klinicznego. Badany lakier został nałożony za pomocą jednorazowych aplikatorów na powierzchnie żujące, policzkowe i podniebienne wszystkich zębów, które zgodnie z zaleceniami producenta zostały tylko wstępnie oczyszczone szczoteczką z miękkich osadów, a następnie osuszone, przy czym nie było wymagane zachowanie w pełni suchego pola zabiegowego. Każdy pojedynczy pojemnik z lakierem i aplikator zostały zważony przed i po przeprowadzonym zabiegu w celu dokładnego określenia ilości zużytego materiału. Pomiaru dokonano za pomocą wagi laboratoryjnej Radwag, za każdym razem kalibrowanej z dokładnością do trzech miejsc po przecinku. Po zakończeniu procedury zalecono powstrzymanie się od picia i jedzenia przez minimum 2

godziny po zabiegu. Pomiary poziomu fluoru wykonano czterokrotnie, tzn.: przed aplikacją lakieru (badanie 0), po godzinie (badanie 1), po 2 godzinach (badanie 2) oraz po 168 godzinach (badanie 3) po aplikacji, zbierając za każdym razem do próbki 5 ml śliny mieszanej niestymulowanej. Podobnie jak w badaniu *in vitro* do oznaczania jonów fluorkowych w odwirowanej ślinie mieszanej zastosowano jonoselektywną elektrodę ORION model 9609 połączoną z mikrokomputerem pH/jonometrem CPI – 551 Elmetron. Najniższą wartością określającą poziom jonów fluorkowych w roztworze wykrywaną przez elektrodę było 0,002 ppmF. System podlegał kalibracji przed każdym kolejnym oznaczeniem. Oznaczanie poziomu fluorków powtarzano trzykrotnie i obliczano wartość średnią. Stężenie jonów fluoru określano w $\mu\text{mol/L}$, które później przeliczano na ppm oraz w odniesieniu do ilości na $\mu\text{g/mg}$ naniesionego lakieru.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono przy użyciu programu STATISTICA, wersja 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, Kalifornia, USA). Weryfikację normalności zmiennych ilościowych przeprowadzono testem Shapiro-Wilka, a jednorodności wariancji testem Levene'a. Wyniki przedstawiono jako średnie i odchylenia standardowe. Średnie grupowe porównano za pomocą jednoczynnikowej analizy ANOVA z testem post-hoc Tukeya. Do określenia interakcji pomiędzy pH i czasem od aplikacji zastosowano analizę wariancji w układzie dwuczynnikowym. We wszystkich testach statystycznych przyjęto poziom istotności $p < 0,05$.

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (KB 45/2016).

Szczegółowy opis materiału i metod zawarto w załączonych publikacjach.

4. WYNIKI

1. W badaniu *in vitro* w ciągu 168 godzin eksperymentu, niezależnie od pH środowiska, najwięcej fluoru uwolnił lakier MiVarnishTM, a najmniej lakier EmbraceVarnishTM, przy czym w każdej grupie najwyższe wartości osiągnięto w środowisku kwaśnym o pH=4,0. Dla lakieru MiVarnish skumulowane uwalnianie fluoru wyniosło 11,52 ppmF, dla Duraphatu 9,864 ppmF, a dla Embrace VarnishaTM 7,513 ppmF. W środowisku o pH=5,0 wartości były na poziomie 9,33 ppmF dla MiVarnishaTM, a dla Duraphatu i Embrace VarnishaTM odpowiednio 9,30 ppmF oraz 6,826 ppmF. Najniższe skumulowane uwalnianie fluoru

zmierzono dla pH=7 równe 6,470 ppmF dla MiVarnishaTM, 5,724 ppmF dla Duraphatu i 4,821 ppmF dla Embrace VarnishaTM.

2. W warunkach *in vitro*, dla wszystkich trzech badanych lakierów, najwyższe przyrosty uwalnianego fluoru odnotowano w ciągu pierwszych dwóch godzin obserwacji, przy czym zarówno MiVarnishTM, jak i EmbraceVarnishTM uwolniły w tym czasie odpowiednio ponad 50% i 60% całkowitego fluoru skumulowanego podczas 168 godzin badania, natomiast po 24 godzinach średnio 90% i 85%.

3. W badaniu *in vitro* analiza wariancji i testów post-hoc skumulowanego uwalnianie fluoru z trzech badanych lakierów różniła się istotnie w każdej godzinie obserwacji i przy każdej kwasowości środowiska ($p < 0,001$). Dla pH=7,0 w 168 godzinie istotna różnica występowała tylko między Embrace varnishemTM i MiVarnishemTM (4,82 vs.6,47; $p=0,012$).

4. W badaniu *in vitro*, wykorzystując matematyczne modele uwalniania fluoru, dla wszystkich badanych lakierów we wszystkich trzech środowiskach (pH=4,0, pH=5,0 i pH=7,0), w pierwszych godzinach po aplikacji tempo uwalniania fluoru było największe, a następnie szybko spadało. Dla MiVarnishaTM i EmbraceVarnishaTM ten spadek był zauważalny po 24 godzinach, natomiast dla Duraphatu dopiero po 48 godzinach.

5. W badaniu *in vitro* uzyskane dane potwierdzają wysoce istotny wpływ obu zmiennych niezależnych (czasu od aplikacji i pH środowiska) na ilość uwalnianego fluoru. Skumulowane uwalnianie fluoru zmniejszało się liniowo ze wzrostem pH medium i wzrastało z czasem, do 24 godzin bardzo szybko, a następnie zdecydowanie wolniej. Również interakcja pH x czasu okazała się istotna statystycznie ($p < 0,001$). Wpływ jednego czynnika (pH) na uwalnianie fluoru zależał od drugiego (czasu). Dla pH=7,0 uwalnianie fluoru przebiegało wolniej w porównaniu z pH=4,0 i pH=5,0.

6. W badaniu *in vivo* po aplikacji lakieru MiVarnishTM, przyjmując jako poziom wyjściowy fluoru w ślinie $0,158 \pm 0,05$ ppmF, już po pierwszej godzinie poziom fluoru wzrósł 12-krotnie do $1,909 \pm 0,427$ ppmF, po 2 godzinach nieznacznie spadł do $1,468 \pm 0,276$ ppmF czyli był 9-krotnie wyższy. Po 168 h osiągnął wartość zbliżoną do stanu początkowego równą $0,195 \pm 0,08$ ppmF.

7. Wynik jednoczynnikowej analizy wariancji weryfikujący hipotezę, że czas od aplikacji nie wpływa na stężenie fluoru, okazał się bardzo istotny ($p < 0,001$). Testy post-hoc (Tukey'a) wykazały, że istotne statystycznie różnice w średnim stężeniu fluoru występowały między wszystkimi punktami czasowymi pomiarów z wyjątkiem badania 0 (przed aplikacją) i po 168 godzinach po aplikacji ($p = 0,989$). Największa różnica względem stanu początkowego była obserwowana po godzinie ($0,158$ ppmF vs. $1,909$ ppmF; wzrost o $1,751$

ppmF; $p < 0,001$), między pierwszą i drugą godziną była mniejsza (1,909 ppmF vs. 1,469 ppmF; spadek o 0,240 ppmF; $p = 0,003$), natomiast różnica po 168 godzinach względem stanu wyjściowego okazała się nieistotna (0,158 ppmF vs. 0,195 ppmF, wzrost o 0,037 ppmF; $p = 0,989$).

8. Analiza wariancji w układzie dwuczynnikowym, przyjmując jako kryterium ilość lakieru MiVarnishTM, wykazała, że jedynym czynnikiem wpływającym istotnie na stężenie F (ppm) okazał się czas od aplikacji. Wyjściowa ilość lakieru oraz interakcja lakier x czas okazały się nieistotne.

9. Pomiary absorpcji wszystkich trzech lakierów wykazały, że każdy z nich charakteryzuje się ponad 98% przepuszczalnością światła w obszarach widzialnych i NIR. Różnice widoczne są w zakresie UV, gdzie MiVarnishTM jest prawie przezroczysty (powyżej 85% przepuszczalności światła), natomiast transmisja MiVarnishaTM i Embrace VarnishTM spada do około 60% przy 275 nm.

Szczegółowy opis wyników wykazano w załączonych publikacjach.

5. PODSUMOWANIE I WNIOSKI:

1. W badaniach *in vitro* wszystkie lakiery uwalniały fluor do końca badania czyli przez 168 godzin, przy czym najwięcej fluoru, niezależnie od pH śliny, uwolnił lakier fluorkowy MiVarnishTM z zawartością 5% NaF, wzbogacony w jony wapniowe i fosforanowe w postaci kompleksu CPP-ACP. Spowodowało to odrzucenie hipotezy zerowej mówiącej, że dodatkowe związki zawarte w lakierach fluorkowych drugiej generacji nie zwiększają szybkości uwalniania jonów fluoru.

2. Wszystkie badane lakiery uwalniały najwięcej fluoru w ciągu pierwszych dwóch godzin po aplikacji, którego ilość zmniejszała się z każdym kolejnym pomiarem, zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*.

3. Dla lakierów drugiej generacji uwalnianie jonów fluorkowych odbywało się dwufazowo: faza początkowa związana była z gwałtownym wyrzutem dużej ilości jonów fluorkowych, stąd tempo uwalniania fluoru było tutaj największe. Drugą fazę w piśmiennictwie określa się jako tzw. „plateau” i charakteryzuje się zdecydowanie wolniejszym, utrzymującym się na stałym poziomie przyrostem fluoru i spadkiem tempa jego uwalniania. Dla MiVarnishaTM i EmbraceVarnishaTM spadek ten był zauważalny po 24 godzinach, natomiast dla Duraphatu dopiero po 48 godzinach. Finalnie oba lakiery drugiej generacji uwolniły w tym czasie średnio 90% całkowitej ilości F_{skum} , co wydaje się być cechą

bardzo pożądaną zgodnie z założeniem, że odpowiednio wysokie początkowe stężenie fluoru powoduje wytworzenie większej ilości fluorku wapnia, i w efekcie zwiększa skuteczność terapeutyczną. Podobną dynamikę reprezentował MiVarnishTM w warunkach *in vivo*.

4. W badaniu *in vitro* uwalnianie fluoru z lakieru było zależne od kwasowości ośrodka immersyjnego i od czasu od aplikacji.

5. W warunkach *in vivo* pojedyncza aplikacja lakieru utrzymywała poziom fluoru w ślinie powyżej wartości początkowej aż do 168 h, co jest zgodne z dotychczasową wiedzą, mówiącą o działaniu lakierów fluorkowych do 7 dni po ich aplikacji, a wynik analizy jednoczynnikowej zweryfikował hipotezę zerową mówiącą, że czas od aplikacji nie wpływa na stężenie F.

6. Pomimo wielu publikacji wciąż nie do końca można zidentyfikować wszystkie istotne zmienne, które mogą wpływać na działanie lakierów fluorkowych. Ponadto w świetle pojawiających się informacji dotyczących miejscowego negatywnego wpływu lakierów fluorkowych na ludzki organizm i rosnącej liczby nowych dostępnych na rynku, nie zawsze dobrze przebadanych preparatów, konieczne jest kontynuowanie badań w celu poszerzenia wiedzy i pogłębienia świadomości na temat zarówno ich skuteczności, jak i bezpieczeństwa.

6. PIŚMIENNICTWO

1. Olczak-Kowalczyk D., Mielczarek A., Jackowska T., Mielnik – Błaszczak M., Turska-Szybka A., Opydo-Szymaczek J., Jurczak A., Kaczmarek U. Środki fluorkowe w zapobieganiu i leczeniu próchnicy i erozji zębów u dzieci, młodzieży i dorosłych – rekomendacje Polskich Ekspertów. Aktualizacja zaleceń: Indywidualna profilaktyka fluorkowa u dzieci, młodzieży – rekomendacje Polskich Ekspertów. Fluoride agents in the prevention and treatment of dental caries and erosion in children, adolescents and adults – recommendations of Polish Experts. Update of recommendations: Individual fluoride prevention in children and adolescents – recommendations of Polish Experts. Nowa Stomatol 2022, 27, 2, 35-59.

2. Kaczmarek U. Mechanizmy kariostatycznego działania fluoru. Czas Stomatol 2005,6,404-413.

3. Olczak-Kowalczyk D., Borysewicz-Lewicka M., Adamowicz-Klepalska B., Jackowska T., Kaczmarek U. Consensus statement of Polish experts on individual caries prevention with fluoride in children and adolescents. Nowa Stomatologia 2016, 1, 47-72.

4. Olczak-Kowalczyk D., Szczepańska J., Kaczmarek U. Modern Dentistry of developmental age. Med Press International, 1st edition 2017 (in Polish).
5. Fejerskov O. Changing paradigms in concept on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res.* 2004, 38, 3, 182-191.
6. Longbottom C., Ekstrand K., Zeroc D., Kambarad M. Novel Preventive Treatment Options. *Monogr Oral Sci* 2009, 21, 156–163.
7. American Academy of Pediatric Dentistry Fluoride Therapy. The Reference Manual of Pediatric Dentistry; American Academy of Pediatric Dentistry: Chicago, 2021.
8. Adamowicz-Klepalska B., Jackowska T., Kaczmarek U. Consensus statement of Polish experts on individual caries prevention with fluoride in children and adolescents. *Nowa Stomatologia* 2016, 1, 47-72.
9. Carey C.M. Focus on fluorides: Update on the use of fluoride for the prevention of dental caries. *J Evid Based Dent Prac.* 2014,(Suppl. 14), 95–102.
10. Kanduti D., Sterbenk P., Artnik B. Fluoride: a review of use and effects on health. *MaterSociomed.* 2016, 28, 2,133-137.
11. Ozsvath D.L. Fluoride and environmental health: a review. *Rev Environ SciBiotechnol* 2009, 8, 59–79.
12. Clifton M., Carey B.A. Focus on Fluorides: update on the use of fluoride for the prevention of dental caries. *J Evid Base Dent Pract* 2014, 14, 1, 95-102.
13. Weyant R.J., Tracy S.L., Anselmo T.T. et al. Topical fluoride for caries prevention: Executive summary of the updated clinical recommendations and supporting systematic review. *Am Dent Assoc.* 2013, 144, 1279–1291.
14. Beltran-Aquillar E.D., Goldstein J.W. Fluoride varnishes: A review of their clinical use, cariostatic mechanism, efficacy and safety. *JADA*, 131, 589-594.
15. Jablonowski B.L., Bartoloni J.A., Hensley D.M., Vandewalle K.S. Fluoride release from newly marketed fluoride varnishes. *Quintessence Int.* 2012, 43, 3, 221-228.
16. Vogel G.L. Oral fluoride reservoirs and the prevention of dental caries. *Fluoride and the Oral Environment.* *Monogr. Oral Sci* 2011, 22, 146-157.
17. Marinho V.C.C, Worthington H.V., Walsh T., Clarkson J.E. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 7, 2012, CD002279.
18. Marinho, V.C., Worthington, H.V., Walsh, T., Clarkson, J.E. Fluoride Varnishes for Preventing Dental Caries in Children and Adolescents. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2013, doi:10.1002/14651858.CD002279.

19. Chu C.H, Lo E.C.M. A review of sodium fluoride varnish. *General Dentistry* 2006, 54, 4, 247–253.
20. ten Cate J.M., Larsen M.J., Pearc E.I.F, Fejerskov O. Chemical interactions between the tooth and oral fluids. *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*. Munksgaard, Blackwell, 2003, 49–69.
21. Carvalho T.S, Peters B. G., Rios D., Magalhaes A.C., Sampaio F.C., Buzalaf M.A.R., Bönecker M.J.S. Fluoride varnishes with calcium glycerophosphate: fluoride release and effect on in vitro enamel demineralization. *Brazilian Oral Research* 2015, 29, 1, 1–6.
22. Ogaard B. The Cariostatic Mechanism of Fluoride. *Compendium* 1999, 20, 1, 1-17.
23. Ogaard B. CaF₂ formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. *Caries Res* 2001, 35, 40-44.
24. Rosin-Grget K., Lincir. I. Current concept on the anticaries fluoride mechanism of the action. *Coll. Antropol.* 2001, 25, 703–712.
25. Baik A., Alamoudi N., El-Housseiny A., Altuwirgi A. Fluoride Varnishes for Preventing Occlusal Dental Caries: A Review *Dent. J.* 2021, 9, 64-69.
26. Mielczarek A., Michalik J., Kujawa M. Wpływ wybranych preparatów fluorowych na mikrostrukturę szkliwa z wczesnymi zmianami próchnicowymi. *Nowa Stomatologia* 2013, 3, 120–124.
27. Mohd Said S.N., Ekambaram M., Yiu C.K. Effect of different fluoride varnishes on remineralization of artificial enamel carious lesions. *Int J Paediatr Dent.* 2017, 27, 163–173.
28. Whitford G.M., Wasdin J.L., Schafer T.E., Adair S.M. Plaque fluoride concentrations are dependent on plaque calcium concentration. *Caries Res* 2002, 36, 256-265.
29. Milburn J.L., Henrichs L.E., Banfield R.L., Stansell M.J., Vandewalle K.S. Substantive fluoride release from a New fluoride varnish containing CXPTM. *Dentistry* 2015, 5, 12, 2-6.
30. Comar L.P, De Souza B.M, Grizzo L.T., Buzalaf M.A.R., Magalhaes C. Evaluation of fluoride release from experimental TiF₄ and NaF varnish in vitro. *J Appl Oral Sci* 2014, 22, 2, 138-143.
31. Attin T., Lennon A.M, Yakin M., Becker K., Buchalla W., Attin R., Wiegand A. Deposition of fluoride on enamel surfaces released from varnishes is limited to vicinity of fluoridation site. *Clin Oral Invest* 2007, 11, 83-88.

32. Elwood R., Fejerskov O., Cury J.A., Clarkson B. Fluoride in caries control. In: Fejerskov O., Kidd E. (eds). *Dental caries: The disease and its clinical management*. Oxford: Blackwell Publishing, 2008, 287-328.
33. Castillo J.L., Milgrom P. Fluoride release from varnishes in two in vitro protocols. *JADA*, 135, 2004, 1696–1699.
34. Schemehorn B.R., Wood G.D., McHale W., Winston A.E. Comparison of fluoride uptake into tooth enamel from two fluoride varnishes containing different calcium phosphate sources. *Journal of Clinical Dentistry* 2011, 22, 20, 51–54.
35. Piesiak-Pańczyszyn D., Kaczmarek U. Uwalnianie fluorków z lakierów fluorkowych w warunkach in vitro i in vivo. *Dent. Med. Probl.* 2017,54,4,327-331.
36. Piesiak-Pańczyszyn D., Kaczmarek U.: Poziom fluoru w ślinie po aplikacji trzech różnych lakierów zawierających 5% fluorek sodu. *Stomatologia Współczesna* 2017, 24, 3, 22-27.
37. Heuser H., Schmidt H.F.M. Zahnkariesprophylaxe durch Tiefenimprägnierung des Zahnschmelzes mit Fluor-Lack. *Stoma*. 1968, 21, 91–100.
38. Todd J.C., Fischer K. Fluor Protector; Scientific Documentation [Internet]. Liechtenstein: Ivoclar Vivadent; c2010. Available from: <http://www.ivoclarvivadent.com/en/dentalprofessional/download-center/scientific-documentations/Saggio Paul>, personal communication, July 9, 2012, VOCO. Innovations for Dental Health. Cuxhaven: Voco GmbH; 2010. p. 2., Thesis downey.
39. World Health Organization: WHO Expert Consultation on Public Health Intervention against Early Childhood Caries: report of a meeting, Bangkok, Thailand, 26-28 January 2016. Geneva. WHO/NMH/PND/17.1,2017.
40. Phantumvanit P., Makino Y., Ogawa H. et al.: WHO Global Consultation on Public Health Intervention against Early Childhood Caries. *Comm Dent Oral Epid* 2018, 46, 3, 280-287.
41. European Academy of Paediatric Dentistry: Guidelines on the use of fluoride in children: an EAPD policy document. *Eur Arch Paediatr Dent* 2009, 10, 3, 129-135.
42. Petersen P.E., Ogawa H. Prevention of dental caries through the use of fluoride – the WHO approach. *Community Dent Health* 2016, 33, 2, 66-68.
43. American Dental Association Council on Scientific Affairs Professionally Applied Topical Fluoride: Evidence-Based Clinical Recommendations. *J Am Dent Assoc* 2006, 137, 1151–1159.

44. Guideline of fluoride therapy. Reference manual, American Academy of Pediatric Dentistry 2015/2016, 37, 6, 176-179.
45. Bonetti D., Clarkson J.E. Fluoride Varnish for Caries Prevention: Efficacy and Implementation. *Caries Res* 2016, 50, 1, 45–49.
46. Kennard G.R. Wagner J.A., Kawamoto A.T. Fluoride Varnish Compositions Including an Organo Phosphoric Acid Adhesion Promoting Agent 2009.
47. Kozaczuk S. Fluoryzacja dogłębna w profilaktyce i leczeniu próchnicy: stosowanie preparatu Tiefenfluorid junior u dzieci. Opisy przypadków. *Nowa Stomatologia* 2020, 1, 15-25.
48. Reynolds E.C. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. *Adv Dent Res* 2009, 21, 25–29.
49. Girish Babu K.L., Subramaniam P., Teleti S. Reminealization potential of varnish containing casein phosphopeptides-amorphous calcium phosphate with fluoride and varnish containing only fluoride: a comparative study. *Saudi J Oral Sci*, 2018, 5, 35-40.
50. Jafari K., Hekmatfar S., Fereydunzadeh M. In vitro comparison of antimicrobial activity of conventional fluoride varnishes containing xylitol and casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry* 2018, 8, 4, 309-313.
51. Sleibi, A., Tappuni A.R., Karpukhina N.G., Hill R.G., Baysan A. A Comparative Evaluation of Ion Release Characteristics of Three Different Dental Varnishes Containing Fluoride Either with CPP-ACP or Bioactive Glass. *Dental Materials* 2019, 35, 1695–1705.
52. Whitford G.M. The metabolism and toxicity of fluoride. *Monogr Oral Sci* 1989, 13, 1-160.
53. Pendry D.G., Haugejorden O., Bårdsen A. The risk of enamel fluorosis and caries among Norwegian children: implications for Norway and the United States. *J Am Dent Assoc* 2010, 141, 4, 401-414.
54. Milgrom P., Taves D.M., Kim A.S., Watson G.E., Horst J.A. Pharmacokinetics of fluoride in toddlers after application of 5% sodium fluoride dental varnish. *Pediatrics* 2014, 134, 3, 870-874.
55. Browne D., Whelton H., O’Mullane D. Fluoride metabolism and fluorosis. *J Dent* 2005, 33, 3, 177-186.
56. Mascarenhas A.K. Is fluoride varnish safe? Validating the safety of fluoride varnish. *J Am Dent Assoc* 2021, 152, 5, 364-368.

57. Turska-Szybka A., Olczak-Kowalczyk D. Zastosowanie środków profilaktycznych z wysokim stężeniem fluoru u dzieci i młodzieży. *Możliwości i ograniczenia. Nowa Stomatologia* 2012, 3, 102-107.
58. Riley P., Moore D., Ahmed F., Mohammad S.H., Worthington H.V. Xylitol-containing products for preventing dental caries in children and adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2015,3, CD010743.
59. Clarkson, J.E. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2013.
60. Azarpazhooh A., Main P.A. Fluoride varnish in the prevention of dental caries in children and adolescents: a systematic review. *Journal of the Canadian Dental Association* 2008, 74, 1, 73-79.
61. Ritwik P, Aubel J.D., Xu X., Fan Y., Hagan J. Evaluation of short term fluoride release from fluoride varnishes. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 2012, 36, 3, 275-278.
62. Autio-Gold J.T., Courts F. Assessing the effect of fluoride varnish on early enamel carious lesions in the primary dentition. *J Am Dent Assoc.* 2001, 132, 9, 1247-1253.
63. Weintraub J.A., Ramos-Gomez F., Jue B., Shain S., Hoover C.I., Featherstone J.D., Gansky S.A. Fluoride varnish efficacy in preventing early childhood caries. *J Dent Res.* 2006, 85, 2, 172-176.

III. PUBLIKACJE STANOWIĄCE PODSTAWĘ PRACY DOKTORSKIEJ

1. Piesiak-Pańczyszyn D., Zakrzewski W., Piszko A., Piszko J.P., Dobrzyński M.: Review on fluoride varnishes currently recommended in dental prophylaxis. *Polim Med.* 2023; 53(2). <https://doi.org/10.17219/acem/174078> (punktacja MEiN=140).
2. Piesiak-Pańczyszyn D., Staszkiwicz M., Dobrzyński M.: Uwalnianie jonów fluorkowych z lakieru fluorkowego drugiej generacji zawierającego CPP – ACP w warunkach *in vitro* i *in vivo* z zastosowaniem jonoselektywnej elektrody. *Inż. Fiz. Med.* 2023, 12, 5, 445-454 (punktacja MEiN=20).
3. Piesiak-Pańczyszyn D., Watras A., Wiglusz R.J., Dobrzyński M.: In Vitro Comparison of the Fluoride Ion Release from the First- and Second-Generation Fluoride Varnishes. *Appl. Sci.* 2023, 13, 7327. <https://doi.org/10.3390/app13127327> (punktacja IF=2,7; MEiN=100).

Review on fluoride varnishes currently recommended in dental prophylaxis

Dagmara Piesiak-Pańczyszyn^{1,A–D}, Wojciech Zakrzewski^{2,A–D},
Aleksandra Piszko^{3,B–D}, Paweł J. Piszko^{4,B–D}, Maciej Dobrzyński^{3,E,F}

¹ Department of Conservative Dentistry with Endodontics, Wrocław Medical University, Poland

² Pre-clinical Research Centre, Wrocław Medical University, Poland

³ Department of Pediatric Dentistry and Preclinical Dentistry, Wrocław Medical University, Poland

⁴ Faculty of Chemistry, Department of Polymer Engineering and Technology, Wrocław University of Science and Technology, Poland

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation;
D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

Polymers in Medicine, ISSN 0370-0747 (print), ISSN 2451-2699 (online)

Polim Med. 2023

Address for correspondence

Dagmara Piesiak-Pańczyszyn
E-mail: dpanczyszyn@interia.pl

Funding sources

The study was financed by the subsidy from
Wrocław Medical University (grant No. SUBZ.B180.23.054).

Conflict of interest

None declared

Acknowledgements

Figures 1 and 2 were created using BioRender.com.

Received on September 25, 2023

Reviewed on October 11, 2023

Accepted on October 11, 2023

Published online on November 28, 2023

Abstract

In dentistry, fluoride compounds play a very important role in the development of teeth hard tissue. They have been modifying the development of the carious process for many years in accordance with the principles of minimally invasive therapy. Studies have confirmed their effectiveness in the prevention and treatment of carious lesions and erosion of deciduous and permanent teeth, as well as in the dentin hypersensitivity treatment. Typically, each varnish consists of 3 basic components, i.e., a resin usually in the form of mastic, shellac and/or rosin, an alcohol-based organic solvent (usually ethanol) and active agents. In the first-generation varnishes, the active agent is fluorine compounds, most often in the form of 5% NaF, while in second-generation varnishes, the composition is further enriched with calcium and phosphorus compounds in the form of CPP-ACP/CPP-ACPF, ACP, TCP, FTCP, CSPS, TMP, CXP, or CaGP. This influences the bioavailability of fluoride in the oral environment by increasing both its release from the product and its subsequent accumulation in enamel and plaque, promotes more efficient closure of dentinal tubules, and facilitates pH buffering in the oral cavity.

Key words: dental caries, fluoride release, fluoride varnishes

Cite as

Piesiak-Pańczyszyn D, Zakrzewski W, Piszko A, Piszko P,
Dobrzyński M. Review on fluoride varnishes currently
recommended in dental prophylaxis [published online
as ahead of print on November 28, 2023]. *Polim Med.* 2023.
doi:10.17219/pim/174016

DOI

10.17219/pim/174016

Copyright

Copyright by Author(s)

This is an article distributed under the terms of the
Creative Commons Attribution 3.0 Unported (CC BY 3.0)
(<https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>)

Introduction

Fluoride is a cyclic element widespread in nature, which, due to its high electronegativity and activity, does not occur in elemental form but only in the form of compounds, reacting with almost all other elements, noble gases, and organic and inorganic compounds.¹ It belongs to micro-nutrients, and can be found in supportive tissue within an organism, in the hard tissues of teeth, in the skin, and in hair. In addition, as an element with high biological activity, it often acts as an inhibitor or, less frequently, an activator of many enzymes, affecting the course of protein biosynthesis processes, carbohydrate metabolism or lipid metabolism.²

Fluoride-containing compounds are widely used in minimal invasive therapies in contemporary dentistry. Their effectiveness in preventing caries and erosion of primary teeth and treating hypersensitivity in permanent teeth has been confirmed in many reports.^{3–7} The role of varnishes is depicted in Fig. 1. Furthermore, it is suggested that continuous, repeatable fluoride delivery over time is most advantageous for dental treatment.^{8–12} It turns out that the amount of fluoride in the fluids flowing around the teeth in the experimental model above 0.03 ppm already initiates a cariostatic effect.

Fluoride varnishes are materials that contain the highest content of this element and are intended for professional use in dental practices. They facilitate prolongation of contact between tooth tissues and fluoride. Their use in dentistry was first reported in 1964 by German researcher Hans Joachim Schmidt. He used 2% sodium fluoride in an alcoholic solution of natural resin as an alternative to preparations that were aqueous. Clinical studies confirming its effectiveness were published 4 years later,¹³ resulting in the introduction of the first commercial fluoride varnish to the markets under the name of Duraphat (Woelm Pharma Co., Eshwege, Germany) containing 5% NaF. Promising results contributed to the introduction to the market of newer formulations in subsequent years, i.e., in 1975 Fluor Protector (Vivadent, Schaan, Liechtenstein) with 0.9% difluorosilane, in 1984 Duraflor (AMD Medicom Inc., Montreal, Canada) with 5% NaF, or in 1986 Bifluorid 12 (Voco Chemie GmbH, Cuxhaven,

Germany) with 6% NaF.¹⁴ Approved by the FDA in 1994, they initially functioned as hypersensitivity drugs, and over the years have become a permanent part of dental practice. Numerous meta-analyses showed their therapeutic effectiveness in reducing caries at 46% for permanent dentition and 33% for deciduous dentition, provided they were applied 2–4 times a year.^{15–19} Similar results were obtained in a study in which the use of fluoride varnish as early childhood caries prophylaxis reduced caries by 25–45%.^{20,21}

Structure of fluoride varnishes

Fluoride varnishes are available on the market in a wide variety, differing in chemical composition, particle shape and size, consistency and viscosity, which, according to some researchers, affects different fluoride release patterns.^{22–28} Typically, each varnish consists of 3 basic components, i.e., a resin (often in the form of mastic), shellac and/or rosin in an organic solvent (usually ethanol), and of active agents involved in the remineralization process.^{29,30} Shellac and mastic are responsible for the formation of an elastic and hard layer on teeth, which prevents rapid dissolution in saliva. On the other hand, rosin obtained from the oleoresin of dead pine wood or talc oil improves the liquidity of the preparation, which translates into better adhesion to enamel, longer contact time with the tooth surface, the ability to flow onto hard-to-reach surfaces and prolonged release of fluoride ions. In turn, the polyvinyl acetate polymer used in varnishes with complex of casein phosphopeptide and amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) shows very good solubility in aqueous solutions, which can directly affect the dynamics of fluoride ion release.³¹ Alcohol, undergoing rapid evaporation after exposure to air, leaves free volume, which causes easier contact of the varnish with water and accelerates the release of fluoride.³² The active agents of the first generation of varnishes are usually in the form of neutral or acidified 5% NaF containing 2.26% fluoride ions (22,600 ppm of fluoride), 1% difluorosilane containing 0.1% fluoride ions (1,000 ppm of fluoride) or 6% NaF combined with 6% CaF₂ (56,300 ppm of fluoride). TiF₄-containing varnishes can also be found, while they are still seen as experimental formulations requiring continued *in vitro* and *in vivo* studies.^{33–35} In the literature, the formation of calcium fluoride after application of 2% neutral NaF has been compared with acidified fluoride preparations, which evidently showed an advantage for the latter in terms of the amount of CaF₂ deposited on the enamel surface.^{36,37} This is explained by increased affinity of the released fluoride to the enamel in an acidic environment compared to neutral pH. According to many researchers,^{23,38–41} in the oral environment, the amount of available calcium and phosphate ions is insufficient to bind the large amounts of fluoride obtained after fluoride varnish application. For this

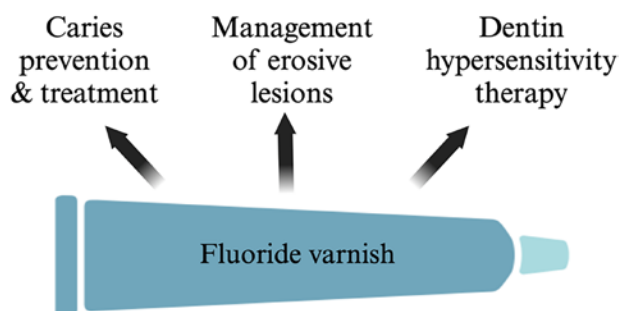


Fig. 1. The role of fluoride varnish applied at the tooth's surface

reason, so-called second-generation varnishes enriched in Ca^{2+} and PO_4^{3-} ions in the form of, e.g., complex of casein phosphopeptide and amorphous calcium phosphate (CPP-ACP, CPP-ACPF), amorphous calcium phosphate (ACP), tricalcium phosphate (TCP – tricalcium phosphate – $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), active form of tricalcium phosphate (fTCP), sodium-calcium phosphosilicate (CSPS or so-called bioactive glass), sodium trimetaphosphate (TMP), xylitol-coated calcium phosphate (CXP), or calcium glycerophosphate (CaGP).^{28,35,42–45} Their presence is believed to have a significant effect on the bioavailability of fluoride in the oral environment by increasing its release from the product, facilitating its accumulation in enamel and plaque, closing dentinal tubules more effectively, and buffering oral pH. However, there is still no conclusive evidence as to which of the aforementioned compounds works best.^{25,26,28,37,39,42,43,45–50} According to Karlinsey et al.,⁵¹ the addition of TCP increases the effectiveness of fluoride without compromising its bioavailability. This is explained by the fact that during the manufacturing process, a protective fumar barrier is formed around the Ca^{2+} ions, preventing the ions from being deactivated during storage. Contact limited to saliva causes the barrier to dissolve, resulting in the release of both calcium and fluoride ions, the latter in significantly higher amounts compared to non-enriched varnishes.^{48,52,53} Research conducted by Alamoudi et al.⁵⁴ showed an increase in the microhardness of the enamel surface treated with varnish from TCP, and Elkassas et al.⁵² reported greater remineralization efficiency following reducing its roughness. Another available compound is the CPP-ACP/CPP-ACPF complex, which includes a milk-derived protein that is a source of readily available calcium ions and phosphate ions. Casein phosphopeptides (CPP), with the help of phosphoserine sequences, stabilize amorphous calcium phosphate (ACP) and, after contact with saliva, help it attach to the surface of enamel or plaque.^{28,45,55} This was confirmed by in vitro research^{38,56} showing CPP-ACP nanocomplexes attached to supragingival plaque, as well as to the surface of *Streptococcus mutans* bacterial cells by means of electron microscopy. By buffering the pH of the biofilm, free Ca^{2+} and PO_4^{2-} ions dissociate, thus not only acting as a reservoir of bioavailable ions, but also maintaining the supersaturated state of saliva relative to the surface of the enamel.⁵⁷ Some researchers believe that the enrichment of the varnish with the CPP-ACP complex is the best technology that allows a stable combination of high concentrations of calcium, phosphate and fluoride ions with the tooth surface and plaque.^{23,38,39,43,50,58–61} In addition, Bakry et al.⁶² observed that the application of MI Varnish (GC, Tokyo, Japan) with CPP-ACP complex is followed by a significant reduction in demineralization and an increase in enamel microhardness. This was confirmed by the study by Świetlicka et al., in which it was shown that 24 h after application, fluoride varnish with CPP-ACP induced partial regeneration of the previously damaged enamel

surface, activating the formation of a new honeycomb-like layer.⁶³ On the other hand, according to Yapp et al.,⁶⁴ a better solution is the introduction of CXP (xylitol-coated calcium and phosphate) ions into the varnish, i.e., calcium and phosphate ions coated with xylitol and suspended in a permeable resin, which enables their uniform and prolonged release and enhances the antimicrobial effect. According to the manufacturers,⁶⁵ such an enriched varnish can provide 4 times more fluoride compared to others, with the maximum release occurring in the first 4 h after application.

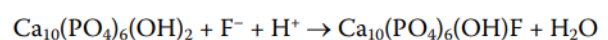
In addition to these 3 main ingredients, manufacturers may also add colorants, sweeteners (e.g., saccharin sodium), stabilizing and adhesion-enhancing agents,³⁵ as well as xylitol with antimicrobial properties, chlorhexidine with antimicrobial and remineralizing properties, or arginine and chlorhexidine with antibacterial, remineralizing and pH stabilizing properties.⁴³

Reviewing the literature, we can find new experimental varnishes that are undergoing clinical evaluation all the time. Pichaiakrit et al. evaluated in 2019 in vitro the effect of chitosan, a linear copolymer of D-glucosamine and N-acetyl-D-glucosamine, on fluoride release.⁶⁶ Comparing fluoride varnishes differing only in the amount of chitosan, it was found that the increase in fluoride release was related to the increase in polymer concentration. The highest values were obtained after 1 h, which significantly decreased after 2 h after application, with slow but steady fluoride release continuing up to 6 h. Unfortunately, fluoride varnishes with chitosan were cytotoxic to human gingival fibroblasts. Table 1 lists examples of first- and second-generation fluoride varnishes with information on their composition.

Mechanism of action of varnishes and fluoride

Fluoride ions released by fluoride varnishes have a direct effect on the processes occurring on the surface of the enamel in the oral environment. More specifically, they inhibit demineralization, promote remineralization and interfere with the adhesion and metabolism of carious bacteria.^{12,14,15,29,44,73,74}

Two types of reactions of fluoride with enamel occur depending on the concentration of the preparation used.⁷⁵ At low concentrations of no more than 50 ppm, fluorohydroxyapatite is formed with simultaneous acidification of the environment, which follows the reaction described below (Reaction 1).

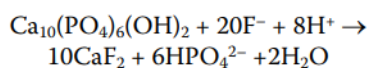


The fluorohydroxyapatite thus formed is very strongly bound to the outermost layers of the enamel. In the literature, it is often referred to as bonded fluoride, which can only be lost if the entire tissue is abraded or completely

Table 1. Examples of commercially available fluoride varnishes with respect to their manufacturers and composition

Fluoride varnish	Manufacturer	Active ingredient	Fillers	References
Colgate® Duraphat Varnish – single dose	Colgate Oral Care, Sydney, Australia	5% NaF	30–60% colophonium, 10–30% ethanol, flavor	[67,68]
MiVarnish™	GC, Tokyo, Japan	5% NaF	30–50% polyvinyl acetate, 10–30% hydrogenated rosin, 20–30% ethanol, 1–5% CPP-ACP, 1–5% silicon dioxide, flavor	[43,62]
EmbraceVarnish™	Pulpdent, Watertown, USA	5% NaF	CXP™ – xylitol-coated calcium and phosphate, 10–30% ethanol	[64]
Clinpro White Varnish	3 M ESPE, St. Paul, USA	5% NaF	30–75% pentaerythritol glycerol ester of colophony resin, 10–15% n-hexane, 1–15% ethyl alcohol, 1–5% sodium fluoride, 1–5% flavor enhancer, 1–5% thickener, 1–5% food grade flavor, <5% modified tricalcium phosphate	[23]
Mirafluorid	Hager & Werken, Duisburg, Germany	0.12%NaF cetylaminehydrofluoride bis(hydroxyethyl)-aminopropyl- N-hydroxyethyl-octadecyl- amindihydrofluoride	water-soluble polymer	[67]
Fluor Protector	Vivadent, Schaan, Liechtenstein	0.1% difluorosilan	polyurethane-based transparent resin, ethyl acetate and isoamyl opropionate solution	[69]
Fluor-Opal	Ultradent, South Jordan, USA	5% NaF	ethanol, methyl salicylate, hydrogenated resin	[49]
Bifluorid 12	Voco Chemie GmbH, Cuxhaven, Germany	2.71% as 6%NaF and 2.92% as 6% CaF ₂	ethyl acetate, silicates, flavors	[70]
Enamel Pro	Premier Dental Products, Plymouth Meeting, USA	5% NaF	amorphous calcium phosphate (ACP), ethanol	[71]
Novamin	NovaMin® Technology Inc. GlaxoSmithKline, Alachua, USA	5% NaF	calcium sodium phosphosilicate (CSPS), ethanol	[72]

dissolved. If the concentration of fluoride is greater than 100 ppm on the enamel surface, small granules of calcium fluoride form in the plaque and acquired membrane, perceived as loose, unbound fluoride,^{14,37,40,42,43,56,74,76–78} as illustrated by the reaction below (Reaction 2).



Fluorides react with hydroxyapatites of the enamel by replacing hydroxide ions. As a result of this reaction, some part of hydroxyapatites transform into fluorapatites, which have better crystalline properties, and are more acid-resistant. In the apatite, strong ionic bonds between fluoride and the amine group of the organic enamel matrix are formed, which contributes to greater stability of fluorapatite crystals. Fluoride may also react with apatite by stimulating the growth of fluorapatite crystals. Moreover, it may cause apatite dissolution and forming calcium fluoride. The formation and stimulation of fluorapatite growth may occur during frequent exposure to low fluoride concentration in the solutions (below 0.1%). The role of fluoride delivered through application of varnish at the tooth's surface is showed in Fig. 2.

The bacteriostatic and/or bactericidal effect is achieved by reducing plaque deposition by disrupting bacterial

adherence to the acquired membrane and altering bacterial metabolism by inhibiting enolase activity, reducing glucose transport into the cell and storage, interfering with the synthesis of extracellular and intracellular bacterial polysaccharides, decreasing the amount of lactic acid produced, decreasing the activity of cellular phosphatases responsible for the hydrolysis of phosphate esters, and disrupting the transport and accumulation of cations in cells.^{9,37,74}

Fluoride varnish application involves the use of high concentrations of fluoride salts suspended in a resin that allows them to persist for some time on the tooth surface. The basic technology involved in the construction of F varnishes is to use very high concentrations of fluoride salts, usually at 50,000 ppm NaF (22,600 ppm of fluoride) in a resin varnish that stays on the tooth surface for several hours. During the dwell time, saliva washes over the varnish and dissolves the fluoride salts, allowing fluoride ions to diffuse out of the varnish and be absorbed into the fluoride reservoirs in oral fluid tissues, plaque and teeth. Over time, fluoride ions are re-released from these reservoirs.⁴⁴ Released fluoride ions accumulate in higher concentrations (above 100 ppm) both on the enamel surface and in the enamel itself, as well as in plaque. The presence of fluoride attracts

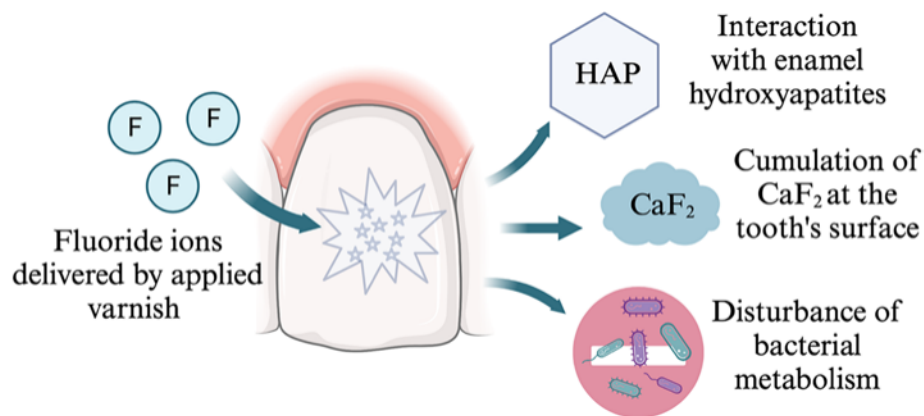


Fig. 2. The role of fluoride delivered by application of varnish at the tooth's surface

calcium and phosphate ions from saliva or from dissolved hydroxyapatite, forming small calcium fluoride crystals with embedded phosphates.^{14,37,39,40,42–44,74,76–78} Since pure CaF₂ crystal is cubic rather than spherical, the resulting spherical deposits are described as calcium fluoride-like compounds, which on the one hand block acid diffusion, and on the other hand form a fluoride reservoir that is stable and insoluble in neutral pH environments. Phosphate ions increase its solubility compared to pure CaF₂.^{24,79} With a decrease in pH, the membrane coating is dissolved and the release of fluoride ions and their incorporation into the enamel structure occurs. A decrease in fluoride concentration below 100 ppm and an increase in pH results in saturation of the enamel relative to the surrounding fluid and inhibition of the process described above.^{12,29,37,40,42,44,53,74,76,80} Following the application of the varnish, more fluoride is retained on the demineralized rather than the healthy surface, contributing to the activation of repair processes in the enamel.^{3,81}

The formation of CaF₂^{24,25,34,40,50,67,82,83} is influenced by fluoride ions at sufficiently high concentrations, as well as calcium and phosphate ions presence in the oral cavity.^{23,38,40,41,56} According to Attin et al.,⁸⁴ the supply of these ions in second-generation varnishes results in the deposition of larger amounts of calcium fluoride on the enamel surface, which in turn enhances the therapeutic effect.^{23,38,48,49,60,78,85–92}

Clinical use of fluoride varnishes: indications, scheme, contraindications, and method of application

Varnish is defined as a professionally, topically applied fluoride compound. Its topical application is meant to slow down the release of active substances, including oxidative agents or chlorhexidine.⁹³ Varnishes have properties that facilitate their adhesion to the tooth surface. In comparison to sealants, fluoride varnishes are claimed to be easier to apply. In contrast to the multi-step technique of sealant

application, varnishes can be successfully applied without etching or overdrying the surface of the tooth.⁹⁴

Application and spreading of fluoride varnishes on tooth surfaces is usually performed with small brushes or cotton pellets. In the process of application, the clinician applies around 0.30–0.75 mL of varnish per single tooth. Additionally, the clinician may soak the dental floss in a varnish and apply it between teeth to cover hard to reach interdental spaces. Prolonged adhesion to the enamel enables the varnish to constantly release the fluoride, lowering long-time sensitivity and vulnerability of the tooth toward bacterial activity and generally caries.²⁹ The whole process should take about 1–4 min, which is dependent on number of teeth that need to be covered. The indications after successful application of fluoride varnish are as follows: Patient should avoid eating for around 2 h and in order to allow varnish to remain longer on the tooth surface, tooth brushing should be avoided on the same day, after which it should be continued. Fluoride varnishes have no age restrictions. For moderate risk, they should be applied twice a year, while for high risk up to 4 times. Disposable doses of fluoride varnish containing 5% NaF (22,600 ppm of fluoride) are 0.10 mL for infants and 0.25 mL for children over 1 year old. Contraindications to the use of fluoride varnish include bronchial asthma, stomatitis and necrotizing ulcerative gingivitis.

The use of fluoride varnishes in dentistry is now recommended by international dental organizations and societies, e.g., European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD), American Dental Association (ADA), American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD), IAPD International Association of Paediatric Dentistry (IAPD), World Dental Federation (FDI), or World Health Organization (WHO).^{95–101}

According to ADA experts, in adults at increased risk of developing caries, including root caries, professional prophylaxis should include the application of 2.26% fluoride varnish 2–4 times a year or the use of acidified fluorophosphate gel (1.23%) 2–4 times a year.¹⁰² Fluoride varnishes possess many advantages which make it one of the best ways of topical application. In general, they are considered safe and acceptable.¹⁰³ Their prolonged,

slow release of fluoride allows teeth to be exposed to higher doses without the risk of overdose. The application is fast and simple, without any need of additional drying. Prior teeth prophylaxis is not mandatory before application. Rapid setting time makes it an ideal material even for younger children or patients with gagging reflux.¹⁴ Indications of topical fluoride varnish applications are mainly dental prophylaxis treatment of incipient caries or root caries. Hypersensitivity of teeth or roots is another indicator where fluoride varnish can act as a pain relief. Varnishes are indicated for use in patients with bad hygiene that has no prognosis of getting better, including handicapped and senile patients or children. They are particularly recommended for children using orthodontic appliances, adults using prosthetic restorations and patients with decreased salivary secretion.¹⁰⁴

Among the contraindications, there are confirmed statuses like bronchial asthma, stomatitis or necrotizing ulcerative gingivitis. Each applied dose of a varnish contains up to 0.2 g of ethanol, and therefore usage during pregnancy or lactation is not recommended. Application of fluoride varnish may occasionally cause temporary discoloration of teeth after contact with fluoride, lasting around 24 h after the outer layer of varnish is removed with brushing.²⁹ There is a possibility of allergy to fluoride varnish, which can cause a burning sensation in the mouth, eventually causing dermatitis or stomatitis if the varnish had contact with either skin tissue or oral mucosa. A lot of varnishes, e.g., Duraphat® (Colgate Oral Care, Sydney, Australia), contain rosin. Children who were hospitalized during previous 12 months due to severe asthma or allergies or who are allergic to patches may be at risk of an allergic reaction to rosin. In such cases, usage of varnish without rosin should be considered (approved for caries prevention in the UK) or alternative age-appropriate fluoride preparations should be suggested (e.g., fluoride mouthwash or toothpaste with a higher fluoride concentration). Likewise, fluoride varnishes containing the CPP-ACP complex are not recommended for patients allergic to milk. Swallowing the topical fluoride varnish may result in elevation of plasma fluoride level, yet such increase is lower than when compared to fluoride gels.¹⁰⁵

Discussion

The effectiveness of the cariostatic action of fluoride ions can be attributed, on one hand, to their multidirectional effect on the carious process.^{106–110} On the other hand, it affects the hard tissues of the tooth from mineralization during development to external protection in the oral environment. Fluoride released from fluoride varnishes increases its concentration in both saliva and plaque, interacts with enamel hydroxyapatites, interferes with bacterial metabolism, and accumulates on the tooth surface in the form of CaF₂. These deposits, according to Øgaard

et al.,²⁴ could be observed *in vitro* for up to 4 months after application, while *in vivo*, due to the processes involved in chewing, swallowing, speech, and individual hygiene procedures, the time period of CaF₂ deposit removal was definitely shorter when compared to *in vitro* observations, reaching up to a maximum of 3 days.¹¹¹ According to Tenuta et al.,⁷⁷ it is the amount of calcium fluoride formed that will have a direct impact on the long-term maintenance of higher fluoride levels in the mouth and the effective long-term anti-cariogenic effect. Other researchers^{40,67,82,83} emphasize the importance of calcium and phosphate ions present in the mouth as a factor that has a significant impact on the amount of fluoride captured and bound.^{24,25,34,50}

Despite a very large number of studies conducted both *in vitro* and *in vivo*, there is still no clear opinion regarding the choice of the best fluoride varnish. Numerous experiments have shown that all varnishes of both the first and second generation applied to tooth surfaces release fluoride ions and cause them to accumulate in the enamel and plaque.^{23,25,46} *In vitro* studies, fluoride release was greatest during the first few hours after application, then decreased over time, with some investigators observing this on the 1st day after application^{46,69,112} and others within 3 weeks.^{25,50} The highest increase in fluoride was usually measured either after the 1st^{46,112} or the 2nd hour after application.^{25,113,114} Cumulative fluoride release, even for varnishes containing the same amount of fluoride, was not uniform and was likely due to differences in formulation, consistency and viscosity of the formulations.^{22–28,115} Shen and Autio-Gold¹¹⁵ obtained lower cumulative fluoride release in artificial saliva from Duraphat® (Colgate Oral Care) compared to Duraflor® (AMD Medicom Inc., Montreal, Canada) and CavityShield® (3M ESPE Dental Products, St. Paul, USA) (all 3 varnishes with 5% NaF), but for all, the decrease in ion emission between 7 h and 213 h of the experiment was similar.

Under *in vivo* conditions, the decrease in fluoride release was faster due to the effects of saliva on fluoride leaching and retention, as well as due to cheek and tongue muscle work, chewing, diet acidity, or hygiene treatments, but the pattern overlapped with *in vitro* studies. Most fluoride was released during the first few hours after application; in some studies,^{46,112} it was the 2nd hour of the study, and in others the first 4 h.^{36,58} A study by Piesiak-Pańczyszyn and Kaczmarek⁴⁶ showed a significant increase in salivary fluoride release during the first 2 h after application, which decreased with time, with the highest increase in the 1st hour – more than 15 times the initial value, in the 2nd hour slightly less, representing 9 times the initial level, and decreasing in the 168th hour of the experiment to a value oscillating near the initial value and corresponding to the cariostatic level. Comparing first- and second-generation varnishes with each other, it turns out that opinions on their effectiveness and the factors affecting them are divided.⁴⁵ Based on data from the literature, one can find

both works that, evaluating the amount of fluoride ions released, as well as the composition and mechanical properties of varnish-treated enamel surfaces, showed the superiority of second-generation varnishes over the first one,^{23,38,45,46,48,49,60,78,85–92,112} as well as those that did not show these differences^{28,76,78} or even studies reporting the higher effectiveness of non-enriched varnishes.^{23,42,53}

In a number of comparative studies, the best performing varnish was the second-generation one containing the CPP-ACP complex, for which the highest cumulative fluoride release and the largest increases in released fluoride over time were recorded.^{23,46,85,112} In addition, it is also noteworthy that this release proceeded most dynamically in the initial phase, causing the release of more than 90% of the total available amount of fluoride applied in the varnish in a fairly short time (up to 24 h).^{46,112} This was confirmed in a laboratory study performed by the ADA in 2015.¹¹⁶ This study considered 7 varnishes, from which only 2: – MI Varnish (GC Corporation, Tokyo, Japan) (with CPP-ACP complex) and Prevident® varnish (Colgate Oral Pharmaceuticals, Inc., Canton, USA) (with 5% NaF and xylitol) – released almost 100% of the available fluoride within the first 6 h after application, while the other 5 reached levels between 29% and 53%. In contrast, Milburn et al.⁵⁰ showed in vitro that CXP-containing Embrace™ varnish (Pulpdent, Watertown, USA) released as much as 10-fold more fluoride in the first 4 h after application than Duraphat® (Colgate Oral Care), Enamel Pro Varnish (Premier Dental Products, Plymouth Meeting, USA) and Vanish (3M ESPE Dental Products). There are other papers that show higher amounts of fluoride ions released from varnishes with amorphous calcium phosphate (ACP).^{25,26,117} In a study by Jablonowski et al.,²⁵ highest cumulative release of fluoride and highest rate of release were recorded for the Enamel Pro varnish with the addition of ACP for timeframe up to 3 weeks after application. Limit of detection in the referenced work oscillated around 4th week of the experiment for Enamel Pro Varnish (Premier Dental Products) compared to Duraphat® (Colgate Oral Care) and Clinpro XT (3 M ESPE Dental Products) varnishes, which reached limit of detection after approx. 6–7 weeks. It translates to a conclusion that varnish containing ACP in relatively short time released all available fluoride, causing its high concentration in the initial phase, which is considered critical.

In the case of second-generation varnishes, fluoride release is often observed in 2 phases, which was described by Pichaiakrit et al.⁶⁶ The phase of initial rapid release of large amounts of fluoride usually lasts until the first 4 h after application, depending on the varnish; between 12 h and 24 h, a steady, slower increase in fluoride commences, reaching a plateau.^{34,46,50,112} In line with previous opinions^{26,44} that a sufficiently high initial concentration of fluoride allows the formation of more calcium fluoride on the enamel surface and facilitates its binding to tooth tissues, and because the retention time of the tooth varnish

is limited under in vivo conditions, such fluoride release characteristics can have a pronounced impact on the therapeutic efficacy of the applied agent. Some researchers also noted the highly significant effect of medium pH on the amount of fluoride ions released.⁴⁶ In the studies by Piesiak-Pańczyszyn and Kaczmarek⁴⁶ and by Piesiak-Pańczyszyn et al.,¹¹² the level of fluoride released for both first (Duraphat®; Colgate Oral Care) and second-generation varnishes: MI Varnish (GC Corporation) and Embrace Varnish (Pulpdent, Watertown, USA) was significantly lower in neutral environments than in pH = 4 and pH = 5 environments, as confirmed in post hoc tests. In addition, regression analysis showed that the acidity of the artificial saliva had a greater effect on fluoride ion release than time since application. On the other hand, Ten Cate et al.,³⁷ evaluating the enamel surface after application of 2% neutral NaF compared to acidified fluoride preparations, found the presence of significantly higher amounts of CaF₂ in the latter case. Similar conclusions were obtained in the Fluor Protector study.^{36,37}

Fluoride varnishes, according to current knowledge, are the safest and most effective means in the treatment and prevention of tooth decay and hypersensitivity.¹¹⁸ Despite the fact that they contain almost twice as much fluoride as the gels and foams used, and more than 15 times as much fluoride as everyday toothpastes, they do not entail health risk.¹¹⁹ The most commonly used fluoride varnishes in dentistry are those with concentrations of 5% NaF, which is equivalent to 22,600 ppm of fluoride.^{102,119,120} Indeed, it has been shown that the maximum fluoride concentration in serum after application of varnish with 5% NaF in young children is only 1/7 of the maximum values found after application of APF gel with 1.25% NaF.^{121,122} This is due to the ability to apply the product very precisely to the teeth, as well as its adherence to the enamel surface, which prevents unintentional swallowing.¹²² An analysis of the number of adverse events reported to the U.S. Food and Drug Administration (FDA) confirmed that the use of fluoride varnish should be considered safe in the systemic aspect.¹²³ On the other hand, reports of varnish cytotoxicity appearing in the literature draw attention. Due to the close contact of fluoride varnish with enamel, dentin or adjacent soft tissues including the gingival mucosa, it is necessary to rule out cytotoxicity prior clinical use. Evaluation of the possible cytotoxic effect on human tissues caused by fluoride varnishes is important for the health of oral cavity tissues.^{14,124–126}

Biocompatibility of materials that are prepared to be used clinically in dentistry is evaluated using primary human cells, including fibroblast cells or odontoblasts cells; e.g., Sengun et al.¹²⁷ and Hoang-Dao et al.¹²⁸ confirmed evaluating cytotoxic effects on primary gingival fibroblasts, as well as pulp fibroblasts from dentin slice, due to the fact that both of them are directly exposed during the procedure of fluoride varnish application. In such evaluations, it is extremely important to determine the cytotoxicity

of a specific agent in vitro. Cytotoxicity can be properly measured only when there is direct contact between the specific material and gingival cells. Hoang-Dao et al.¹²⁸ confirmed that toxicity of given material is generally lower on dentin slice when compared to gingival fibroblasts. It can be explained by the buffering capacity of dentin.¹²⁹ There is also additional risk of swallowing fluoride varnishes, which should be avoided because of renal toxicity risk.¹⁸ Moreover, it is very important to follow the clinician's recommendations regarding the dosage of fluoride varnishes. Prolonged inappropriate effects of fluoride varnishes on soft tissues in the oral cavity can cause, although rare and preventable, acute topical toxicity involving oral mucosa irritation.^{130,131}

Conclusions

Despite many studies conducted both in vitro and in vivo, we still do not know all the mechanisms affecting the effect of fluoride on dental hard tissues, nor are we able to identify all the relevant variables that may intensify or limit this effect. In addition, in light of emerging information about the local negative effects of fluoride varnishes on soft tissues, it is necessary to continue experiments to maximize efficacy and safety.

ORCID iDs

Dagmara Piesiak-Pańcyszyn  <https://orcid.org/0000-0002-5218-197X>
 Wojciech Zakrzewski  <https://orcid.org/0000-0002-6242-1180>
 Aleksandra Piszko  <https://orcid.org/0000-0003-0386-216X>
 Paweł J. Piszko  <https://orcid.org/0000-0002-7577-8509>
 Maciej Dobrzyński  <https://orcid.org/0000-0003-2368-1534>

References

- Lech T. Fatal cases of acute suicidal sodium and accidental zinc fluorosilicate poisoning: Review of acute intoxications due to fluoride compounds. *Forensic Sci Int.* 2011;206(1–3):e20–e24. doi:10.1016/j.forsciint.2010.06.027
- Ozsvath DL. Fluoride and environmental health: A review. *Rev Environ Sci Biotechnol.* 2009;8(1):59–79. doi:10.1007/s11157-008-9136-9
- Benson PE, Parkin N, Dyer F, Millett DT, Furness S, Germain P. Fluorides for the prevention of early tooth decay (demineralised white lesions) during fixed brace treatment. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;2013:CD003809. doi:10.1002/14651858.CD003809.pub3
- Twetman S, Keller MK. Fluoride rinses, gels and foams: An update of controlled clinical trials. *Caries Res.* 2016;50(Suppl 1):38–44. doi:10.1159/000439180
- Wong MCM, Clarkson J, Glenn AM, et al. Cochrane reviews on the benefits/risks of fluoride toothpastes. *J Dent Res.* 2011;90(5):573–579. doi:10.1177/0022034510393346
- Marinho V. Cochrane fluoride reviews: An overview of the evidence on caries prevention with fluoride treatments. *Fac Dent J.* 2014;5(2):78–83. doi:10.1308/rcsfdj.2014.5.2.78
- Walsh T, Worthington HV, Glenn AM, Marinho VC, Jeronci A. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;2019:CD007868. doi:10.1002/14651858.CD007868.pub3
- Haugejorden O, Magne Birkeland J. Analysis of the ups and downs of caries experience among Norwegian children aged five years between 1997 and 2003. *Acta Odontol Scand.* 2005;63(2):115–122. doi:10.1080/00016350510019784
- Olczak-Kowalczyk D, Mielczarek A, Jackowska T, et al. Fluoride agents in the prevention and treatment of dental caries and erosion in children, adolescents and adults: Recommendations of Polish Experts. Update of recommendations: Individual fluoride prevention in children and adolescents – recommendations of Polish Experts [in Polish]. *Nowa Stomatol.* 2022;27(2):35–59. doi:10.25121/NS.2022.27.2.35
- Bonetti D, Clarkson JE. Fluoride varnish for caries prevention: Efficacy and implementation. *Caries Res.* 2016;50(Suppl 1):45–49. doi:10.1159/000444268
- Fejerskov O, Nyvad B, Kidd EAM, eds. *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management.* 3rd ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons Inc; 2015. ISBN:978-1-118-93582-8.
- Olczak-Kowalczyk D, Borysewicz-Lewicka M, Adamowicz-Klepalska B, Jackowska T, Kaczmarek U, Kaczmarek U. Consensus statement of Polish experts on individual caries prevention with fluoride in children and adolescents. *Nowa Stomatol.* 2016;21(1):47–73. doi:10.5604/14266911.1199068
- Heuser H, Schmidt H. Zahnkariesprophylaxe durch Tiefenimprägnierung des Zahnschmelzes mit Fluor-Lack. *Stoma.* 1968;21:91–100.
- Chu CH, Lo ECM. A review of sodium fluoride varnish. *Gen Dent.* 2006;54(4):247–253. PMID:16903196.
- Azarpazhooh A, Main PA. Fluoride varnish in the prevention of dental caries in children and adolescents: A systematic review. *J Can Dent Assoc.* 2008;74(1):73–79. PMID:18298889.
- Carvalho DM, Salazar M, Oliveira BHD, Coutinho ESF. Fluoride varnishes and decrease in caries incidence in preschool children: A systematic review. *Rev Bras Epidemiol.* 2010;13(1):139–149. doi:10.1590/S1415-790X2010000100013
- Marinho V. Cochrane reviews of randomized trials of fluoride therapies for preventing dental caries. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2009;10(3):183–191. doi:10.1007/BF03262681
- Marinho V, Worthington HV, Walsh T, Clarkson JE. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;2013:CD002279. doi:10.1002/14651858.CD002279.pub2
- Strohmeier L, Brambilla E. The use of fluoride varnishes in the prevention of dental caries: A short review. *Oral Dis.* 2008;7(2):71–80. doi:10.1034/j.1601-0825.2001.70202.x
- Autio-Gold JT, Courts F. Assessing the effect of fluoride varnish on early enamel carious lesions in the primary dentition. *J Am Dent Assoc.* 2001;132(9):1247–1253. doi:10.14219/jada.archive.2001.0367
- Weintraub JA, Ramos-Gomez F, Jue B, et al. Fluoride varnish efficacy in preventing early childhood caries. *J Dent Res.* 2006;85(2):172–176. doi:10.1177/154405910608500211
- Virupaxi SG, Roshan N, Poornima P, Nagaveni N, Neena I, Bharath K. Comparative evaluation of longevity of fluoride release from three different fluoride varnishes: An in vitro study. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(8):ZC033–ZC036. doi:10.7860/JCDR/2016/19209.8242
- Cochrane N, Shen P, Yuan Y, Reynolds E. Ion release from calcium and fluoride containing dental varnishes. *Aust Dent J.* 2014;59(1):100–105. doi:10.1111/adj.12144
- Øgaard B. The cariostatic mechanism of fluoride. *Compend Contin Educ Dent.* 1999;20(1 Suppl):10–17; quiz 34. PMID:11908400
- Jablonowski BL, Bartoloni JA, Hensley DM, Vandewalle KS. Fluoride release from newly marketed fluoride varnishes. *Quintessence Int.* 2012;43(3):221–228. PMID:22299122.
- Ritwik P, Aubel J, Xu X, Fan Y, Hagan J. Evaluation of short term fluoride release from fluoride varnishes. *J Clin Pediatr Dent.* 2012;36(3):275–278. doi:10.17796/jcpd.36.3.q304488478w52334
- Castillo JL, Milgrom P, Kharasch E, Izutsu K, Fey M. Evaluation of fluoride release from commercially available fluoride varnishes. *J Am Dent Assoc.* 2001;132(10):1389–1392. doi:10.14219/jada.archive.2001.0053
- Shen P, Bagheri R, Walker G, et al. Effect of calcium phosphate addition to fluoride containing dental varnishes on enamel demineralization. *Aust Dent J.* 2015;61(3):357–365. doi:10.1111/adj.12385
- Baik A, Alamoudi N, El-Housseiny A, Altuwirqi A. Fluoride varnishes for preventing occlusal dental caries: A review. *Dent J.* 2021;9(6):64. doi:10.3390/dj9060064
- Wagner J, Kawamoto A. Fluoride varnish compositions including an organo phosphoric acid adhesion promoting agent. US patent US20130149391A1. July 10, 2014. <https://patents.google.com/patent/US20130149391A1/en>.

31. Kolter K, Schönherr M, Gebert S, Meyer-Böhm K, Maschke A. Pharmaceutical formulation for the production of rapidly disintegrating tablets. US patent US20100178349A1. September 10, 2019. <https://patents.google.com/patent/US20100178349A1/en>.
32. Wang W, Xie Q, Xu T, Wang Q, Malmstrom HS, Ren YF. Fluoride release and anti-erosive effects of dentifrices containing PVM/MA copolymers. *J Dent*. 2013;41(2):148–154. doi:10.1016/j.jdent.2012.10.013
33. Levy FM, Rios D, Buzalaf MAR, Magalhães AC. Efficacy of TiF4 and NaF varnish and solution: A randomized in situ study on enamel erosive–abrasive wear. *Clin Oral Invest*. 2014;18(4):1097–1102. doi:10.1007/s00784-013-1096-y
34. Comar LP, Souza BMD, Grizzo LT, Buzalaf MAR, Magalhães AC. Evaluation of fluoride release from experimental TiF4 and NaF varnishes in vitro. *J Appl Oral Sci*. 2014;22(2):138–143. doi:10.1590/1678-7752.0130574
35. Wagner J, Kawamoto A. Fluoride varnish compositions including an organo phosphoric acid adhesion promoting agent. US patent US8852561B2. July 10, 2014. <https://patents.google.com/patent/US8852561B2/en>.
36. Twetman S, Sköld-Larsson K, Modéer T. Fluoride concentration in whole saliva and separate gland secretions after topical treatment with three different fluoride varnishes. *Acta Odontol Scand*. 1999; 57(5):263–266. doi:10.1080/000163599428670
37. Ten Cate J, Larsen M, Pearce E, Fejerskov O. Chemical interactions between the tooth and oral fluids. In: *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*. Oxford, UK: Blackwell Munksgaard; 2003: 49–69. ISBN:978-1-4051-0718-1.
38. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*. 2010; 89(11):1187–1197. doi:10.1177/0022034510376046
39. Reynolds E. Calcium phosphate-based remineralization systems: Scientific evidence? *Aust Dent J*. 2008;53(3):268–273. doi:10.1111/j.1834-7819.2008.00061.x
40. Vogel GL. Oral fluoride reservoirs and the prevention of dental caries. *Mongr Oral Sci*. 2011;22:146–157. doi:10.1159/000325166
41. Santos LDM, Reis JILD, Medeiros MPD, Ramos SM, Araújo JMD. In vitro evaluation of fluoride products in the development of carious lesions in deciduous teeth. *Braz Oral Res*. 2009;23(3):296–301. doi:10.1590/S1806-83242009000300012
42. Carvalho TS, Peters BG, Rios D, et al. Fluoride varnishes with calcium glycerophosphate: Fluoride release and effect on in vitro enamel demineralization. *Braz Oral Res*. 2015;29:S1806-83242015000100287. doi:10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0092
43. Jafari K, Hekmatfar S, Freydzadeh M. In vitro comparison of antimicrobial activity of conventional fluoride varnishes containing xylitol and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2018;8(4):309–313. doi:10.4103/jispcd.JISPCD_67_18
44. Carey CM. Focus on fluorides: Update on the use of fluoride for the prevention of dental caries. *J Evid Based Dent Pract*. 2014;14:95–102. doi:10.1016/j.jebdp.2014.02.004
45. Walczak M, Turska-Szybká A. The efficacy of fluoride varnishes containing different calcium phosphate compounds. *Fluoride*. 2017;50: 151–160. <https://www.proquest.com/docview/1942213151>. Accessed September 13, 2023.
46. Piesiak-Pańczyszyn D, Kaczmarek U. Fluoride release from fluoride varnish under in vitro and in vivo conditions. *Dent Med Probl*. 2017; 54(4):327–331. doi:10.17219/dmp/78887
47. Chhatwani S, Hoppe J, Naumova EA, et al. Fluoride ion release characteristics of fluoride-containing varnishes: An in vitro study. *Appl Sci*. 2021;11(4):1452. doi:10.3390/app11041452
48. Schemehorn BR, Orban JC, Wood GD, Fischer GM, Winston AE. Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. *J Clin Dent*. 1999;10(1 Spec No):13–16. PMID:10686853.
49. Güçlü ZA, Alaçam A, Coleman NJ. A 12-week assessment of the treatment of white spot lesions with CPP-ACP paste and/or fluoride varnish. *Biomed Res Int*. 2016;2016:8357621. doi:10.1155/2016/8357621
50. Milburn JL, Henrichs LE, Banfield R, Stansell M, Vandewalle K. Substantive fluoride release from a new fluoride varnish containing CXP. *Dentistry*. 2015;5(12):1000350. doi:10.4172/2161-1122.1000350
51. Karlinsky RL, Mackey AC, Schwandt CS, Walker TJ. SEM evaluation of demineralized dentin treated with professional-strength NaF topical pastes. *Am J Dent*. 2011;24(6):357–362. PMID:22263333.
52. Elkassas D, Arafa A. Remineralizing efficacy of different calcium-phosphate and fluoride based delivery vehicles on artificial caries like enamel lesions. *J Dent*. 2014;42(4):466–474. doi:10.1016/j.jdent.2013.12.017
53. Mohd Said SNB, Ekambaram M, Yiu CKY. Effect of different fluoride varnishes on remineralization of artificial enamel carious lesions. *Int J Paed Dentistry*. 2016;27(3):163–173. doi:10.1111/ipd.12243
54. AlAmoudi SA, Pani SC, AlOmari M. The effect of the addition of tri-calcium phosphate to 5% sodium fluoride varnishes on the micro-hardness of enamel of primary teeth. *Int J Dent*. 2013;2013:486358. doi:10.1155/2013/486358
55. Cross KJ, Huq NL, Palamara JE, Perich JW, Reynolds EC. Physicochemical characterization of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplexes. *J Biol Chem*. 2005;280(15):15362–15369. doi:10.1074/jbc.M413504200
56. Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, et al. Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res*. 2008;87(4):344–348. doi:10.1177/154405910808700420
57. Farooq I, Moheet IA, Imran Z, Farooq U. A review of novel dental caries preventive material: Casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate (CPP–ACP) complex. *Saudi J Dent Res*. 2013;4(2):47–51. doi:10.1016/j.ksujds.2013.03.004
58. Eakle WS, Featherstone JDB, Weintraub JA, Shain SG, Gansky SA. Salivary fluoride levels following application of fluoride varnish or fluoride rinse. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2004;32(6):462–469. doi:10.1111/j.1600-0528.2004.00185.x
59. Patel PM. Comparison of the effect of fluoride varnish, chlorhexidine varnish and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP–ACP) varnish on salivary streptococcus mutans level: A six month clinical study. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(8):ZC53–ZC59. doi:10.7860/JCDR/2017/26541.10409
60. Tuloglu N, Bayrak S, Tunc ES, Ozer F. Effect of fluoride varnish with added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on the acid resistance of the primary enamel. *BMC Oral Health*. 2016; 16(1):103. doi:10.1186/s12903-016-0299-4
61. Zhang Q, Zou J, Yang R, Zhou X. Remineralization effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate crème on artificial early enamel lesions of primary teeth. *Int J Paediatr Dent*. 2011;21(5): 374–381. doi:10.1111/j.1365-263X.2011.01135.x
62. Bakry AS, Abbassy MA. Increasing the efficiency of CPP-ACP to remineralize enamel white spot lesions. *J Dent*. 2018;76:52–57. doi:10.1016/j.jdent.2018.06.006
63. Świetlicka I, Kuc D, Świetlicki M, et al. Near-surface studies of the changes to the structure and mechanical properties of human enamel under the action of fluoride varnish containing CPP–ACP compound. *Biomolecules*. 2020;10(5):765. doi:10.3390/biom10050765
64. Yapp R, Powers J. Fluoride ion release from several fluoride varnishes. *Dental Advisor*. 2012;44:1–2. https://www.dentaladvisor.com/pdf-download/?pdf_url=wp-content/uploads/2015/02/fluoride-ion-release-from-several-fluoride-varnishes.pdf. Accessed September 23, 2023.
65. Premier Dental. Hygiene/Preventative equipment. Plymouth Meeting, USA: Premier Dental; 2023. <http://premusa.com/dental/hygiene.asp>. Accessed September 23, 2023.
66. Pichaiakrit W, Thamrongananskul N, Siraletmukul K, Swadison S. Fluoride varnish containing chitosan demonstrated sustained fluoride release. *Dent Mater J*. 2019;38(6):1036–1042. doi:10.4012/dmj.2018-112
67. Attin T, Lennon AM, Yakin M, et al. Deposition of fluoride on enamel surfaces released from varnishes is limited to vicinity of fluoridation site. *Clin Oral Invest*. 2007;11(1):83–88. doi:10.1007/s00784-006-0080-1
68. Colgate Professional. Update: Duraphat Product Labelling. New York, USA: Colgate-Palmolive Company; 2022. <https://www.colgateprofessional.co.uk/products/duraphat-product-labelling-update>. Accessed September 19, 2023.
69. Byeon SM, Lee MH, Bae TS. The effect of different fluoride application methods on the remineralization of initial carious lesions. *Restor Dent Endod*. 2016;41(2):121. doi:10.5395/rde.2016.41.2.121
70. Erdem AP, Sepet E, Kulekci G, Trosola SC, Guven Y. Effects of two fluoride varnishes and one fluoride/chlorhexidine varnish on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* biofilm formation in vitro. *Int J Med Sci*. 2012;9(2):129–136. doi:10.7150/ijms.3637

71. Premier Dental. Enamel Pro® Varnish. Plymouth Meeting, USA: Premier Dental; 2023. <https://www.premierdentalco.com/product/hygienepreventative/fluoride/enamel-pro-varnish/>. Accessed September 23, 2023.
72. Wefel JS. NovaMin®: Likely clinical success. *Adv Dent Res*. 2009;21(1):40–43. doi:10.1177/0895937409335622
73. Simmer JP, Hardy NC, Chinoy AF, Bartlett JD, Hu JC. How fluoride protects dental enamel from demineralization. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2020;10(2):134. doi:10.4103/jispcd.JISPCD_406_19
74. Kaczmarek U. Mechanizmy kariostatyczne fluoru. *Czas Stomatol*. 2005;58(6):404–413. <https://www.yumpu.com/xx/document/view/22985710/mechanizmy-kariostatyczne-fluoru>. Accessed September 23, 2023.
75. Featherstone JDB. Prevention and reversal of dental caries: Role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1999;27(1):31–40. doi:10.1111/j.1600-0528.1999.tb01989.x
76. Beltrán-Aguilar ED, Goldstein JW, Lockwood SA. Fluoride varnishes: A review of their clinical use, cariostatic mechanism, efficacy and safety. *J Am Dent Assoc*. 2000;131(5):589–596. doi:10.14219/jada.archiv.2000.0232
77. Tenuta LMA, Cerezetti RV, Del Bel Cury AA, Tabchoury CPM, Cury JA. Fluoride release from CaF₂ and enamel demineralization. *J Dent Res*. 2008;87(11):1032–1036. doi:10.1177/154405910808701105
78. Girish Babu K, Subramaniam P, Teleti S. Remineralization potential of varnish containing casein phosphopeptides-amorphous calcium phosphate with fluoride and varnish containing only fluoride: A comparative study. *Saudi J Oral Sci*. 2018;5(1):35–40. doi:10.4103/sjos.SJOralSci_44_17
79. Rosin-Grget K, Lincir I. Current concept on the anticaries fluoride mechanism of the action. *Coll Antropol*. 2001;25(2):703–712. PMID:11811302.
80. Mielczarek A, Michalik J, Kujawa M. The effect of selected fluoride products on microstructure of early caries lesions [in Polish]. *Nowa Stomatol*. 2013;3:120–124. http://www.nstomatologia.pl/wp-content/uploads/2014/10/ns_2013_120-124.pdf. Accessed September 14, 2023.
81. Holve S. An observational study of the association of fluoride varnish applied during well child visits and the prevention of early childhood caries in American Indian children. *Matern Child Health J*. 2007;12(S1):64–67. doi:10.1007/s10995-007-0294-0
82. Whitford GM, Wasdin JL, Schafer TE, Adair SM. Plaque fluoride concentrations are dependent on plaque calcium concentrations. *Caries Res*. 2002;36(4):256–265. doi:10.1159/000063931
83. Fejerskov E, Clarkson O. Fluoride in caries control. In: *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*. Oxford, UK: Blackwell Munksgaard; 2003:49–69. ISBN:978-1-4051-0718-1.
84. Attin T, Hartmann O, Hilgers RD, Hellwig E. Fluoride retention of incipient enamel lesions after treatment with a calcium fluoride varnish in vivo. *Arch Oral Biol*. 1995;40(3):169–174. doi:10.1016/0003-9969(95)98804-8
85. Pithon MM, Baião FS, Sant’Anna LID, Tanaka OM, Cople-Maia L. Effectiveness of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate-containing products in the prevention and treatment of white spot lesions in orthodontic patients: A systematic review. *J Investig Clin Dent*. 2019;10(2):e12391. doi:10.1111/jicd.12391
86. Majithia U, Venkataraghavan K, Choudhary P, Trivedi K, Shah S, Virda M. Comparative evaluation of application of different fluoride varnishes on artificial early enamel lesion: An in vitro study. *Indian J Dent Res*. 2016;27(5):521–527. doi:10.4103/0970-9290.195642
87. Somasundaram P, Mandke L, Vimala N. Protective potential of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate containing paste on enamel surfaces. *J Conserv Dent*. 2013;16(2):152–156. doi:10.4103/0972-0707.108199
88. Llana C, Leyda AM, Forner L. CPP-ACP and CPP-ACFP versus fluoride varnish in remineralisation of early caries lesions: A prospective study. *Eur J Paediatr Dent*. 2015;16(3):181–186. PMID:26418918.
89. Memarpour M, Fakhraei E, Dadaein S, Vossoughi M. Efficacy of fluoride varnish and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate for remineralization of primary teeth: A randomized clinical trial. *Med Princ Pract*. 2015;24(3):231–237. doi:10.1159/000379750
90. Salman NR, ElTekeya M, Bakry N, Omar SS, El Tantawi M. Comparison of remineralization by fluoride varnishes with and without casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate in primary teeth. *Acta Odontol Scand*. 2019;77(1):9–14. doi:10.1080/00016357.2018.1490967
91. Ekambaram M, Mohd Said S, Yiu C. A review of enamel remineralisation potential of calcium- and phosphate-based remineralisation systems. *Oral Health Prev Dent*. 2017;15(5):415–420. doi:10.3290/j.ohpd.a38779
92. Damyanova D, Angelova S, Targova-Dimitrova T. Clinical study remineralization effect of mineralization varnish. *IOSR J Dent Med Sci*. 2016;15(8):134–136. doi:10.9790/0853-150804134136
93. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendations for using fluoride to prevent and control dental caries in the United States. Atlanta, USA: Centers for Disease Control and Prevention (CDC); 2001. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/5160>. Accessed September 8, 2023.
94. Chestnutt IG, Chadwick BL, Hutchings S, et al. Protocol for “Seal or Varnish?” (SoV) trial: A randomised controlled trial to measure the relative cost and effectiveness of pit and fissure sealants and fluoride varnish in preventing dental decay. *BMC Oral Health*. 2012;12(1):51. doi:10.1186/1472-6831-12-51
95. Phantumvanit P, Makino Y, Ogawa H, et al. WHO global consultation on public health intervention against early childhood caries. *Comm Dent Oral Epid*. 2018;46(3):280–287. doi:10.1111/cdoe.12362
96. American Dental Association (ADA). *Fluoridation Facts*. Niagara Falls, USA: American Dental Association (ADA); 2018. <https://ebooks.ada.org/fluoridationfacts/>. Accessed September 14, 2023.
97. American Dental Association Council on Scientific Affairs. Professionally applied topical fluoride: Evidence-based clinical recommendations. *J Am Dent Assoc*. 2006;137(8):1151–1159. doi:10.14219/jada.archive.2006.0356
98. European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD). Guidelines on the use of fluoride in children: An EAPD policy document. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2009;10(3):129–135. doi:10.1007/BF03262673
99. Petersen PE, Ogawa H. Prevention of dental caries through the use of fluoride: The WHO approach. *Community Dent Health*. 2016;33(2):66–68. doi:10.1922/CDH_Petersen03
100. World Health Organization (WHO). *WHO Expert Consultation on Public Health Intervention Against Early Childhood Caries: Report of a Meeting*. Bangkok, Thailand: World Health Organization (WHO); 2016. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255627/WHO-NMH-PND-17.1-eng.pdf?sequence=1>. Accessed September 1, 2023.
101. FDI World Dental Federation. FDI policy statement on promoting oral health through water fluoridation. *Int Dent J*. 2014;64(6):293–294. doi:10.1111/idj.12150
102. Weyant RJ, Tracy SL, Anselmo T, et al. Topical fluoride for caries prevention. *J Am Dent Assoc*. 2013;144(11):1279–1291. doi:10.14219/jada.archive.2013.0057
103. Jafarzadeh D, Rezapour R, Abbasi T, et al. The effectiveness of fluoride varnish and fissure sealant in elementary school children: A systematic review and meta-analysis. *Iran J Public Health*. 2022;51(2):266–277. doi:10.18502/ijph.v51i2.8680
104. Zero DT, Fu J, Espeland MA, Featherstone JDB. Comparison of fluoride concentrations in unstimulated whole saliva following the use of a fluoride dentifrice and a fluoride rinse. *J Dent Res*. 1988;67(10):1257–1262. doi:10.1177/00220345880670100201
105. Ekstrand J, Koch G, Petersson LG. Plasma fluoride concentration and urinary fluoride excretion in children following application of the fluoride-containing varnish Duraphat®. *Caries Res*. 1980;14(4):185–189. doi:10.1159/000260452
106. Kosior P, Kaczmarek U. Effect in vitro of environmental parameters on the release of fluoride ions from some materials used in dentistry [in Polish]. *Ann Acad Med Stetin*. 2004;50(Suppl 1):65–68. PMID:16892588.
107. Beirut N, Frencken JE, Van’t Hof MA, Van Palenstein Helderman WH. Caries-preventive effect of resin-based and glass ionomer sealants over time: A systematic review. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2006;34(6):403–409. doi:10.1111/j.1600-0528.2006.00321.x
108. Ahovuo-Saloranta A, Forss H, Walsh T, et al. Sealants for preventing dental decay in the permanent teeth. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;2013:CD001830. doi:10.1002/14651858.CD001830.pub4
109. Kosior P, Kaczmarek U. Release of fluoride ions into saliva from some dental materials [in Polish]. *Ann Acad Med Stetin*. 2004;50(Suppl 1):62–64. PMID:16892587.
110. Kosior P. Fluoride release from selected dental materials in experimental and clinical conditions [doctoral thesis]. Wrocław, Poland: Wrocław Medical University; 2005.

111. Eakle W, Kimberly G, Bastin G. *Dental Materials: Clinical Applications for Dental Assistants and Dental Hygienists*. Philadelphia, USA: Saunders; 2019. ISBN:978-0-323-60955-5.
112. Piesiak-Panczyszyn D, Watras A, Wiglusz RJ, Dobrzynski M. In vitro comparison of the fluoride ion release from the first- and second-generation fluoride varnishes. *Appl Sci*. 2023;13(12):7327. doi:10.3390/app13127327
113. Castillo JL, Milgrom P. Fluoride release from varnishes in two in vitro protocols. *J Am Dent Assoc*. 2004;135(12):1696–1699. doi:10.14219/jada.archive.2004.0121
114. Fernández CE, Tenuta LMA, Zárate P, Cury JA. Insoluble NaF in Duraphat® may prolong fluoride reactivity of varnish retained on dental surfaces. *Braz Dent J*. 2014;25(2):160–164. doi:10.1590/0103-6440201302405
115. Shen C, Autio-Gold J. Assessing fluoride concentration uniformity and fluoride release from three varnishes. *J Am Dent Assoc*. 2002; 133(2):176–182. doi:10.14219/jada.archive.2002.0141
116. American Dental Association (ADA). Fluoride Varnish: A Clinical Perspective on the ADA Laboratory Evaluation. Niagara Falls, USA: American Dental Association (ADA); 2015. https://www.ada.org/en/es-MX/member-center/oral-health-topics/~/_media/737FB2A4B88A4E9496F0F0A340525C29.ashx. Accessed September 23, 2023.
117. Gonzalez-Cabezas C, Flannagan S, Krell R, Uekihara M, Niquette C. Fluoride release from fluoride varnishes is affected by incubation conditions. American Association for Dental Research (AADR) 2012 Annual Meeting, March 21–24, 2012, Tampa, USA. Alexandria, USA: American Association for Dental Research (AADR).
118. Kirschneck C, Christl JJ, Reicheneder C, Proff P. Efficacy of fluoride varnish for preventing white spot lesions and gingivitis during orthodontic treatment with fixed appliances: A prospective randomized controlled trial. *Clin Oral Invest*. 2016;20(9):2371–2378. doi:10.1007/s00784-016-1730-6
119. Seshadri VRA, Varghese NS, Gurunathan D. Evaluation of the cytocompatibility of fluoride varnish and its effect on human gingival fibroblasts (hGFs): An in vitro study. *Cureus*. 2023;15(7):e41735. doi:10.7759/cureus.41735
120. Giacaman R, Fernández C, Muñoz-Sandoval C, Fuentes N. Longer retention time of fluoridated varnishes enhances enamel remineralisation in vitro. *Oral Health Prev Dent*. 2018;15(6):569–573. doi:10.3290/j.ohpd.a38778
121. Pendry DG, Haugejorden O, Baårdsen A, Wang NJ, Gustavsen F. The risk of enamel fluorosis and caries among Norwegian children: Implications for Norway and the United States. *J Am Dent Assoc*. 2010;141(4):401–414. doi:10.14219/jada.archive.2010.0192
122. Browne D, Whelton H, O'Mullane D. Fluoride metabolism and fluorosis. *J Dent*. 2005;33(3):177–186. doi:10.1016/j.jdent.2004.10.003
123. Mascarenhas AK. Is fluoride varnish safe? Validating the safety of fluoride varnish. *J Am Dent Assoc*. 2021;152(5):364–368. doi:10.1016/j.adaj.2021.01.013
124. Eyüboğlu G, Yeşilyurt C, Ertürk M. Evaluation of cytotoxicity of dentin desensitizing products. *Oper Dent*. 2015;40(5):503–514. doi:10.2341/13-334-L
125. Parirokh M, Forghani FR, Paseban H, Asgary S, Askarifard S, Esmaeeli Mahani S. Cytotoxicity of two resin-based sealers and a fluoride varnish on human gingival fibroblasts. *Iran Endod J*. 2015;10(2):89–92. PMID:25834590. PMCID:PMC4372780.
126. Larpbunphol N, Chanamuangkon T, Thamrongananskul N. The fluoride release, abrasion resistance, and cytotoxicity to hGFs of a novel cyanoacrylate-based fluoride varnish compared with conventional fluoride varnish. *Dent Mater J*. 2022;41(5):757–766. doi:10.4012/dmj.2022-005
127. Sengun A, Buyukbas S, Hakki SS. Cytotoxic effects of dental desensitizers on human gingival fibroblasts. *J Biomed Mater Res*. 2006; 78B(1):131–137. doi:10.1002/jbm.b.30464
128. Hoang-Dao BT, Hoang-Tu H, Tran-Hung L, Camps J, Koubi G, About I. Evaluation of a natural resin-based new material (Shellac F) as a potential desensitizing agent. *Dent Mater*. 2008;24(7):1001–1007. doi:10.1016/j.dental.2007.11.014
129. Camps J, Pashley DH. Buffering action of human dentin in vitro. *J Adhes Dent*. 2000;2(1):39–50. PMID:11317407.
130. Garcia RI, Gregorich SE, Ramos-Gomez F, et al. Absence of fluoride varnish-related adverse events in caries prevention trials in young children, United States. *Prev Chronic Dis*. 2017;14:160372. doi:10.5888/pcd14.160372
131. Quiñonez RB, Stearns SC, Talekar BS, Rozier RG, Downs SM. Simulating cost-effectiveness of fluoride varnish during well-child visits for Medicaid-enrolled children. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2006; 160(2):164–170. doi:10.1001/archpedi.160.2.164



Uwalnianie jonów fluorkowych z lakieru fluorkowego drugiej generacji zawierającego CPP – ACP w warunkach *in vitro* i *in vivo* z zastosowaniem jonoselektywnej elektrody

Fluoride release from second generation of varnish with CPP – ACP complex under *in vitro* and *in vivo* conditions using an ion-selective electrode

Dagmara Piesiak-Pańczyszyn¹, Martyna Staszekwicz², Maciej Dobrzyński³

¹ Katedra Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50-425 Wrocław, tel. +48 609 122 616, e-mail: dagmara.piesiak-panczyszyn@umw.edu.pl

² Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wybrzeże Ludwika Pasteura 1, 50-367 Wrocław

³ Katedra i Zakład Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50-425 Wrocław

Streszczenie

Abstract

Wprowadzenie. Lakieru fluorkowe to preparaty zawierające wysokie stężenia fluoru, stosowane w stomatologii do leczenia i zapobiegania chorobie próchnicowej, często wzbogacane związkami wapnia i fosforu. Skuteczność tych preparatów oceniana jest między innymi ilością uwalnianego fluoru w określonym czasie.

Cel. Celem badania była ocena dynamiki uwalniania jonów fluorkowych uwalnianych z lakieru MI Varnish firmy GC w warunkach *in vitro* i *in vivo* za pomocą jonoselektywnej elektrody ORION model 9609 połączonej z mikrokomputerem pH/jonometrem CPI – 551 Elmetron.

Materiały i metody. Materiał do badań *in vitro* (30 próbek) został przygotowany z usuniętych zębów ludzkich i podzielony na trzy grupy po 10 próbek każda. Po naniesieniu na nie określonej ilości lakieru MI Varnish umieszczono je w szczelnych pojemnikach zawierających sztuczną ślinę o różnym pH (4, 5, 7). Oznaczono skumulowany poziom fluoru (F_{skum}) po upływie 1, 2, 24, 48 i 168 godzin. W badaniach *in vivo* udział wzięto 10 ochotników, u których badany lakier został nałożony na powierzchnie żujące, policzkowe i podniebienne wszystkich zębów. Pomiar poziomu fluoru wykonano czterokrotnie, tzn.: przed aplikacją lakieru, po godzinie, po 2 godzinach oraz po 168 godzinach po aplikacji, zbierając za każdym razem 5 ml śliny mieszanej niestymulowanej.

Wyniki. W badaniu *in vitro* uwalnianie fluoru z badanego lakieru różniło się istotnie w każdej godzinie obserwacji i przy każdej kwasowości środowiska ($p < 0,001$). Najwyższe przyrosty uwalnianego fluoru odnotowano w ciągu pierwszych dwóch godzin obserwacji w każdej badanej grupie, natomiast najwięcej skumulowanego fluoru zostało uwolnione w środowisku o pH = 4. W badaniu *in vivo*, przyjmując jako poziom wyjściowy fluoru w ślinie $0,158 \pm 0,05$ ppm F, już po 1 godzinie od aplikacji wzrósł on 12-krotnie do $1,909 \pm 0,427$ ppm F, po 2 godzinach nieznacznie spadł, przy czym nadal był 9-krotnie wyższy niż przed aplikacją i wynosił $1,468 \pm 0,276$ ppm F. Po 168 h osiągnął wartość zbliżoną do stanu początkowego równą $0,195 \pm 0,08$ ppm F.

Wnioski. Lakier MI Varnish zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* uwalniał jony fluorkowe przez cały okres badania, przy czym najwięcej fluoru uwalniał w pierwszej godzinie po aplikacji. W badaniu *in vitro* zarówno pH sztucznej śliny, jak i czas po aplikacji miały istotny wpływ na ilość uwalnianych jonów fluoru. Również interakcja pH i czasu okazała się istotna statystycznie.

Słowa kluczowe: lakieru fluorkowe, kompleks CPP-ACP, uwalnianie fluoru

Introduction. Fluoride varnishes are preparations containing high concentrations of fluoride, used in dentistry to treat and prevent dental caries, often enriched with calcium and phosphorus compounds. Their effectiveness is assessed by the amount of fluoride released over a certain period of time.

Objective. The aim of the study was to evaluate the dynamics of *in vitro* and *in vivo* fluoride ions release from the second generation (MI Varnish) fluoride varnish using the ORION model 9609 ion-selective electrode connected to the pH microcomputer/CPI - 551 Elmetron ionometer.

Materials and methods. *In vitro* study the test material (30 specimens) were prepared from extracted human teeth and divided into three groups of 10 specimens each. Measured amounts of the examined varnish were applied onto specimens and the levels of cumulative fluoride (F_{skum}) were assessed at the baseline and after 1, 2, 24, 48 and 168 h from the application with the use of an ion-specific electrode. The specimens were immersed into artificial saliva with pH adjusted to 4, 5 and 7. *In vivo* study the examined varnish was applied to the occlusal, buccal and palatal surfaces of all teeth of 10 volunteers. Levels of fluoride release were assessed in unstimulated saliva four times: at the baseline and after 1, 2 and 168 h from the application.

Results. *In vitro* study, the release of fluoride was significantly different in each hour and at each acidity of the environment ($p < 0,001$), with the highest amount of fluoride within the first two hours after application in each group and the highest cumulative release of fluoride in acidic environment (pH4). Under *in vivo* conditions, assuming salivary fluoride level as baseline $0,158 \pm 0,05$ ppm F, after 1 h following the application, the fluoride level increased 12-fold ($1,909 \pm 0,427$ ppm F), after 2 h it slightly dropped to 9-fold higher ($1,468 \pm 0,276$ ppm F) and after 168 h substantially dropped to the baseline ($0,195 \pm 0,08$ ppm F).

Conclusion. MI Varnish released fluoride ions for 168 hours both *in vitro* and *in vivo* conditions, with the highest fluoride release within the first hour after application. Under *in vitro* conditions the release of fluoride from the varnish was related to the acidity of the immersion medium and the time after application. Also, the interaction of pH and the time was statistically significant.

Key words: fluoride varnish, complex CPP-ACP, fluoride ions release

otrzymano / received:

06.09.2023

poprawiono / corrected:

15.09.2023

zaakceptowano / accepted:

19.09.2023

Wprowadzenie

Materiały i metody

Pierwsze informacje o wpływie fluoru na hamowanie procesu próchnicowego pojawiły się już w latach 30-tych XX wieku [1]. Mniejsza skuteczność kariostatyczna oraz toksyczność fluoru wymieniana jako działanie niepożądane przy metodzie endogennej [2-6] spowodowały, że obecnie preferuje się model egzogenny bazujący na podaży związków fluoru w postaci płynów, żeli, past, płukanek czy lakierów działających bezpośrednio na powierzchnię zębów po ich pojawieniu się w jamie ustnej [7-11]. Fluor dostarczany w taki sposób wspomaga remineralizację, hamuje demineralizację i zaburza metabolizm bakterii próchnicotwórczych [10, 12-16]. Niskie stężenia jonów fluorkowych, poniżej 50 ppm F, hamują rozpuszczanie związków mineralnych podczas ataków kwasów bakteryjnych i prowadzą do wnikania jonów fluorkowych w strukturę szkliwa i formowania małych kryształów fluoroapatytów na jego powierzchni. Wyższe stężenia, powyżej 100 ppm F, zapewniają powstawanie na powierzchni zębów i w płytce nazębnej precypitatów fluorku wapnia będącego rezerwuarem jonów fluoru uwalnianych podczas spadku pH w środowisku jamy ustnej [7, 10, 12, 17, 18]. Uważa się, że stały, długoterminowy dowóz niskich stężeń fluoru daje największą korzyści w zapobieganiu i leczeniu choroby próchnicowej [7, 14, 19, 20].

Do preparatów zawierających wysokie stężenia fluoru zaliczamy lakiery fluorkowe, które ze względu na skład dzielimy na lakiery pierwszej i drugiej generacji. Związkami czynnymi w tych preparatach są: 5% NaF, 0,9% difluorosilan lub 6% NaF w połączeniu z 6% CaF₂, a także eksperymentalny TiF₄ [21]. Należy jednak pamiętać, że lakiery różnych marek, pomimo tego samego stężenia fluoru (2,26% w przeliczeniu na fluorek sodu), mogą uwalniać różne ilości jonów fluorkowych. Lakiery drugiej generacji wzbogacono związkami wapnia i fosforu w postaci: kompleksu fosfopeptydu kazeiny i amorficznego fosforanu wapnia (CPP-ACP, CPP-ACPF), amorficznego fosforanu wapnia (ACP), fosforanu trójwapniowego (TCP), aktywnej postaci fosforanu trójwapniowego (FTCP), fosfokrzemianu sodowo-wapniowego (CSPS), trójmetafosforanu sodu (TMP) lub glicerofosforanu wapnia (CaGP) [10, 20, 22-25]. Skuteczność terapeutyczna lakierów pierwszej generacji szacuje się na około 33% dla zębów mlecznych i około 46% dla zębów stałych [26, 27, 28], natomiast lakiery drugiej generacji aktualnie nadal poddawane są ocenom klinicznym w celu określenia ich efektywności. Jednym z kryteriów tej oceny jest badanie poziomu uwalniania fluoru z warstwy zaaplikowanego na zęby lakieru w określonych przedziałach czasowych.

Cel badania

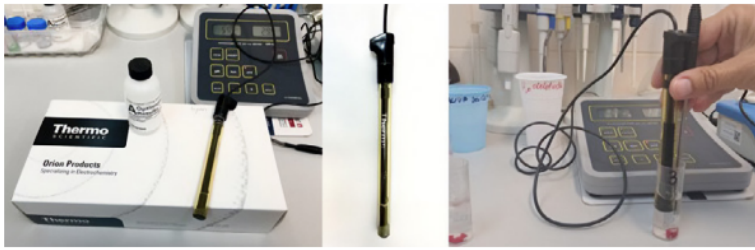
Ocena dynamiki uwalniania fluoru z lakieru fluorkowego drugiej generacji MI Varnish firmy GC w warunkach *in vitro* i *in vivo* za pomocą jonoselektywnej elektrody ORION model 9609 połączonej z mikrokomputerem pH/jonometrem CPI-551 Elmetron.

Do badania w warunkach *in vitro* i *in vivo* użyto lakieru fluorkowego drugiej generacji – MI Varnish firmy GC w formie opakowań typu „single-dose” zawierających 0,55 mg F/0,5 ml lakieru. W jego skład oprócz 5% NaF, wchodziły także kompleks fosfopeptydu kazeiny i amorficznego fosforanu wapnia (CPP-ACP), 30% etanol, polioctan winylu (PVA), kalafonia i dwutlenek krzemu. Badania *in vitro* przeprowadzono na 15 usuniętych ze wskazań ortodontycznych, pozbawionych próchnicy, defektów szkliwnych i demineralizacji zębach ludzkich (przedtrzonowcach i trzonowcach), po uzyskaniu wcześniej zgody pacjenta. Do momentu rozpoczęcia badania zęby przechowywano w zamkniętych szczelnie pojemnikach z roztworem tymolu. Przygotowanie próbek polegało na przecięciu każdego zęba wzdłuż długiej osi z pozostawieniem nienaruszonych powierzchni gładkich policzkowych i podniebiennych. Po optukaniu wodą destylowaną i osuszeniu, zostały one pokryte lakierem kwasoodpornym z pozostawieniem na powierzchni gładkiej policzkowej lub podniebiennej odstoniętego szkliwa o rozmiarze średnio 4 mm/4 mm, na które zaaplikowano lakier fluorkowy (Ryc. 1).



Ryc. 1 Przygotowane próbki pokryte lakierem kwasoodpornym z odstoniętym szkliwem w postaci okienka o wymiarach 4 mm/4 mm
Źródło: Opracowanie własne.

W celu dokładnego oszacowania ilości zaaplikowanego preparatu, próbki zostały dwukrotnie zważone, przed i po aplikacji, przy pomocy wagi laboratoryjnej Radwag, kalibrowanej z dokładnością do trzech miejsc po przecinku. Tak przygotowany materiał badawczy podzielono na 3 grupy, po 10 próbek w każdej i umieszczono w szczelnych, plastikowych pojemnikach zawierających 5 ml sztucznej śliny o różnym pH. Dla grupy A wartość pH była równa 4,0, dla grupy B wynosiła 5,0, natomiast w grupie C pH było równe 7,0. W skład sztucznej śliny wchodziły: NaCl (0,4 g), KCl (4,0 g), mocznik (1,0 g), Na₂S · 9H₂O (0,005 g), NaH₂PO₄ · 2H₂O oraz CaCl₂ · 2H₂O (0,795 g). Do uzyskania pH = 7,0 doprowadzono za pomocą 1 M NaOH, natomiast do pH = 4,0 i 5,0 za pomocą 1 M HCl. W trakcie trwania pomiarów próbki przechowywane były w temperaturze 37 stopni Celsjusza. Oznaczenie poziomu fluorków w środowisku sztucznej śliny wykonano pięciokrotnie, po upływie 1, 2, 24, 48 i 168 godzin, każdorazowo



Ryc. 2 Układ pomiarowy z jonoselektywną elektrodą ORION model 9609 połączoną z mikrokomputerem pH/jonometrem CPI – 551 Elmetron
Źródło: Opracowanie własne.

powtarzano je trzykrotnie, a następnie obliczano wartość średnią. W każdym przypadku, po upływie okresu pomiarowego, do oznaczeń wykorzystywano 5 ml eluatu, następnie osuszano próbkę i wprowadzano do świeżego roztworu sztucznej śliny. Do oznaczania jonów fluorkowych zastosowano jonoselektywną elektrodę ORION model 9609 połączoną z mikrokomputerem pH/jonometrem CPI – 551 Elmetron (Ryc. 2) zaliczaną do tzw. elektrod kombinowanych, czyli niewymagających osobnej elektrody odniesienia.

Przygotowanie elektrody do pomiaru polegało na jej napełnieniu tzw. roztworem wypełniającym (roztworem wewnętrznym) w celu zredukowania potencjałów złącza, a także określeniu tzw. współczynnika regresji, czyli wartości zmiany potencjału (w przypadku elektrody ORION powinna mieścić się w granicach 54-60 mV/dekadę). W celu zniwelowania błędów związanych z nieprawidłowym pH roztworu, system podlegał kalibracji przed każdym kolejnym oznaczeniem przy użyciu tzw. regulatora całkowitej siły jonowej (TISAB – *total ionic strength adjustment buffer*), który oprócz funkcji buforującej powoduje zdekompleksowanie fluorków oraz utrzymanie stałej siły jonowej tła. Po każdym pomiarze elektrodę opłukano wodą dejonizowaną, żeby usunąć ewentualne zabrudzenia. Pomiaru stężenia uwalnianych jonów fluorkowych wyrażano w ppm, które później przeliczano na $\mu\text{mol/L}$ oraz w odniesieniu do ilości na $\mu\text{g/mg}$ naniesionego lakieru. W badaniu zmierzono skumulowany, czyli całkowity w ciągu całego okresu obserwacji poziom ich uwalniania, przyrosty uwalniania w określonych przedziałach czasowych oraz w odniesieniu do jednostki czasu – 1 godziny.

W badaniach *in vivo* udział wzięło 10 ochotników w wieku od 18 do 40 roku życia z minimalnie 24 zębami własnymi. Za kryteria wykluczające uznano: zdiagnozowane zapalenie dziąseł lub/i przyzębia, aktywne, niezabezpieczone ubytki próchnicowe oraz obecne uzupełnienia protetyczne i aparaty ortodontyczne. Także osoby ze zdiagnozowaną astmą oskrzelową lub innymi chorobami dróg oddechowych, silną alergią oraz kobiety w ciąży nie były kwalifikowane do badania. Ochotnicy nie mogli być poddani jakiegokolwiek profilaktyce fluorkowej w okresie ostatnich 6 miesięcy. Stan jamy ustnej określano na podstawie badania klinicznego. Badany lakier został nałożony na powierzchnie żujące, policzkowe i podniebienne wszystkich zębów, które zgodnie z zaleceniami producenta zostały tylko wstępnie oczyszczone szczoteczką z miękkich osadów, a następnie osuszone, za

pomocą jednorazowych aplikatorów. Każdy pojedynczy pojemnik z lakierem został zważony przed i po przeprowadzonym zabiegu, w celu dokładnego określenia ilości zużytego materiału, przy pomocy wagi laboratoryjnej Radwag kalibrowanej do każdego pomiaru z dokładnością do trzech miejsc po przecinku. Po zakończeniu procedury zalecono powstrzymanie się od picia i jedzenia przez 2 godziny po zabiegu.

Pomiary poziomu fluoru wykonano czterokrotnie, tzn.: przed aplikacją lakieru (badanie 0), po godzinie (badanie 1), po 2 godzinach (badanie 2) oraz po 168 godzinach (badanie 3) po aplikacji, zbierając za każdym razem do próbówki 5 ml śliny mieszanej niestymulowanej. Podobnie jak w badaniu *in vitro* do oznaczania jonów fluorkowych w odwirowanej ślinie mieszanej zastosowano jonoselektywną elektrodę ORION model 9609 połączoną z mikrokomputerem pH/jonometrem CPI – 551 Elmetron. Najniższą wartością określającą poziom jonów fluorkowych w roztworze wykrywaną przez elektrodę było 0,002 ppm. System podlegał kalibracji przed każdym kolejnym oznaczeniem. Oznaczanie poziomu fluorków powtarzano trzykrotnie i obliczano wartość średnią. Stężenie jonów fluoru określano w $\mu\text{mol/L}$, które później przeliczano na ppm oraz w odniesieniu do ilości na $\mu\text{g/mg}$ naniesionego lakieru.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono przy użyciu programu STATISTICA, wersja 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, Kalifornia, USA). Weryfikację normalności zmiennych ilościowych przeprowadzono testem Shapiro-Wilka, a jednorodności wariancji testem Levene'a. Wyniki przedstawiono jako średnie i odchylenia standardowe. Średnie grupowe porównano za pomocą jednoczynnikowej analizy ANOVA z testem *post-hoc* Tukeya. Do określenia interakcji pomiędzy pH i czasem od aplikacji zastosowano analizę wariancji w układzie dwuczynnikowym. Weryfikowana hipoteza zakładała, że w badaniu *in vitro* nie istnieją istotne statystycznie różnice w uwalnianiu jonów fluorkowych w zależności od czasu po aplikacji i pH sztucznej śliny oraz że między tymi kontrolowanymi czynnikami nie występuje interakcja, natomiast w badaniu *in vivo*, że czas od aplikacji nie wpływa na stężenie fluoru w ślinie. We wszystkich testach statystycznych przyjęto poziom istotności $p < 0,05$. Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (KB 45/2016).

Wyniki

Badanie *in vitro*

Średnie ilości badanego lakieru w trzech grupach nie różnią się od siebie istotnie ($p = 0,365 > 0,05$). Podobne wnioski dotyczą średniej objętości lakieru ($p = 0,365 > 0,05$) oraz średniej zawartości fluoru w lakierze ($p = 0,386 > 0,05$), co przedstawiono w tabeli 1.



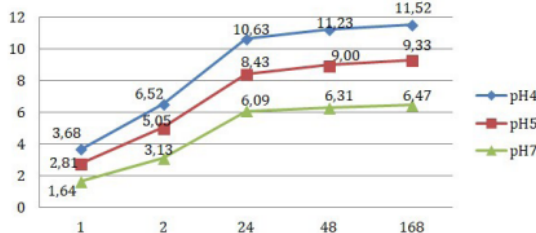
Tabela 1 Lakier MI Varnish – wartości średnie (± odchylenie standardowe) ilości lakieru, objętości lakieru i zawartości fluoru aplikowanego na powierzchni próbek w trzech grupach różniących się pH sztucznej śliny oraz wyniki analizy wariancji (ANOVA) – badanie *in vitro*

pH sztucznej śliny	ilość lakieru (mg)	objętość lakieru (ml)	zawartość fluoru (mg) w zaaplikowanym lakierze
4	7,8 ± 0,8	0,0055 ± 0,0005	0,123 ± 0,012
5	7,9 ± 0,7	0,0055 ± 0,0005	0,125 ± 0,011
7	8,0 ± 0,6	0,0056 ± 0,0004	0,126 ± 0,010
ANOVA: p-value	0,365	0,365	0,386

Źródło: Opracowanie własne.

Na wykresie poniżej (Ryc. 3) przedstawiono graficznie skumulowane uwalnianie fluoru po aplikacji lakieru MI Varnish do środowiska sztucznej śliny o różnym pH wyrażone w ppm. W okresie 168 godzin badania najwięcej fluoru zostało uwolnionego w środowisku kwaśnym o pH4 i wyniosło 11,52 ppm F, nieco niższe wartości odczytano dla pH5 na poziomie 9,33 ppm F. Najniższe skumulowane uwalnianie fluoru zaobserwowano w przypadku medium o pH7, które wynosiło 6,47 ppm F.

Skumulowane uwalnianie fluoru - MiVarnish



Ryc. 3 Skumulowane uwalnianie fluoru dla lakieru MI Varnish (ppm) w okresie 168 godzin w trzech środowiskach (pH4, pH5, pH7)

Źródło: Opracowanie własne.

Uwalnianie fluoru z lakieru MI Varnish w środowiskach o różnych kwasowościach różniło się już po pierwszej godzinie, a najwyższe przyrosty uwalnianego fluoru odnotowano w ciągu pierwszych dwóch godzin obserwacji, co stanowiło średnio 50% z całkowitej ilości mierzonego fluoru. Z kolei po 24 godzinach było to już ponad 90%. Opierając się na wynikach analizy wariancji i testów post-hoc, skumulowane uwalnianie fluoru z badanego lakieru różniło się istotnie w każdej godzinie obserwacji i przy każdej kwasowości środowiska ($p < 0,001$), co pokazuje tabela 2.

Tabela 2 Skumulowane uwalnianie fluoru z trzech środowisk w kolejnych godzinach obserwacji oraz wyniki analizy wariancji (ANOVA) i testów post-hoc w badaniu *in vitro*

Lakier	Godz.	pH4 N = 10	pH5 N = 10	pH7 N = 10	ANOVA p	pH		
						4 vs. 5	4 vs. 7	5 vs. 7
MV	1	3,68 ± 0,21	2,81 ± 0,21	1,64 ± 0,20	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	2	6,52 ± 0,79	5,05 ± 0,71	3,13 ± 0,35	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	24	10,63 ± 0,77	8,43 ± 0,70	6,09 ± 0,47	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	48	11,23 ± 0,80	9,00 ± 0,75	6,31 ± 0,43	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	168	11,52 ± 0,84	9,33 ± 0,77	6,47 ± 0,43	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

MV – MiVarnish, N – liczba próbek w grupie

Źródło: Opracowanie własne.

W tabeli 3 zamieszczono wyniki analizy wariancji dla klasyfikacji dwuczynnikowej do oceny wpływu dwóch parametrów, tj. pH sztucznej śliny i czasu od aplikacji lakieru, na ilość skumulowanego fluoru ($F_{skum.}$) oraz oceny istniejących pomiędzy nimi interakcji.

Tabela 3 Wyniki dwuczynnikowej analizy wariancji skumulowanego F (ppm) w badaniu *in vitro*

Efekt (źródło zmienności)	Suma kwadratów odchyłeń	Liczba stopni swobody	Średnie kwadraty	Statystyka F	Poziom istotności p
Wyraz wolny	6915	1	6915	18718	<0,001
pH	398,8	2	199,4	539,7	<0,001
czas	969,5	4	242,4	656,1	<0,001
pH x czas	32,62	8	4,077	11,04	<0,001
Błąd	49,87	135	0,369		

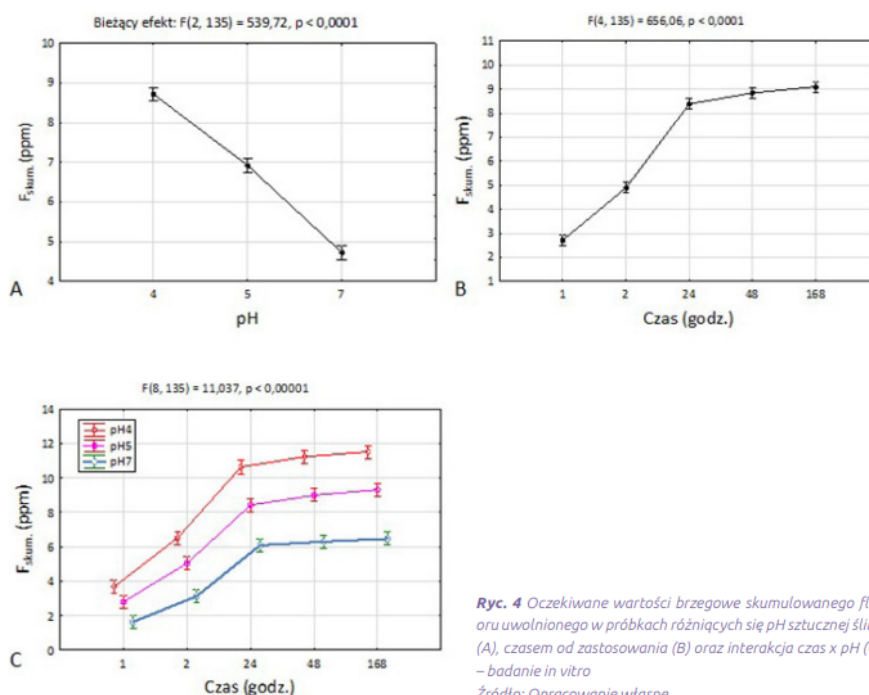
Źródło: Opracowanie własne.

Uzyskane dane potwierdzają wysoce istotny wpływ obu zmiennych niezależnych na ilość uwalnianego fluoru oraz interakcję pH i czasu ($p < 0,001$), co umożliwia odrzucenie hipotezy zerowej mówiącej, że poziomy $F_{skum.}$ nie zależy od pH środowiska i czasu od aplikacji. Zarówno pH, jak i czas istotnie różnicują średni skumulowany poziom fluoru. Skumulowane uwalnianie fluoru zmniejszało się liniowo ze wzrostem pH medium i wzrastało z czasem, do 24 godzin bardzo szybko, a następnie zdecydowanie wolniej. Również interakcja pH x czas okazała się istotna statystycznie. Wpływ jednego czynnika (pH) na uwalnianie fluoru zależał od drugiego (czasu). Przedstawiono to graficznie na wykresach poniżej (Ryc. 4). Dla pH7 uwalnianie F przebiegało wolniej w porównaniu z pH4 i pH5.

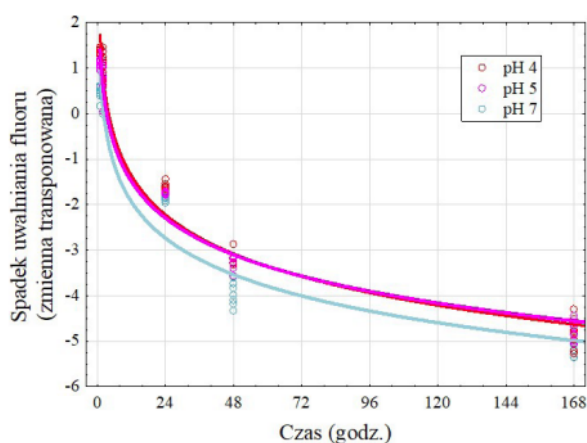
W każdej badanej grupie, niezależnie od pH medium, fluor był uwalniany przez cały okres trwania eksperymentu, przy czym szybkość jego uwalniania zmniejszała się w czasie. Spadek tempa uwalniania fluoru z lakieru MI Varnish dla trzech wartości pH przedstawiono na wykresie (Ryc. 5) jako funkcję logarytmu czasu. Ilość fluoru mierzona w ppm została przetransformowana w nową zmienną UF_{wg} zależności:

$$UF = ((F_{ppm}^{0,075827}) - 1) / (0,075827)$$

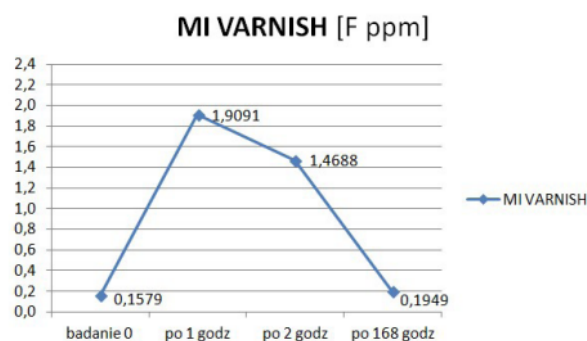
Do transformacji wykorzystano metodę Boxa-Coxa i program STATISTICA v. 13.3. Analiza danych z wykresu pokazuje, że spadek uwalniania fluoru wyrażony przez zmienną transponowaną UF przy pH7 jest znacznie szybszy niż przy pH4 i pH5.



Ryc. 4 Oczekiwane wartości brzegowe skumulowanego fluoru uwolnionego w próbkach różniących się pH sztucznej śliny (A), czasem od zastosowania (B) oraz interakcja czas x pH (C) – badanie *in vitro*
Źródło: Opracowanie własne.



Ryc. 5 Spadek uwalniania fluoru w funkcji czasu od zastosowania w trzech środowiskach śliny różniących się pH – badanie *in vitro*
Źródło: Opracowanie własne.



Ryc. 6 Stężenie jonów fluoru (ppm) w ślinie mieszanej mierzone przed i po aplikacji lakieru w okresie do 168 godzin – badanie *in vivo*
Źródło: Opracowanie własne.

Badania *in vivo*

Średnia ilość badanego lakieru wynosiła $0,304 \pm 0,119$ g, co odpowiadało $0,214 \pm 0,083$ ml, natomiast średnia zawartość fluoru w lakierze kształtowała się na poziomie $4,8262 \pm 1,880$ mg. Różnice pomiędzy poszczególnymi próbkami nie były istotne statystycznie.

Początkowy poziom fluoru w ślinie mieszanej oznaczony przed aplikacją wynosił średnio $0,158 \pm 0,05$ ppm F i ważył się od $0,102$ do $0,270$ ppm F. Na wykresie poniżej (Ryc. 6) przedstawiono graficznie uwalnianie fluoru w warunkach *in vivo* w ciągu 168 godzin. Najwyższy poziom fluoru w ślinie zanotowano po pierwszej godzinie po aplikacji równy $1,909 \pm 0,427$ ppm F, co oznacza ponad 15-krotny wzrost w stosunku do wartości początkowej. W drugiej godzinie po aplikacji ilość jonów fluorkowych w niewielkim stopniu zmniejszyła się do poziomu $1,468 \pm 0,276$ ppm F, co nadal w odniesieniu do badania 0 było 9-krotnie wyższe. Po 168 godzinach badania poziom jonów fluorkowych spadł do wartości $0,195 \pm 0,08$, która była zbliżona do wartości wyjściowej. W niektórych przypadkach poziom ten był nieznacznie niższy niż w badaniu początkowym lub nieznacznie wyższy.

Wynik jednoczynnikowej analizy wariancji weryfikujący hipotezę, że czas od aplikacji nie wpływa na stężenie F, okazał się bardzo istotny ($p < 0,001$). Testy *post-hoc* (Tukey'a) wykazały, że istotne statystycznie różnice w średnim stężeniu fluoru występowały między wszystkimi punktami czasowymi pomiarów z wyjątkiem badania 0 (przed aplikacją) i po 168 godzinach po aplikacji ($p = 0,989$). Maksymalną zmianę stężenia F względem stanu początkowego odnotowano po



godzinie (0,158 ppmF vs. 1,909 ppmF; wzrost o 1,751 ppmF; $p < 0,001$), różnica między pierwszą i drugą godziną była mniejsza (1,909 ppmF vs. 1,469 ppmF; spadek o 0,240 ppmF; $p = 0,003$), a po 168 godzinach różnica względem stanu wyjściowego okazała się nieistotna (0,158 ppmF vs. 0,195 ppmF, wzrost o 0,037 ppmF; $p = 0,989$).

Przeprowadzono również analizę wariancji w układzie dwuczynnikowym, przyjmując jako kryterium ilość lakieru MI Varnish, której wyniki umieszczono w tabeli poniżej (Tabela 4). Jako wartość graniczną przyjęto 0,2 ml lakieru (mediana). Jedynym czynnikiem wpływającym istotnie na stężenie F (ppm) okazał się czas od aplikacji. Wyjściowa ilość lakieru MI Varnish oraz interakcja lakier x czas okazały się nieistotne.

Tabela 4 Wyniki dwuczynnikowej analizy wariancji w badaniu *in vivo*

Efekt (źródło zmienności)	Suma kwadratów odchylen	Liczba stopni swobody	Średnie kwadraty	Statystyka F	Poziom istotności p
Wyraz wolny	34,796	1	34,80	466,8	<0,001
Lakier (ml)	0,0004	1	0,000	0,005	0,942
Czas (h)	23,854	3	7,951	106,7	<0,001
Lakier x Czas	0,0255	3	0,008	0,114	0,951
Błąd	2,3851	32	0,075		

Źródło: Opracowanie własne.

Dyskusja

Działanie lakierów fluorkowych polega z jednej strony na inkorporacji fluoru do sieci krystalicznej hydroksyapatytu i tworzeniu fluorohydroksyapatytu, natomiast z drugiej strony na gromadzeniu na powierzchni szkliwa w formie granulek fluorku wapnia CaF_2 – tzw. rezerwuaru fluoru – stabilizowanego poprzez białka błonki nabytej zębowej (pellicle) i fosforany [12, 13, 17, 23, 25, 29-33]. Zmiany pH środowiska jamy ustnej w kierunku jego zakwaszenia powodują rozpuszczanie CaF_2 i uwalnianie jonów fluorkowych [12, 25, 34]. Proces ten trwa do momentu, kiedy poziom fluoru spadnie poniżej 100 ppm lub pH w jamie ustnej wzrośnie do wartości neutralnej [8, 12, 17, 22, 31, 35-39]. W następstwie aplikacji lakieru więcej fluoru zatrzymuje się na zdemineralizowanej niż zdrowej powierzchni, przyczyniając się do aktywacji remineralizacji i hamowania demineralizacji [40, 41]. Według Tenuta i wsp. [32] ilość powstałego na powierzchni szkliwa CaF_2 ma bezpośredni wpływ na poziom uwalnianego fluoru, którego stężenie obserwuje się w ślinie i płytce nazębnej. Dotychczasowe badania wskazują, że lakiery fluorkowe wzbogacone jonami wapnia i fosforanowymi mogą wykazywać większą skuteczność terapeutyczną w porównaniu z lakierami pierwszej generacji [42]. Ta złożona formuła preparatów fluorkowych może mieć wpływ na ilość uwalnianego i wchłanianego fluoru, sprzyja skuteczniejszemu zamykaniu kanalików zębinowych, przez co znajduje również zastosowanie w terapii nadwrażliwości zębiny oraz ułatwia stabilizację poziomu pH w jamie ustnej [7]. Jest to także źródło biodostępnych jonów wapnia i fosforanowych, których ilość zarówno w ślinie, jak i w tkankach twardych zębów jest ograniczona, a które uwalniane

w odpowiednich proporcjach, polepszają retencję CaF_2 i zwiększają możliwości remineralizacyjne [9, 24, 43-49]. Według wielu badaczy [29, 39, 43, 44, 45, 50-55] kompleks fosfopeptydu kazeiny z amorficznym fosforanem wapnia (CPP-ACP oraz CPP-ACPF) stanowi najlepszą technologię umożliwiającą stabilne połączenie wysokich stężeń jonów wapnia, fosforanowych i fluorkowych z powierzchnią zęba i płytką nazębną, utrzymując ich biodostępność i umożliwiając im swobodne przemieszczanie się w głąb szkliwa. Sprzyja to zdaniem badaczy [50, 56, 57] remineralizacji także podpowierzchniowej warstwy próchnicy. Cochrane i wsp. [46] oraz Reynolds i wsp. [48] zwracają uwagę na dwa równoległe mechanizmy działania CPP-ACP/CPP-ACPF w zależności od miejsca przebiegu reakcji, tzn. albo na powierzchni zmiany, albo w podpowierzchniowej warstwie zmiany (*body of the lesion*). W przypadku *body of the lesion* wielkość nanocząsteczek kompleksu i ich elektroobojętność pozwalają na wnikanie w porowatość podpowierzchniowej warstwy zmiany i dyfuzję w głąb zgodnie z gradientem stężeń, co potwierdziły badania za pomocą konfokalnego mikroskopu laserowego [46]. Prowadzi to do uwolnienia słabo związanych jonów fluorkowych, wapniowych i fosforanowych oraz ich przyłączenie do apatytów, tworząc hydrokso-, fluorohydrokso- lub fluoroapatyty. Z drugiej strony te nanokompleksy, które przyłączają się tylko do powierzchni zęba lub płytki nazębnej, łatwiej ulegając rozpuszczeniu, nie będą wbudowywały się w strukturę tkanki, tylko podniosą poziom dostępności ich w jamie ustnej. Zgodne jest to z badaniami Crossa i wsp. [58], którzy za pomocą obrazów z mikroskopu elektronowego stwierdzili obecność nanokompleksów CPP – ACP w naddziąstkowej płytce nazębnej, a także na powierzchni komórek bakteryjnych *Streptococcus mutans*.

W badaniu własnym użyto lakieru fluorkowego MI Varnish firmy GC, który wykorzystuje opatentowaną technologię Recaldent. Oznacza to, że oprócz 5% fluorku sodu zawiera także kompleks fosfopeptydu kazeiny z amorficznym fosforanem wapnia (CPP – ACP). W jego skład wchodzi białko pochodzące z mleka będące źródłem łatwo przyswajalnych jonów wapnia promujących remineralizację oraz jony fosforanowe działające jako bufor pH. Fosfopeptydy kazeiny (CPP) za pomocą sekwencji fosfoserylowych tworzą nanokompleksy stabilizujące amorficzny fosforan wapnia (ACP) i ułatwiające mu przyłączenie się do powierzchni szkliwa [29, 39, 53, 57, 59, 60]. Badany lakier MI Varnish, dzięki dość płynnej konsystencji, wykazywał stosunkowo dużą łatwość zapływania do trudno dostępnych miejsc, w tym do powierzchni stycznych, co według Attina i wsp. [61] zwiększa skuteczność działania lakieru nawet na tych powierzchniach, które nie zostały bezpośrednio nim pokryte. Aplikacja z pojedynczych pojemników umożliwia szybką i bezpieczną podaż, co z kolei według Shen i wsp. [35] skutkuje większą jednorodnością porcji, a według innych autorów [12, 62] zabezpiecza przed przedawkowaniem fluoru. Ze względu na stosunkowo krótką retencję lakierów do powierzchni zębów spowodowaną działaniem mięśni policzkowych oraz języka, uaktywniających się w trakcie jedzenia, picia, połykania, mówienia czy zabiegów higienizacyjnych, czas trwania badania ograniczono do 168 godzin, przy czym



odczyty trzech z pięciu punktów pomiarowych dla warunków *in vitro* i trzech z czterech dla *in vivo* odbyły się w ciągu pierwszych 24 godzin. Jest to zgodne z obserwacjami innych badaczy, według których jest to okres maksymalnego utrzymania lakieru na powierzchni zębów, a jednocześnie najbardziej dynamicznego uwalniania jonów [30, 63].

W przeprowadzonym badaniu oceniano uwalnianie jonów fluoru z lakieru MI Varnish w warunkach *in vitro* i *in vivo* oraz wpływ w warunkach *in vitro* pH sztucznej śliny i czasu od aplikacji na ten proces.

Jedną z ważniejszych metod pomiaru ilości jonów fluoru w roztworze jest badanie potencjometryczne z użyciem elektrody jonoselektywnej [64-66]. Zasady działania elektrody fluorkowej opierają się na pomiarze jej potencjału, który jest zależny od stężenia wolnych jonów fluorkowych w roztworze. Powstaje on w miejscu zetknięcia się elektrody, a konkretniej elementu jonoczułego z roztworem zawierającym jony fluorkowe, a następnie mierzony jest za pomocą miernika pH/mV [67]. W prawidłowym pomiarze fluorków dużą rolę odgrywa pH roztworu. Przy pH kwaśnym, czyli poniżej 5,0, część fluorków będzie wiązana przez jon wodorowy, co w efekcie może utrudniać interakcje fluorku z elektrodą i zakłócać wyniki. Natomiast w zasadowym pH problem się pojawi, gdy ilość jonów hydroksylowych będzie większa niż 1/10 stężenia fluorków. Optymalne pH roztworów, przy którym wynik będzie wiarygodny, wynosi 5,0-5,5 [64, 66, 67]. W celu uzyskania odpowiedniego pH w badaniu użyto regulatora całkowitej siły jonowej (TISAB – *total ionic strength adjustment buffer*), który między innymi miał za zadanie buforować roztwór [66, 67].

W badaniu *in vivo* wykazano znaczący wzrost poziomu fluoru w ślinie bezpośrednio po aplikacji lakieru, przy czym maksymalne wartości zanotowano po pierwszej godzinie. W 168 godzinie zauważono spadek stężenia fluoru do poziomu równego wartości początkowej lub tylko nieznacznie wyższej. Jest to zgodne z wcześniejszymi badaniami [31], przy czym u części badaczy maksymalne uwalnianie jonów fluorkowych miało miejsce nie w pierwszej, a w drugiej godzinie doświadczenia. Są też takie prace, w których podwyższony poziom fluoru utrzymywał się znacznie dłużej, jak u Tweetmana i wsp. [68] do 6 godzin po aplikacji, u Castillo i wsp. [35, 69] do trzeciego tygodnia po aplikacji, a u Comara i wsp. [70], Eakle i wsp. [51], Ritwicka i wsp. [71] aż do 6 miesięcy. Dane uzyskane w badaniu zwracają uwagę na słuszność założenia, że dynamiczne uwalnianie wysokich stężeń fluorku w ciągu pierwszych godzin po aplikacji w obecności jonów wapnia, umożliwia formowanie na powierzchni szkliwa i w płycie nazębnej ziarnistości w postaci fluorku wapnia. Ten rezerwuar fluorku w sytuacji krytycznej, do której dochodzi przy spadku pH w jamie ustnej, będzie uwalniał jony biorące udział w remineralizacji, hamując demineralizację i zaburzając metabolizm i mechanizmy adhezji bakterii próchnicotwórczych, zgodnie z założeniem, że stały, długoterminowy dowóz niskich stężeń fluorku daje najwięcej korzyści terapeutycznych [7, 10, 12, 14, 17-20].

W badaniu *in vitro* w każdej grupie maksymalny poziom uwalnianych jonów fluorku uzyskano w pierwszej godzinie po aplikacji

bez względu na pH medium, przy czym zdecydowanie wyższe stężenie fluorku było w środowisku kwaśnym w porównaniu do środowiska neutralnego. Analizując przyrosty uwalnianego fluorku w czasie, można było zauważyć największe wartości na początku eksperymentu, czyli w pierwszym i drugim przedziale czasowym, z wyraźną tendencją malejącą po 24 godzinach. Jest to zgodne z wcześniejszymi badaniami [22, 31, 33, 35, 39, 69], które wykazały największe uwalnianie fluorku z lakierów fluorkowych w ciągu pierwszych godzin po aplikacji, przy czym u Comara i wsp. [70] w ciągu trzech godzin, a u Milburn i wsp. [39] – czterech. W badaniu własnym dynamika ta zmniejszała się z czasem liniowo aż do 168 godziny. Należy jednak podkreślić, że w innych badaniach trwających dłużej, uwalnianie fluorku było obserwowane nawet do 6 miesięcy [22, 31, 33, 35, 39, 69]. W badaniach własnych zwrócono również uwagę na wpływ pH środowiska na uwalnianie fluorku. Okazuje się, że nie jest on jednakowy dla wszystkich preparatów fluorkowych, na co zwracają uwagę inni badacze [72, 73]. Porównując różne środki z zawartością fluorku wykazali, że tylko część z nich będzie reagowała na spadek pH wzrostem uwalniania jonów fluorkowych. W przypadku lakieru MI Varnish uzyskane wyniki jednoznacznie pokazały, że w środowisku kwaśnym uwalnianie jonów fluorkowych przebiega dużo bardziej dynamicznie, a uzyskane wyniki są zdecydowanie wyższe niż w warunkach neutralnych. Przyrosty uwalniania fluorku w czasie, jak i skumulowane uwalnianie fluorku było wyższe w środowisku kwaśnym, zarówno dla pH = 4, jak i pH = 5, w porównaniu ze środowiskiem o pH 7. Uzyskane wyniki analizy regresji wykazały, że spadek uwalniania fluorku był związany zarówno z czasem, jak i pH środowiska sztucznej śliny, a wynik oddziaływania na skumulowaną ilość uwolnionego fluorku poziomu jednego czynnika zależę od poziomu drugiego.

Na uwagę zasługuje również fakt, iż w środowisku kwaśnym ponad 90% z całkowitej ilości uwolnionego fluorku zostało uwolnione w ciągu pierwszych 24 godzin po aplikacji lakieru, w porównaniu z 70% w środowisku o pH 7. Uzyskane dane są niższe niż w przypadku badań Cochrane i wsp. [74], gdzie MI Varnish po 24 godzinach doświadczenia uwolnił aż 97% całkowitego fluorku. Przyczynę tego zjawiska upatrują w wysokiej rozpuszczalności kompleksu CPP-ACP/CPP – ACPF w wodzie [74], natomiast inni badacze [33, 37, 69, 73-77] są zdania, że to głównie rodzaj żywicy, obecność polimeru polioctanu winylu, czyli tzw. PVA i etanolu, konsystencja, jednorodność, lepkość lakieru czy też rozmiar cząsteczek będą miały wpływ na szybkość i specyfikę uwalniania jonów. I chociaż wykazano już wcześniej, że bezkrytyczne zwiększanie ilości fluorku w lakierze nie jest jednoznaczne z lepszą skutecznością terapeutyczną [78], ponieważ znaczna jego część jest natychmiast wypłukiwana z jamy ustnej, to jednak uwolnienie w ciągu pierwszych 24 godzin dużej ilości jonów fluorku i wapnia stanowi teoretycznie bogate ich źródło, które może mieć istotny wpływ na stopień wysycenia rezerwuaru CaF₂. Jest to zgodne z opinią Ritwicka i wsp. [71], którzy uważają, że wysoki początkowy poziom fluorku związany z ilością uwolnionych jonów z warstwy lakieru w pierwszych godzinach po aplikacji zwiększa jego biodostępność i ma bezpośrednio wpływ na jego skuteczność terapeutyczną. Dodatkowo lakier MI Varnish,



uwalniając jednocześnie jony wapniowe, stwarza dogodne warunki do wychwytu dużej ilości uwolnionego fluoru i związanie go na powierzchni szkliwa w postaci granulek fluorku wapnia, które w przyszłości będą źródłem długoterminowego dowozu niskich stężeń fluoru do środowiska jamy ustnej.

Udowodnione przeciwróchnicowe działanie fluoru zachęca do stosowania lakierów fluorkowych. Ze względu na różnorodność stosowanych preparatów, ich skuteczność i bezpieczeństwo, a także mechanizm działania oraz czynniki mające na to wpływ nadal stanowią temat wielu eksperymentów i doświadczeń. Podczas pomiarów w warunkach *in vitro* niezwykle ważne jest jak najdokładniejsze odwzorowanie warunków symulujących jamę ustną w celu wyeliminowania zmienności eksperymentalnych oraz drobiazgową standaryzację na każdym etapie procedury. Mechanizm uwalniania fluoru w warunkach *in vivo* wymaga z kolei analizy dużej ilości zmiennych czynników, które czynią ten proces bardzo trudnym do zdefiniowania, tj.: szybkość wydzielania śliny, jej skład chemiczny, pH, ilość biodostępnych jonów wapnia i fosforanowych, zmienne warunki retencji fluoru [78]. Pomiar fluorków przez elektrodę jonoselektywną jest metodą powszechnie stosowaną z uwagi na trudności w oznaczaniu fluoru innymi sposobami [64]. Jest ona stosunkowo szybka i prosta w użyciu [65], ale należy też pamiętać o tym, iż urządzenie ma swoje ograniczenia, co może wpływać na uzyskane wyniki. Są to między innymi: minimalne stężenie roztworu, przy którym wyniki będą obiektywne, wynoszące 10^{-6} mola (0,02 ppm), dłuższy czas odpowiedzi elektrody w roztworach o niskim stężeniu dochodzący nawet do kilku minut, w porównaniu do kilku sekund przy roztworach bardziej stężonych, optymalne pH roztworów, zbliżona temperatura badanych próbek oraz odpowiednie przygotowanie samej elektrody przed pomiarem [65]. Pomimo iż w opinii niektórych badaczy [80] ilość fluoru uwalnianego przez lakier fluorkowy nie stanowi pełnego wykładnika jego efektywności i bezpieczeństwa, inni autorzy [71] podkreślają rolę wysokiego początkowego poziomu fluoru po aplikacji lakieru dla jego biodostępności i możliwości kumulowania w jamie ustnej, co będzie miało wpływ na skuteczność terapeutyczną.

Piśmiennictwo

1. L. Strohmenger, E. Brambilla: *The use of fluoride varnishes in the prevention of dental caries: a short review*, Oral Diseases, 7(2), 2001, 71-80.
2. I. Błaszczak, E. Ratajczak-Kubiak, E. Birkner: *Korzystne i szkodliwe działanie fluorków*, Farm Pol, 65(9), 2009, 623-626.
3. S. Peckham, D. Lowery, S. Spencer: *Are fluoride levels in drinking water associated with hypothyroidism prevalence in England? A large observational study of GP practice data and fluoride levels in drinking water*, J Epidemiol Community Health, 69(7), 619-624.
4. D.M. O'Mullane, R.J. Baez, S. Jones et al.: *Fluoride and Oral Health*, Community Dent Health, 33(2), 2016, 69-99.
5. E. Dąbrowska, M. Balunowska, E. Letko: *Zagrożenia wynikające z nadmiernej podaży fluorków*, Nowa Stomat., 4(18), 2001, 22-27.
6. European Commission: *Directorate-General for Health & Consumers. Scientific Committee on Health and Environmental Risks*. SCHER: *Critical review of any new evidence on the hazard profile, health effects, and human exposure to fluoride and the fluoridating agents of drinking water*, SCHER 16.05.2011.
7. D. Olczak-Kowalczyk, A. Mielczarek, T. Jackowska et al.: *Środki fluorkowe w zapobieganiu i leczeniu próchnicy i erozji zębów u dzieci, młodzieży i dorosłych – rekomendacje Polskich Ekspertów. Aktualizacja zaleceń: Indywidualna profilaktyka fluorkowa u dzieci, młodzieży – rekomendacje Polskich Ekspertów. Fluoride agents in the prevention and treatment of dental caries and erosion in children, adolescents and adults – recommendations of Polish Experts. Update of recommendations: Individual fluoride prevention in children and adolescents – recommendations of Polish Experts*, Nowa Stomatol, 27(2), 2022, 35-59.
8. D. Olczak-Kowalczyk et al.: *Dental Caries Level and Sugar Consumption in 12-Year-Old Children from Poland*, Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wrocław Medical University, 25(3), 2016, 545-550.
9. C. Longbottom, K. Ekstrand, D. Zeroc, M. Kambarad: *Novel Preventive Treatment Options*, Monogr Oral Sci., 21, 2009, 156-163.
10. U. Kaczmarek, T. Jackowska, M. Mielnik-Błaszczak, A. Jurczak, D. Olczak-Kowalczyk: *Indywidualna profilaktyka fluorkowa u dzieci i młodzieży – rekomendacje polskich ekspertów*, Nowa Stomatol, 24(2), 2019, 70-85.
11. O. Fejerskov: *Changing paradigms in concept on dental caries: consequences for oral health care*, Caries Res., 38(3), 2004, 182-191.
12. A. Turska-Szybka, D. Olczak-Kowalczyk: *Zastosowanie środków profilaktycznych z wysokim stężeniem fluorków u dzieci i młodzieży. Możliwości i ograniczenia*, Nowa Stomatologia, 3, 2012, 102-107.
13. C.M. Carey: *Focus on fluorides, Update on the use of fluoride for the prevention of dental caries*, J Evid Based Dent Pract., 14, 2014, 95-102.
14. D. Bonetti, J.E. Clarkson, *Fluoride Varnish for Caries Prevention: Efficacy and Implementation*, Caries Res 50(1), 2016, 45-49.
15. A. Mielczarek, J. Michalik, M. Kujawa: *Wpływ wybranych preparatów fluorowych na mikrostrukturę szkliwa z wczesnymi zmianami próchnicowymi*, Nowa Stomatologia, 3, 2013, 120-124.
16. *Guideline of fluoride therapy. Reference manual*, American Academy of Pediatric Dentistry, 37(6), 2015/2016, 176-179.
17. U. Kaczmarek: *Mechanizmy kariostatycznego działania fluorków*, Czas Stomatol, 6, 2005, 404-413.
18. S. Kozaczuk: *Fluoryzacja dogłębna w profilaktyce i leczeniu próchnicy: stosowanie preparatu Tiefenfluorid junior u dzieci. Opisy przypadków*, Nowa Stomatologia, 1, 2020, 15-25.
19. R. Elwood, O. Fejerskov, J.A. Cury, B. Clarkson: *Fluoride in caries control*, [in:] O. Fejerskov, E. Kidd (eds.): *Dental caries: The disease and its clinical management*, Oxford: Blackwell publishing, 2008, 287-328.
20. D. Olczak-Kowalczyk, M. Borysewicz-Lewicka, B. Adamowicz-Klepalska, T. Jackowska, U. Kaczmarek: *Consensus statement of Polish experts on individual caries prevention with fluoride in children and adolescents*, Nowa Stomatologia, 1, 2016, 47-72.
21. B. Souza, D. Santos, A. Braga, N. Santos, D. Rios, M. Buzalaf, A. Magalhães: *Effect of a Titanium Tetrafluoride Varnish in the Prevention and Treatment of Carious Lesions in the Permanent Teeth of Children Living in a Fluoridated Region: Protocol for a Randomized Controlled Trial*, JMIR Res Protoc., 7(1), 2018, 26.
22. D. Piesiak-Panczyszyn, A. Watras, R.J. Wiglus, M. Dobrzynski: *In Vitro Comparison of the Fluoride Ion Release from the First- and Second-Generation Fluoride Varnishes*, Appl. Sci., 13, 2023, 7327.
23. M. Clifton, B.A. Carey: *Focus on fluorides: update on the use of fluoride for the prevention of dental caries*, J Evid Base Dent Pract., 14(1), 2014, 95-102.



24. M.M. Manarelli, A.C.B. Delbem et al.: *Fluoride and sodium trimetaphosphate (TMP) release from fluoride varnishes supplemented with TMP*, Brazilian Oral Research, 30(1), 2016, 64.
25. T.S. Carvalho, B.G. Peters, D. Rios et al.: *Fluoride varnishes with calcium glycerophosphate: fluoride release and effect on in vitro enamel demineralization*, Brazilian Oral Research, 29(1), 2015, 1-6.
26. S. Twetman, M.K. Keller: *Fluoride Rinses, Gels and Foams: An Update of Controlled Clinical Trials*, Caries Res, 50(1), 2016, 38-44.
27. B. Dikmen: *ICDAS II criteria (international caries detection and assessment system)*, J Istanbul Univ Fac Dent, 49(3), 2015, 63-72.
28. V.C.C. Marinho, H.V. Worthinto, T. Walsh, J.E. Clarkson: *Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents*, Cochrane Database Syst Rev., 7, 2012, CD002279.
29. K. Jafari, S. Hekmatfar, M. Fereydzadeh: *In vitro comparison of antimicrobial activity of conventional fluoride varnishes containing xylitol and casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate*, Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry, 8(4), 2018, 309-313.
30. E.D. Beltran-Aquillar, J.W. Goldstein: *Fluoride varnishes: A review of their clinical use, cariostatic mechanism, efficacy and safety*, JADA, 131, 2000, 589-594.
31. D. Piesiak-Pańcyszyn, U. Kaczmarek: *Uwalnianie fluorków z lakierów fluorkowych w warunkach in vitro i in vivo*, Dent. Med. Probl., 54(4), 2017, 327-331.
32. L.M.A. Tenuta, R.V. Cerezetti, A.A. Del Bel Cury, C.P.M. Tabchory, J.A. Cury, *Fluoride Release from CaF₂ and Enamel Demineralization*, Journal of Dental Research, 87(11), 2008, 1032-1036.
33. B.L. Jablonowski, J.A. Bartoloni: *Fluoride release from newly marketed fluoride varnishes*, Quintessence Int., 43, 2012, 221-228.
34. American Academy of Pediatric Dentistry. *Guideline of fluoride therapy*. Reference manual, 37(6), 2015/2016, 176-179.
35. Ch. Shen, J. Autio-Gold: *Assessing fluoride concentration uniformity and fluoride release from three varnishes*, JADA, 133, 2002, 176-182.
36. J.M. ten Cate, M.J. Larsen, E.I.F. Pearc, O. Fejerskov: *Chemical interactions between the tooth and oral fluids*, Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management, Munksgaard, Blackwell, 2003, 49-69.
37. B. Ogaard: *CaF₂ formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect*, Caries Res, 35, 2001, 40-44.
38. A. Mielczarek, J. Michalik, M. Kujawa: *Wpływ wybranych preparatów fluorowych na mikrostrukturę szkliwa z wczesnymi zmianami próchnicowymi*, Nowa Stomatologia, 3, 2013, 120-124.
39. J.L. Milburn, L.E. Henrichs, R.L. Banfield, M.J. Stansell, K.S. Vandewalle: *Substantive fluoride release from a new fluoride varnish containing CXPTM*, Dentistry, 5, 2015, 350.
40. P.E. Benson, N. Parkin, F. Dyer et al.: *Fluorides for the prevention of early tooth decay (demineralised white lesions) during fixed brace treatment*, Cochrane Database Syst Rev., 11, 2019, CD003809.
41. *Water Fluoridation: Health monitoring report for England*, Public Health England, 2018, <https://www.gov.uk/government/publications/water-fluoridation-healthmonitoring-report-for-england-2018>.
42. B.H. Oliveira, M. Salazar, D.M. Carvalho et al.: *Biannual fluoride varnish applications and caries incidence in preschoolers: a 24-month follow-up randomized placebo controlled clinical trial*, Caries Res., 48(3), 2014, 228-236.
43. M. Walczak, A. Turska-Szybka: *The efficacy of fluoride varnishes containing different calcium phosphate compounds*, Fluoride, 50(1 Pt 2), 2017, 151-160.
44. E.C. Reynolds: *Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate: The Scientific Evidence*, Advances in Dental Research, 21(1), 2009, 25-29.
45. Z.A. Güçlü, A. Alaçam, N.J. Coleman: *A 12-week assessment of the treatment of white spot lesions with CPP-ACP paste and/or fluoride varnish*, Biomed Res Int., 2016, 8357621.
46. N.J. Cochrane, F. Cai, N.L. Huq, M.F. Burrow, E. Reynolds: *New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel*, J Dent Res., 89(11), 2010, 1187-1197.
47. E.C. Reynolds: *Remineralization of Enamel Subsurface Lesions by Casein Phosphopeptide-stabilized Calcium Phosphate Solutions*, Journal of Dental Research, 76(9), 1997, 1587-1595.
48. E.C. Reynolds, F. Cai, N.J. Cochrane, P. Shen, G. Walker et al.: *Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate*, J Dent. Res, 87, 2008, 344-348.
49. G.L. Vogel: *Oral fluoride reservoirs and the prevention of dental caries. Fluoride and the Oral*, Environment, Monogr. Oral Sci., 22, 2011, 146-157.
50. N. Cochrane, S. Saranathan, F. Cai, K. Cross, E. Reynolds: *Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide-stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride*, Caries Research, 42(2), 2008, 88-97.
51. W.S. Eakle, J.D.B. Featherstone, J.A. Weintraub, S.G. Shain, S.G. Gansky: *Salivary fluoride levels following application of fluoride varnish or fluoride rinse*, Community Dent Oral Epidemiol, 32, 2004, 462-469.
52. Q. Zhang, J. Zou, R. Yang, X. Zhou: *Remineralization effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate crème on artificial early enamel lesions of primary teeth*, International Journal of Paediatric Dentistry, 21(5), 2011, 374-381.
53. P.M. Patel, S.M. Hugar, S. Halikerimath, M. Badakarc et al.: *Comparison of the effect of fluoride varnish, chlorhexidine varnish and casein – phosphopeptide amorphous calcium phosphate (CCP-ACP) varnish on salivary Streptococcus mutans level. A six months clinical study*, J Clin Diagn Res, 11, 2017, 53-59.
54. V. Kumar, A. Itthagaran, N. King: *The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study*, Australian Dental Journal, 53, 2008, 34-40.
55. C. Llana, A.M. Leyda, L. Forner: *CPP-ACP and CPP-ACFP versus fluoride varnish in remineralisation of early caries lesions. A prospective study*, European Journal of Paediatric Dentistry: Official Journal of European Academy of Paediatric Dentistry, 16(3), 2015, 181-186.
56. K.J. Cross, N.L. Huq, D.P. Stanton, M. Sum, E.C. Reynolds: *NMR studies of a novel calcium, phosphate and fluoride delivery vehicle – a51-casein(59-79) by stabilized amorphous calcium fluoride phosphate nanocomplexes*, Biomaterials, 25(20), 2004, 5061-5069.
57. K.J. Cross, N.L. Huq, J.E. Palamara, J.W. Perich, E.C. Reynolds: *Physicochemical Characterization of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate Nanocomplexes*, Journal of Biological Chemistry, 280(15), 2005, 15362-15369.
58. E.C. Reynolds, F. Cai, N.J. Cochrane, P. Shen, G. Walker, M.V. Morgan: *Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate*, J Dent Res, 87, 2008, 344-348.
59. P. Shen, R. Bagheri, G. Walker et al.: *Effect of calcium phosphate addition to fluoride containing dental varnishes on enamel demineralization*, Australian Dental Journal, 61(3), 2016, 357-365.
60. I. Farooq, I. A. Moheet, Z. Imran, U. Farooq: *A review of novel dental caries preventive material: Casein Phosphopeptide – amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) complex*, King Saud University Journal of Dental Sciences, 4(2), 2013, 47-51.
61. T. Attin, A.M. Lennon, M. Yakin, K. Becker, W. Buchalla, R. Attin, A. Wiegand: *Deposition of fluoride on enamel surfaces released*



- from varnishes is limited to vicinity of fluoridation site, Clin Oral Invest., 11, 2007, 83-88.
62. A. Azarpazhooh, P.A. Main: *Fluoride varnish in the prevention of dental caries in children and adolescents: a systematic review*, Journal of the Canadian Dental Association, 74(1) 2008, 73-79.
 63. B.R. Schemehorn, G.D. Wood, W. McHale, A.E. Winston: *Comparison of fluoride uptake into tooth enamel from two fluoride varnishes containing different calcium phosphate sources*, Journal of Clinical Dentistry, 22(20), 2011, 51-54.
 64. K. Maksymiuk, A. Michalska: *Elektrody jonoselektywne – klasyka i nowe koncepcje*, CHEMIK, 69(7), 2015, 373-382.
 65. E.A. Martínez-Mier, J.A. Cury, J.R. Heilman, B.P. Katz, S.M. Levy: *Development of Gold Standard Ion-Selective Electrode-Based Methods for Fluoride Analysis*, Caries Research, 45(1), 2010, 3-12.
 66. M.B. Rajković, I.D. Novaković: *Determination of fluoride content in drinking water and tea infusions using fluoride ion selective electrode*, Journal of Agricultural Sciences, 52(2), 2007, 155-68.
 67. Thermo Scientific Orion Fluoride Ion Selective Electrode – User Manual 2016.
 68. S. Tweetman, K. Skold-Larsson, T. Modeer: *Fluoride concentration in whole saliva and separate gland secretions after topical treatment with three different fluoride varnishes*, Acta Odontol Scand., 57, 1999, 263-266.
 69. J.L. Castillo, P. Milgrom: *Fluoride release from varnishes in two in vitro protocols*, JADA, 135, 2004, 1696-1699.
 70. L.P. Comar, B.M. De Souza, L.T. Grizzo, M.A.R. Buzalaf, C. Magalhaes: *Evaluation of fluoride release from experimental TiF4 and NaF varnish in vitro*, J Appl Oral Sci., 22(2), 2014, 138-143.
 71. P. Ritwik et al.: *Evaluation of short term fluoride release from fluoride varnishes*, Journal of Clinical Pediatric Dentistry, 36(3), 2012, 275-278.
 72. F. Lippert: *Fluoride Release from Fluoride Varnishes under Acidic Conditions*, Journal of Clinical Pediatric Dentistry, 39(1), 2014, 35-39.
 73. P. Shen, R. Bagheri, G. Walker: *Effect of calcium phosphate addition to fluoride containing dental varnishes on enamel demineralization*, Australian Dental Journal, 61(3), 2016, 357-365.
 74. N.J. Cochrane, P. Shen, Y. Yuan, E.C. Reynolds: *Ionrelease from calcium and fluoride containing dental varnishes*, Australian Dental Journal, 59, 2014, 100-105.
 75. S.G. Virupaxi, N.M. Roshan, P. Poornima, N.B. Nagaven, I.E. Neena, K.P. Bharath: *Comparative evaluation of longevity of fluoride release from three different fluoride varnishes – an in vitro study*, Journal of Clinical and Diagnostic Research, 10(8), 2016, 33-36.
 76. A. Sleibi, A.R. Tappuni, N.G. Karpukhinab, R.G. Hill, A. Baysan: *A comparative evaluation of ion release characteristics of three different dental varnishes containing fluoride either with CPP-ACP or bioactive glass*, Dental Materials, 35(12), 2019, 1695-1705.
 77. K. Kolter, M. Wichtner, M. Schönherr, J. Mittwollen: *Pharmaceutical formulation for producing rapidly disintegrating tablets*, US Patent, abstract no. US8425935B2, 2013.
 78. J.D.B. Featherstone, D.T. Zero: *Laboratory and human studies to elucidate the mechanism of action of fluoride containing dentifrices*, [in:] G. Embery, G. Rölla (eds.): *Clinical and biological aspects of dentifrices*, Oxford, England: Oxford University Press, 1992, 41-45.
 79. L. Al Dehailan, E.A. Martinez-Mier, F. Lippert: *The effect of fluoride varnishes on caries lesions: an in vitro investigation*, Clin Oral Investig, 20, 2016, 1655-1662.
 80. C. Dawes: *What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid?*, Journal-Canadian Dental Association, 69(11), 2003, 722-725.

reklama



WWW.XRAYINSPECTOR.PL
TEL.: 515 26 88 22
BIURORTG@GMAIL.COM

 **Projekty Osłon Stałych**

 **Pomiary mocy dawki promieniowania rentgenowskiego / Pomiary osłon stałych**

 **Nadzór IOR / Konsultacje**

  **@XRAYINSPECTOR**

Article

In Vitro Comparison of the Fluoride Ion Release from the First- and Second-Generation Fluoride Varnishes

Dagmara Piesiak-Panczyszyn ^{1,*}, Adam Watras ^{2,3,*} , Rafal J. Wiglusz ²  and Maciej Dobrzynski ^{3,*} 

¹ Department of Conservative Dentistry with Endodontics, Wrocław Medical University, 50-425 Wrocław, Poland

² Institute of Low Temperature and Structure Research, Polish Academy of Sciences, 50-422 Wrocław, Poland; r.wiglusz@intibs.pl

³ Department of Pediatric Dentistry and Preclinical Dentistry, Wrocław Medical University, 50-425 Wrocław, Poland

* Correspondence: dagmara.piesiak-panczynszyn@umw.edu.pl (D.P.-P.); a.watras@intibs.pl (A.W.); maciej.dobrzynski@umw.edu.pl (M.D.)

Abstract: Fluoride varnishes, both the first and the second generations, are effective in inhibiting caries, especially in children and adolescents, by reducing it on average by 43% for permanent teeth and 37% for deciduous teeth. The aim of this study was to evaluate the dynamics of in vitro fluoride ion release from first- (Duraphat) and second-generation (MI Varnish and Embrace Varnish) fluoride varnishes and the impact of the type of varnish, the time from its application and the pH of the environment on this process. **Materials and methods:** The test material (90 specimens), prepared from extracted human teeth, were divided into nine groups of 10 specimens each. Measured amounts of the examined varnishes were applied onto specimens and the levels of fluoride release were assessed at the baseline and after 1, 2, 24, 48 and 168 h from the application with the use of an ion-specific electrode. The specimens were immersed into artificial saliva with pH adjusted to 4, 5 and 7. The highest cumulative release of fluoride was obtained by MI Varnish (11.52 ppm/mg), regardless of the pH of the environment, whereas the lowest released fluoride concentration was achieved by Embrace Varnish (4.82 ppm/mg). In the acidic environment, the release of fluoride was significantly higher than in the neutral environment for all investigated varnishes, with no change in the overall fluoride release profile and with maximum fluoride release in the first two hours after application. The findings of this study indicate that all examined fluoride varnishes released the maximum amount of fluoride within the first hours after application and that it was related to the acidity of the immersion medium.

Keywords: fluoride varnishes; fluoride ion release; fluoride release rate



Citation: Piesiak-Panczyszyn, D.; Watras, A.; Wiglusz, R.J.; Dobrzynski, M. In Vitro Comparison of the Fluoride Ion Release from the First- and Second-Generation Fluoride Varnishes. *Appl. Sci.* **2023**, *13*, 7327. <https://doi.org/10.3390/app13127327>

Academic Editor: Felice Femiano

Received: 15 May 2023

Revised: 10 June 2023

Accepted: 16 June 2023

Published: 20 June 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

For almost 70 years, fluoride compounds have played an important role in preventing dental caries as the most effective method of fighting this disease. Their action is based on two mechanisms: pre-eruptive (endogenous) and post-eruptive (exogenous), whereby exogenous methods are now considered more effective and safer [1–6]. The post-eruptive effect, i.e., after the emergence of teeth in the mouth, consists in affecting the adhesion of the bacterial plaque and its metabolism, thus causing a bacteriostatic and/or bactericidal effect, inhibiting the demineralization process and supporting the remineralization of the enamel [1,3,7–11]. Fluoride varnishes used in the contact fluoridation method were approved in 1994 by the FDA (Food and Drug Administration), but as a medicine for tooth hypersensitivity. Over the years, they have become standard practice in dentistry, currently recommended by international dental organizations and associations, i.e., ADA (American Dental Association), AAPD (American Academy of Paediatric Dentistry), EAPD (European

Academy of Paediatric Dentistry) and the American Dental Association Council on Scientific Affairs [12–15]. Numerous meta-analyses [9,16–18] have shown their effectiveness in inhibiting caries, especially in children and adolescents, by reducing it on average by 43% for permanent teeth and 37% for milk teeth. The lack of continuation of caries prevention with the aid of administration of fluoride, according to Bravo et al. [19], resulted in an increase in caries activity.

The exact chemical composition of varnishes is not fully known because, according to the statement developed by OSHA, the so-called Hazard Communication Standard 29 CFR 1910.1200, only those ingredients that can be dangerous and life-threatening require documentation; the others are a trade secret [20]. Typically, each fluoride varnish consists of three basic elements. Two of them are resin (mastic, shellac or/and rosin, also called collophony), which is responsible for viscosity, elasticity and fluidity and thus extending the contact time with the tooth surface; and alcohol (usually ethanol), used as a solvent which evaporates after exposure to air and active agents [7,21]. In addition, in the so-called first generation of varnishes, there are fluoride salts, commonly known as fluorides, usually in the form of neutral or acidified 5% NaF containing 2.26% fluoride ions (22,600 ppm F) or 1% difluorosilane containing 0.1% fluoride ions (1000 ppm F). The second-generation varnishes are additionally enriched with calcium and phosphorus compounds in various forms, e.g., as so-called functionalized tricalcium phosphate (β -TCP), amorphous calcium phosphate (ACP), casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate nanocomplex (CPP-ACP), calcium sodium phosphosilicate (Novamin) or xylitol-coated calcium phosphate (CXP) [22,23]. According to many researchers [22,24–30] these increase the bioavailability of fluoride and the rate of its release as well as improve oral retention and enhance the antibacterial effect. The aim of this study was to evaluate the dynamics of in vitro fluoride ion release from first- and second-generation fluoride varnishes and the impact of the type of varnish, the time from its application and the pH of the environment on this process. The extent to which factors influence the durability of the applied varnish, the amount of released fluoride ions over time and the duration of maintaining an elevated level of fluoride may alter the accepted treatment standards and contribute to enhancing the effectiveness of therapy.

2. Results

The average values of the varnish (the quantity of varnish in mg) used ranged from 7.9 ± 0.2645 mg to 8.2 ± 0.1527 mg, which corresponded to the average fluoride content in the range from 0.1249 ± 0.0055 mg for MI Varnish, 0.1512 ± 0.0027 mg for Duraphat and 0.1640 ± 0.0065 mg for Embrace Varnish.

Figure 1 graphically represents the cumulative release of fluoride for the three varnishes in three different pH (4, 5 and 7) environments, expressed in ppm. Within 168 h of the experiment, regardless of the pH of the environment, the highest amount of fluoride was released by MI Varnish, and the lowest level was released by Embrace Varnish. The cumulative release of fluoride for MI Varnish was 11.52 ppm F⁻ at pH = 4, 9.297 ppm F⁻ at pH = 5 and 6.470 ppm F⁻ at pH = 7. Duraphat achieved 9.753 ppm F⁻, 7.513 ppm F⁻ and 9.276 ppm F⁻, respectively; Embrace Varnish achieved 6.826 ppm F⁻, 5.724 ppm F⁻ and 4.821 ppm F⁻, respectively.

In most research groups, significantly higher values were obtained in acidic environments (pH = 4 and 5) as compared with the neutral environment. For MI Varnish, the release of fluoride in the environment with various acidities was different after the first hour; for Duraphat, after 2 h; and for Embrace Varnish, after 24 h. For all three varnishes tested, the highest increases in fluoride release were recorded during the first two hours of observation, with both MI Varnish and Embrace Varnish releasing, respectively, more than 50% and 60% of the total 168 h fluoride release during the first 2 h after application, and more than 90% and 85% after 24 h. Duraphat, on the other hand, during the same time, showed a slower release rate at an average level of 36% after 2 and 68% after 24 h. Based on the results of the variance analysis and post hoc tests, the cumulative release of fluoride from the three tested varnishes differed significantly in each hour of observation and at each acidity of the

environment ($p < 0.001$) (Table 1). For pH = 7 at 168 h, a significant difference occurred only between Embrace Varnish and MI Varnish (4.82 vs. 6.47 mg; $p = 0.012$).

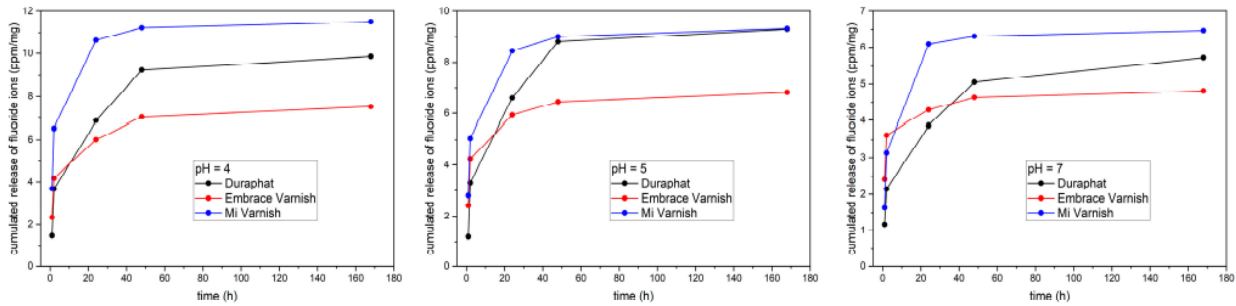


Figure 1. Cumulative fluoride release for three varnishes: Duraphat, MI Varnish and Embrace Varnish at pH = 4, pH = 5, pH = 7.

Table 1. Cumulative release of fluoride from three varnishes during subsequent observation hours and results of variance analysis (ANOVA) and post hoc tests. Descriptive data were presented as mean \pm SD (\pm standard deviation).

pH	Time/ Duration (h)	DP N = 10	EV N = 10	MV N = 10	ANOVA <i>p</i>
4	1	1.47 \pm 0.27 ^{1,2}	2.34 \pm 0.50 ^{1,3}	3.68 \pm 0.21 ^{2,3}	<0.001
	2	3.67 \pm 1.02 ^{1,2}	4.18 \pm 0.78 ^{1,3}	6.52 \pm 0.79 ^{2,3}	<0.001
	24	6.85 \pm 0.96 ^{1,2}	6.01 \pm 1.11 ^{1,3}	10.63 \pm 0.77 ^{2,3}	<0.001
	48	9.24 \pm 1.11 ^{1,2}	7.02 \pm 1.15 ^{1,3}	11.23 \pm 0.80 ^{2,3}	<0.001
	168	9.86 \pm 1.10 ^{1,2}	7.51 \pm 1.17 ^{1,3}	11.52 \pm 0.84 ^{2,3}	<0.001
5	1	1.19 \pm 0.30 ^{1,2}	2.43 \pm 0.51 ^{1,3}	2.81 \pm 0.21 ^{2,3}	<0.001
	2	3.30 \pm 0.81 ^{1,2}	4.24 \pm 0.76 ^{1,3}	5.05 \pm 0.71 ^{2,3}	<0.001
	24	6.61 \pm 1.63 ^{1,2}	5.93 \pm 1.02 ^{1,3}	8.43 \pm 0.70 ^{2,3}	<0.001
	48	8.80 \pm 2.48 ^{1,2}	6.45 \pm 1.08 ^{1,3}	9.00 \pm 0.75 ^{2,3}	0.002
	168	9.30 \pm 2.54 ^{1,2}	6.83 \pm 1.10 ^{1,3}	9.33 \pm 0.77 ^{2,3}	0.003
7	1	1.16 \pm 0.53 ^{1,2}	2.41 \pm 0.77 ^{1,3}	1.64 \pm 0.20 ^{2,3}	<0.001
	2	2.14 \pm 0.89 ^{1,2}	3.63 \pm 0.79 ^{1,3}	3.13 \pm 0.35 ^{2,3}	<0.001
	24	3.87 \pm 1.63 ^{1,2}	4.29 \pm 0.80 ^{1,3}	6.09 \pm 0.47 ^{2,3}	<0.001
	48	5.05 \pm 1.69 ^{1,2}	4.64 \pm 0.82 ^{1,3}	6.31 \pm 0.43 ^{2,3}	0.007
	168	5.72 \pm 1.82 ^{1,2}	4.82 \pm 0.85 ^{1,3}	6.47 \pm 0.43 ^{2,3}	0.016

DP–Duraphat, EV–Embrace Varnish, MV–MI Varnish, ¹ DP vs EV, $p < 0.05$; ² DP vs MV, $p < 0.05$; ³ EV vs MV, $p < 0.05$.

In the investigated groups, fluoride was released throughout the experiment, with the rate of release decreasing over time for all tested products, with a view to the differences between the first-generation (Duraphat) and second-generation (Embrace Varnish and MI Varnish). The hourly drop in fluoride release from three types of varnish in different pH environments is shown in Figure 2. The analysis uses mathematical models of fluoride release. Due to the non-linear nature of the obtained fluoride release rate scatterplots as a function of time, the results of the measurements were approximated by the exponential function. For empirical data obtained for each of the three types of varnish and three levels of pH, the following types of exponential models were matched:

$$y = b_0 \times \exp(b_1 \times x)$$

where $y = F$ (ppm/h)—hourly fluoride release and $x = \text{time (h)}$ —fluoride release duration. The parameters of the b_0 and b_1 models were estimated using the quasi-Newton method.

Based on the obtained data for all tested varnishes in all three environments (pH = 4, 5 and 7), in the first hours, the fluoride release rate is highest, and in the hours that follow, it rapidly decreases. For MI Varnish and Embrace Varnish, the fluoride release proceeds in a similar way and is completed after about 24 h, while for Duraphat, it takes much longer (at least 48 h).

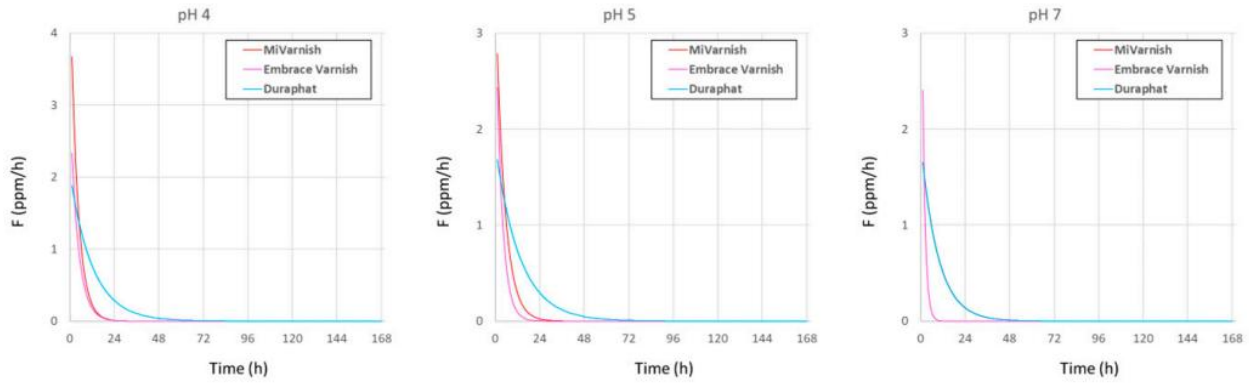


Figure 2. The course of the hourly release of fluoride in three types of varnish in three different pH environments.

The absorption measurements (see Figure 3) of all three varnishes reveals that each of them has more than 98% of light transmission in the visible and NIR regions. Differences are visible in the UV region where MI Varnish is almost transparent (above 85% of light transmission), while transmission of MI Varnish and Embrace Varnish drops to about 60% at 275 nm.

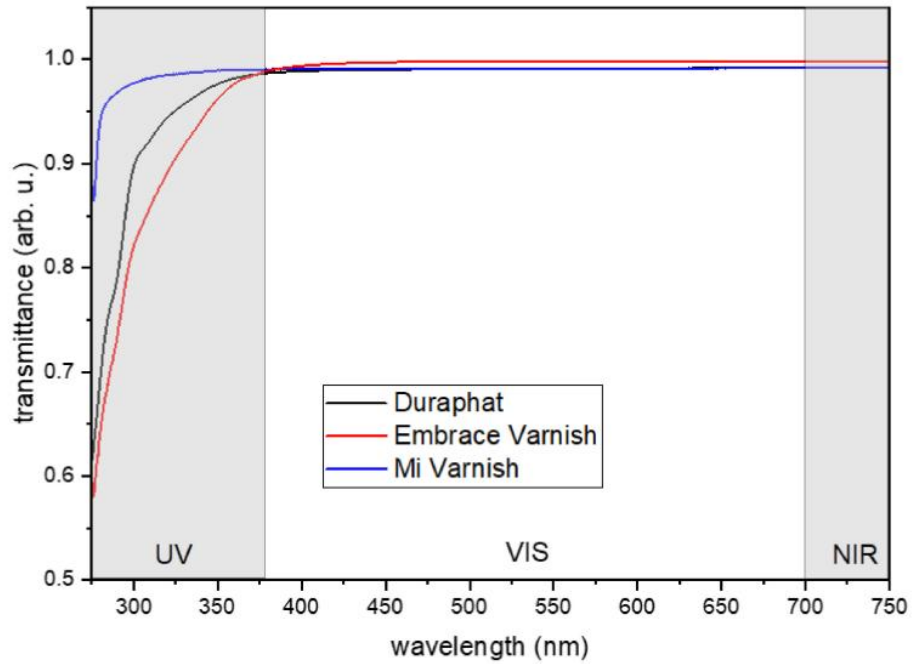


Figure 3. Transmittance spectra of Duraphat, Embrace Varnish and MI Varnish in UV-VIS-NIR region.

3. Discussion

Application of fluoride varnish involves the use of high concentrations of fluoride salts suspended in resin, which allows them to remain on the surface of the teeth for a period of time. The saliva-dissolved salts release fluoride ions, thus causing accumulation in higher concentrations (above 100 ppm) both on the enamel surface and in the enamel itself, as well as in the plaque. The presence of fluoride attracts calcium and phosphate ions from saliva or dissolved hydroxyapatites, forming small grains of calcium fluoride with integrated phosphates [3,10,11,24–26,28,31–33]. Since pure CaF_2 crystal is more cubic than spherical, the resulting spherical deposits are described as calcium fluoride-like compounds, which, on the one hand, block the diffusion of acids, while on the other hand form a fluoride reservoir that is stable and insoluble in a pH-neutral environment. Phosphate ions increase its solubility compared with pure CaF_2 [5,34–36]. In the event of a decrease in pH, the membrane coating is dissolved and fluoride ions are released and embedded in the enamel structure. A decrease in fluoride concentration below 100 ppm and an increase in pH result in saturation of the enamel in relation to the surrounding fluid and inhibition of the process described above [1,3,5,7,10,24,26,33,37,38]. According to many researchers [27,33,35,39–43], the CaF_2 formation process, in addition to a sufficiently high concentration of fluoride ions, is also affected by calcium and phosphate ions present in the oral environment, and the quantity of which is insufficient to bind the whole released fluoride [33,44–47]. The supply of these ions in second-generation varnishes, according to Attin et al. [41], causes deposits of more calcium fluoride on the enamel surface, which in turn enhances the therapeutic effect [32,44,45,48–59]. According to Ogaard [35], these deposits can be observed in vitro at a high magnification up to 4 months after application. In vivo, due to chewing, swallowing, speaking and individual hygienic procedures, this time is much shorter and varies from several hours, according to Beltran et al. [5]; to 24 h, according to Schemehorn et al. [59] and Fernández et al. [60]; or up to 3 days, according to Hatrick et al. [61]. It follows that in the oral environment, the release of ions from fluoride varnishes should take place in the shortest possible time before they are completely lost [45].

All three varnishes used in the study had the same fluoride ion content (2.26% F^- in 5% NaF). In order to minimize the differences between specimens, uniform amounts of varnish were applied to the normalized area of exposed enamel, where possible—and quickly, so as to reduce the possible change in the weight of the varnish due to evaporation of volatile components. Duraphat, considered by many [61] as a so-called gold standard, is classified as the first-generation varnish, in which 5% NaF is the active ingredient. In addition to 5% NaF, the second-generation varnishes used in this experiment contain CPP-ACP (MI Varnish) and calcium phosphate coated with xylitol (CXP) (Embrace Varnish). Many researchers [25,27,44–46,55,57,62,63] claim that caseine phosphopeptide complex with amorphous calcium phosphate is the best technology, enabling both the stable combination of high concentrations of calcium, phosphate and fluoride ions with the tooth surface and plaque, as well as high bioavailability and the possibility of free movement into the enamel, resulting in active remineralization of subsurface lesions. According to Shen et al. [22], Cochrane et al. [44] and Sleibi et al. [64], it also causes faster and easier release of fluoride ions in the first 24 h after application. In turn, according to Yapp et al. [65], it is better to place calcium and phosphate ions, but in the form of CXP, into permeable resin, as is the case with Embrace Varnish, preventing uncontrolled separation of fluoride salts from the resin matrix and allowing uniform and long-term dosing. Xylitol, additionally, provides a longer antibacterial effect [25,66].

The authors of this paper hypothesized that there would be no differences in the release of fluoride ions associated with the type of varnish applied, the time that elapsed from the application, and the pH of the artificial saliva. The results obtained proved to be highly significant for all three aspects ($p < 0.001$), which resulted in the rejection of the zero hypothesis. In the experiment, all varnishes released fluoride throughout the test period and showed a gradual decrease in time, while the shape and slope of the release curves were different, as were the values of cumulative release of fluoride and

the maximum fluoride levels, which is consistent with previous studies [43,64,67–69]. In any case, regardless of the pH of the environment and the type of varnish, the release of fluoride was at the highest level during the first two hours after application, as shown in the studies carried out by Sleibi et al. [64], Carvalho et al. [26], Shen et al. [70], Jablonowski et al. [43], Cochrane et al. [45] and Milburn et al. [27]. In the case of second-generation varnishes, fluoride was released in two phases, described earlier by Pichaiakrit et al. [71]. The first phase is the so-called phase of initial rapid release of large amounts of fluoride, which took place in the first two hours after application, reaching the second phase—referred to in the literature as the so-called “plateau”—after 24 h, characterized by a much slower, constant increase of fluoride. Similar results were obtained by other researchers, yet Milburn et al. [27] observed a dynamic increase in fluoride released from MI Varnish during the first four hours, rather than two hours, and a ‘plateau’ between 8 and 12 h after application, while Comar et al. [40] observed these patterns after three hours and 12 h, respectively. As for the first-generation varnish, Duraphat, the increase in the amount of fluoride released was slower but systematic with a slow decrease after 48 h without the “plateau” phase, which is consistent with the observations by Castillo et al. [72] and Fernández et al. [60]. After 24 h, both second-generation varnishes released 90% of the total amount of fluoride measured on average, which is consistent with the study by Shen et al. [22], where, within 24 h, MI Varnish released 96% of the total fluoride. Based on previous considerations, which assumed that the time to release fluoride ions in vivo should not exceed 24 h, such a feature of the varnish profile seems to be very desirable. In addition, according to previous observations by Clifton et al. [10], a sufficiently high initial concentration of fluoride enables the formation of more calcium fluoride on the surface of the enamel and facilitates its binding to the tissues of the tooth. In the study, the cumulative release of fluoride was at the highest level for MI Varnish regardless of the pH of the environment, which seems consistent with the research conducted by other authors. Similar results were obtained by Cochrane et al. [45], where MI Varnish ranked ahead of Clinpro White, Enamel Pro, Bifluoride 5 and Duraphat. This confirms the thesis that the addition of calcium and phosphate ions in the form of CPP-ACP complex supports the release of fluoride ions.

This study shows that similar products (varnish vs. varnish) with identical fluoride concentrations, identically applied on surfaces prepared in the same manner, can present different parameters of fluoride release, as previously noted by other researchers [22,27,43,67,70,72,73]. The resulting variability in the fluoride release models may be related to the composition of the varnishes, i.e., the type of resin used as a matrix for the components contained in it, the presence of additional substances, and the consistency, homogeneity and viscosity of the varnish or the particle size [22,35,43,45,64,67,70,72,73]. The significantly higher cumulative fluoride release at each measuring point in MI Varnish may be due to several factors. Cochrane et al. [17], Schemehorn et al. [59] and Cross et al. [74] emphasize very good solubility of the CPP-ACP complex itself in aqueous solutions, which can directly accelerate the release of fluoride. Some researchers pointed to the behavior of polyvinyl acetate polymer, i.e., the so-called PVA, present in MI Varnish. In the study, it was noted that it also showed great ease and speed of dissolution in water [75], and at the same time, the maximum release took place within the first hour after the application [76]. In addition, its solubility increased in the presence of organic solvents (in this case, ethanol), which facilitated its rapid evaporation, thus leaving free spaces for easier and faster contact with water [76]. In addition, based on recent reports, the constitution of CPP-ACP varnish molecules—which are smaller and more homogeneous than those of other varnishes—can cause their faster dissolution and easier ion release [64].

The pH of the environment turned out to be an additional factor having a highly significant ($p < 0.001$) effect on the rate of fluoride ion release. The greatest cumulative release of fluoride was achieved at pH = 4 for all tested varnishes. Slightly lower amounts were measured for pH = 5, but when comparing acidic environments, these differences were not statistically significant. The level of released fluoride in the neutral environment

was significantly lower than in environments with pH = 4 and pH = 5, as confirmed by post hoc tests. In addition, between the 48th and 168th hour, the decrease in fluoride release in the environment with pH = 4 was greater than in the environment with pH = 5, while the decrease in fluoride release in the environment with pH = 7 was insignificant. In the literature—although there is relatively little research comparing the fluoride release depending on the pH of the environment—attention is paid to the effect of low pH on both the release of fluoride ions and on the formation of calcium fluoride [3,24]. Ten Cate et al. [24], when comparing the formation of calcium fluoride after application of 2% neutral NaF with acidified fluoride preparations, found the presence of significantly larger amounts of CaF₂ deposited on the surface of the enamel. Interesting conclusions were also drawn by Twetman et al. [77], who showed that Fluor Protector, containing the lowest concentration of fluoride ions in relation to other varnishes but low in pH, initiates the formation of the largest amount of CaF₂ on the surface of the enamel. This was explained by the affinity of the fluoride released in the acidic environment to the enamel that was higher than in neutral conditions. This was confirmed by Mohd Said et al. [38], who showed that in an acidic environment, the concentration of calcium ions and phosphates in carious lesions is higher than in the fluids surrounding the tooth, which promotes increased absorption of fluoride by the tooth structure. However, it should be emphasized that the behaviour of different varnishes in an acidic environment is not the same, and that it would be wrong to assume that it always causes faster release of ions. This was demonstrated by Lippert [78] and Shen et al. [22] in their research, where only a portion of fluoride-containing preparations released more fluoride at low pH. As for MI Varnish, the pH value an additional factor influencing the balance between free and loosely bound calcium, phosphorus and fluoride ions, affecting their bioavailability, and, according to Cochrane et al. [17] and Cochrane et al. [44], its decrease should promote the release of ions from the CPP complex associated with plaque.

However, when analyzing the obtained results, it should be always noted that in vitro models are in some way limited by inadequate selection of biological conditions and artefacts associated, for example, with reaction conditions, and even the most accurate simulation of the in vitro oral environment does not fully mimic in vivo conditions. This should always be taken into account when in vitro data are transferred to in vivo conditions.

4. Conclusions

The study showed that in vitro fluoride release is affected by the type of varnish, the time elapsed from application and the pH of the environment, and their interdependencies seem to be of high statistical significance. All the varnishes investigated—Duraphat, Embrace Varnish and MI Varnish—regardless of the pH of the environment, released fluoride during 168 h of testing, yet the most dynamic part of the process took place in the first two hours following application. For second-generation varnishes, the release took place in two phases, with a clear marking of the second phase of the so-called plateau. In the acidic environment, the release of fluoride was significantly higher than in the neutral environment for all investigated varnishes, with no change in the overall fluoride release profile, with maximum fluoride release in the first two hours after application. All the varnishes investigated have more than 98% of light transmission in the visible region, which makes them invisible on teeth.

5. Materials and Methods

In vitro studies were conducted on 45 human teeth (premolars and molars) that were free from caries, enamel defects and demineralization, removed for orthodontic reasons after obtaining the prior consent of the patients. Each tooth was cut along the long axis with the buccal and palatal surface intact. Until the start of the study, the specimens were stored in thymol solution. Each specimen, after washing and drying, was coated with acid-resistant varnish while leaving exposed enamel (4 mm/4 mm) on the smooth buccal and palatal surface (Figure 4a,b).

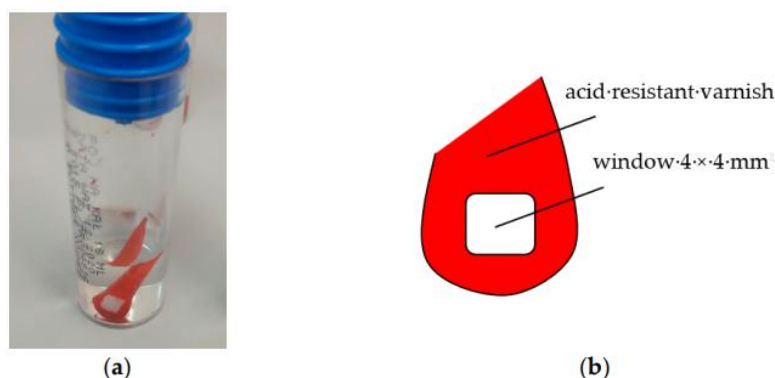


Figure 4. (a) Varnish-coated enamel specimen. (b) Diagram of prepared sample.

Three fluoride varnishes were used for the purposes of the study: one first-generation varnish (Duraphat) and two second-generation varnishes (MI Varnish and Enamel Varnish). Table 2 provides information on the type and composition of the applied agents.

Table 2. Type and composition of studied varnishes.

Fluoride Varnish	Code	Manufacturers	Ingredients
Colgate® Duraphat Varnish-single dose	DV	Colgate Oral Care, Sydney, NSW, Australia	30–60% colophonium, 10–30% ethanol, 5% sodium fluoride, other ingredients
MI Varnish™	MV	GC, Tokyo, Japan	30–50% polyvinylacetate, 10–30% hydrogenated rosin, 20–30% ethanol, 5% sodium fluoride, 1–5% CPP-ACP, 1–5% silicon dioxide
Embrace Varnish™	EV	Pulpdent, Watertown, MA, USA	5% natrium fluoride with CXP (xylitol coated calcium and phosphate)

The test material was divided into nine groups of 10 specimens each, depending on the type of varnish applied and the pH of the environment (Table 3).

Table 3. Experimental groups.

Fluoride Varnish	Group	pH of Artificial Saliva
Duraphat	DV/A	4.0
	DV/B	5.0
	DV/C	7.0
MI Varnish	MV/A	4.0
	MV/B	5.0
	MV/C	7.0
Embrace Varnish	EV/B	4.0
	EV/B	5.0
	EV/C	7.0

The prepared specimens were weighed before and after the application in order to accurately determine the amount of the preparation applied, using a Radwag laboratory balances with a readability of 3 decimal places. The specimens were then placed in sealed plastic containers and immersed in 5 mL of artificial saliva at pH = 4.0 for groups DV/A, MV/A and EV/A; pH = 5.0 for groups DV/B, MV/B and EV/B; and pH = 7.0 for groups DV/C, MV/C and EV/C. The composition of artificial saliva was as follows: NaCl (0.4 g), KCl (4.0 g), urea (1.0 g), Na₂S·9H₂O (0.005 g), NaH₂PO₄·2H₂O and CaCl₂·2H₂O (0.795 g). pH = 7.0 was achieved with 1 M NaOH, whereas pH = 4.0 and 5.0 were achieved with the use of 1 M HCL. During the measurements, the specimens were stored at 37 °C. The

determination of fluoride levels in the artificial saliva environment was performed three times each after 1, 2, 24, 48 and 168 h, and followed by calculation of the average value. In any case, after the measurement period, 5 mL of eluate was used for the determination; then the sample was dried and placed into a fresh artificial saliva solution. The ORION 9609 Model ion selective electrode combined with the CPI-551 Elmetron (Thermo Fisher Scientific Co., Waltham, MA, USA) microcomputer were used for the determination of fluoride ions. The system was calibrated before each subsequent determination using TISAB. Measurements of the released fluoride ion concentration were expressed in ppm, later converted into $\mu\text{mol/L}$ and in relation to the quantity of applied varnish converted into $\mu\text{g/mg}$. In the study, the cumulative level of ion release and the increase in release measured within specified time intervals and for a unit of time, namely, 1 h.

The statistical analysis was carried out using the STATISTICA v. 13.3 software (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA). The consistency of distribution for measured quantitative parameters with normal distribution was verified with the Shapiro–Wilk test. The critical significance level was $p < 0.05$. When comparing the mean values of the analyzed parameters in subgroups, one-factor analysis of variance (ANOVA) was used. For multiple comparisons (post hoc tests), Tukey’s least significant difference (LSD) test was used.

The zero hypothesis assumed that there would be no differences in the fluoride ion release associated with the time that passed from application, the type of varnish used and the pH of the artificial saliva.

The room temperature electron absorption spectra were measured in the 275–750 nm spectral range using a Cary-Varian 5E UV–vis-NIR spectrophotometer (Varian Medical Systems, Palo Alto, CA, USA) [7].

Author Contributions: Conceptualization, D.P.-P. and M.D.; methodology, D.P.-P. and A.W.; validation, A.W. and M.D.; formal analysis, D.P.-P., A.W. and M.D.; investigation, D.P.-P. and A.W.; resources, D.P.-P.; data curation, D.P.-P. and A.W.; writing—original draft preparation, D.P.-P. and A.W.; writing—review and editing, A.W., M.D. and R.J.W.; visualization, D.P.-P. and A.W.; supervision, M.D. and R.J.W.; project administration, M.D.; funding acquisition, M.D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was financed by a subsidy from Wrocław Medical University, number SUBZ.B180.23.054.

Institutional Review Board Statement: The study was approved by the Bioethics Committee, Wrocław Medical University (KB 45/2016).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Olczak-Kowalczyk, D.; Borysewicz-Lewicka, M.; Adamowicz-Klepalska, B.; Jackowska, T.; Kaczmarek, U. Consensus Statement of Polish Experts on Individual Caries Prevention with Fluoride in Children and Adolescents. *Nova Stomatol.* **2016**, *21*, 47–73. [[CrossRef](#)]
2. Longbottom, C.; Ekstrand, K.; Zero, D.; Kambara, M. Novel Preventive Treatment Options. In *Detection, Assessment, Diagnosis and Monitoring of Caries*; KARGER: Basel, Switzerland, 2009; pp. 156–163.
3. Kaczmarek, U.; Jackowska, T.; Mielnik-Błaszczak, M.; Jurczak, A.; Olczak-Kowalczyk, D. Individualised Caries Prevention with Fluoride in Children and Adolescents—Recommendations of Polish Experts. *Nova Stomatol.* **2019**, *24*, 74–85. [[CrossRef](#)]
4. O’Mullane, D.M.; Baez, R.J.; Jones, S.; Lennon, M.A.; Petersen, P.E.; Rugg-Gunn, A.J.; Whelton, H.; Whitford, G.M. Fluoride and Oral Health. *Community Dent. Health* **2016**, *33*, 69–99.
5. Beltrán-Aguilar, E.D.; Goldstein, J.W.; Lockwood, S.A. Fluoride Varnishes. *J. Am. Dent. Assoc.* **2000**, *131*, 589–596. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. American Dental Association. *Fluoridation Facts*; American Dental Association: Chicago, IL, USA, 2018.
7. Baik, A.; Alamoudi, N.; El-Housseiny, A.; Altuwirqi, A. Fluoride Varnishes for Preventing Occlusal Dental Caries: A Review. *Dent. J.* **2021**, *9*, 64. [[CrossRef](#)]
8. Simmer, J.; Hardy, N.; Chinoy, A.; Bartlett, J.; Hu, J.-C. How fluoride protects dental enamel from demineralization. *J. Int. Soc. Prev. Community Dent.* **2020**, *10*, 134–141. [[CrossRef](#)]

9. Azarpazhooh, A.; Main, P.A. Fluoride Varnish in the Prevention of Dental Caries in Children and Adolescents: A Systematic Review. *J. Can. Dent. Assoc.* **2008**, *74*, 73–79.
10. Carey, C.M. Focus on Fluorides: Update on the Use of Fluoride for the Prevention of Dental Caries. *J. Evid. Based Dent. Pr.* **2014**, *14*, 95–102. [[CrossRef](#)]
11. Weyant, R.J.; Tracy, S.L.; Anselmo, T.; Beltrán-Aguilar, E.D.; Donly, K.J.; Frese, W.A.; Hujoel, P.P.; Iafolla, T.; Kohn, W.; Kumar, J.; et al. Topical fluoride for caries prevention: Executive summary of the updated clinical recommendations and supporting systematic review. *J. Am. Dent. Assoc.* **2013**, *144*, 1279–1291. [[CrossRef](#)]
12. Al Dehailan, L.; Martínez-Mier, E.A.; Lippert, F. The effect of fluoride varnishes on caries lesions: An in vitro investigation. *Clin. Oral Investig.* **2016**, *20*, 1655–1662. [[CrossRef](#)]
13. Bonetti, D.; Clarkson, J.E. Fluoride Varnish for Caries Prevention: Efficacy and Implementation. *Caries Res.* **2016**, *50*, 45–49. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. American Academy of Pediatric Dentistry Fluoride Therapy. *The Reference Manual of Pediatric Dentistry*; American Academy of Pediatric Dentistry: Chicago, IL, USA, 2021.
15. American Dental Association Council on Scientific Affairs. Professionally Applied Topical Fluoride: Evidence-Based Clinical Recommendations. *J. Am. Dent. Assoc.* **2006**, *137*, 1151–1159. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Carvalho, D.M.; Salazar, M.; de Oliveira, B.H.; Coutinho, E.S.F. O uso de vernizes fluoretados e a redução da incidência de cárie dentária em pré-escolares: Uma revisão sistemática. *Rev. Bras. Epidemiol.* **2010**, *13*, 139–149. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Marinho, V.C.C. Cochrane Reviews of Randomized Trials of Fluoride Therapies for Preventing Dental Caries. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **2009**, *10*, 183–191. [[CrossRef](#)]
18. Marinho, V.C.; Worthington, H.V.; Walsh, T.; Clarkson, J.E. Fluoride Varnishes for Preventing Dental Caries in Children and Adolescents. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2013**, *11*, CD002279. [[CrossRef](#)]
19. Gao, S.S.; Zhang, S.; Mei, M.L.; Lo, E.C.-M.; Chu, C.-H. Caries Remineralisation and Arresting Effect in Children by Professionally Applied Fluoride Treatment—A Systematic Review. *BMC Oral Health* **2016**, *16*, 12. [[CrossRef](#)]
20. Elkassas, D.; Arafa, A. Remineralizing Efficacy of Different Calcium-Phosphate and Fluoride Based Delivery Vehicles on Artificial Caries like Enamel Lesions. *J. Dent.* **2014**, *42*, 466–474. [[CrossRef](#)]
21. Wagner, J.A.; Kawamoto, A.T. Fluoride Varnish Compositions Including an Organo Phosphoric Acid Adhesion Promoting Agent. U.S. Patent 20,130,149,391A1, 7 October 2014.
22. Shen, P.; Bagheri, R.; Walker, G.; Yuan, Y.; Stanton, D.; Reynolds, C.; Reynolds, E. Effect of Calcium Phosphate Addition to Fluoride Containing Dental Varnishes on Enamel Demineralization. *Aust. Dent. J.* **2016**, *61*, 357–365. [[CrossRef](#)]
23. Lubojanski, A.; Piesiak-Panczyszyn, D.; Zakrzewski, W.; Dobrzynski, W.; Szymonowicz, M.; Rybak, Z.; Mielan, B.; Wiglusz, R.J.; Watras, A.; Dobrzynski, M. The Safety of Fluoride Compounds and Their Effect on the Human Body—A Narrative Review. *Materials* **2023**, *16*, 1242. [[CrossRef](#)]
24. Ten Cate, J.M.; Larsen, M.J.; Pearce, E.I.F.; Fejerskov, O. Chemical Interactions between the Tooth and Oral Fluids. In *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*; Fejerskov, O., Kidd, E.A.M., Eds.; Blackwell Publishing: Oxford, UK, 2003; pp. 49–69.
25. Jafari, K.; Hekmatfar, S.; Fereydunzadeh, M. In Vitro Comparison of Antimicrobial Activity of Conventional Fluoride Varnishes Containing Xylitol and Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate. *J. Int. Soc. Prev. Community Dent.* **2018**, *8*, 309. [[CrossRef](#)]
26. Carvalho, T.S.; Peters, B.G.; Rios, D.; Magalhães, A.C.; Sampaio, F.C.; Buzalaf, M.A.R.; Bönecker, M.J.S. Fluoride Varnishes with Calcium Glycerophosphate: Fluoride Release and Effect on in Vitro Enamel Demineralization. *Braz. Oral Res.* **2015**, *29*, 1–6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Milburn, J.L.; Henrichs, L.E. Substantive Fluoride Release from a New Fluoride Varnish Containing CXP. *Dentistry* **2015**, *5*, 12. [[CrossRef](#)]
28. Reynolds, E.C. Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate: The Scientific Evidence. *Adv. Dent. Res.* **2009**, *21*, 25–29. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Piesiak-Pańczyszyn, D.; Kaczmarek, U. Fluoride Release from Fluoride Varnish under In Vitro and In Vivo Conditions. *Dent. Med. Probl.* **2017**, *54*, 327–331. [[CrossRef](#)]
30. Chhatwani, S.; Hoppe, J.; Naumova, E.A.; Arnold, W.H.; Möhlhenrich, S.C.; Bizhang, M.; Danesh, G. Fluoride Ion Release Characteristics of Fluoride-Containing Varnishes—An In Vitro Study. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 1452. [[CrossRef](#)]
31. Cury, J.A.; Tenuta, L.M.A. Enamel Remineralization: Controlling the Caries Disease or Treating Early Caries Lesions? *Braz. Oral Res.* **2009**, *23*, 23–30. [[CrossRef](#)]
32. Girish Babu, K.; Subramaniam, P.; Teleti, S. Remineralization Potential of Varnish Containing Casein Phosphopeptides-Amorphous Calcium Phosphate with Fluoride and Varnish Containing Only Fluoride: A Comparative Study. *Saudi J. Oral Sci.* **2018**, *5*, 35. [[CrossRef](#)]
33. Vogel, G.L. Oral Fluoride Reservoirs and the Prevention of Dental Caries. *Monogr Oral. Sci.* **2011**, *22*, 146–157.
34. Martínez-Mier, E.A. Fluoride: Its Metabolism, Toxicity, and Role in Dental Health. *J. Evid. Based Complement. Altern. Med.* **2012**, *17*, 28–32. [[CrossRef](#)]
35. Ogaard, B. CaF₂ Formation: Cariostatic Properties and Factors of Enhancing the Effect. *Caries Res.* **2001**, *35* (Suppl. S1), 40–44. [[CrossRef](#)]

36. Rosin-Grget, K.; Lincir, I. Current Concept on the Anticaries Fluoride Mechanism of the Action. *Coll. Antropol.* **2001**, *25*, 703–712. [[PubMed](#)]
37. Mielczarek, A.; Michalik, J.; Kujawa, M. The Effect of Selected Fluoride Products on Microstructure of Early Caries Lesions. *Nowa Stomatol.* **2013**, *3*, 120–124.
38. Mohd Said, S.N.B.; Ekambaram, M.; Yiu, C.K.Y. Effect of Different Fluoride Varnishes on Remineralization of Artificial Enamel Carious Lesions. *Int. J. Paediatr. Dent.* **2017**, *27*, 163–173. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Whitford, G.M.; Wasdin, J.L.; Schafer, T.E.; Adair, S.M. Plaque Fluoride Concentrations Are Dependent on Plaque Calcium Concentrations. *Caries Res.* **2002**, *36*, 256–265. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Comar, L.; De Souza, B.M.; Grizzo, L.T.; Buzalaf, M.A.R.; Magalhães, A.C. Evaluation of fluoride release from experimental TiF₄ and NaF varnishes in vitro. *J. Appl. Oral Sci.* **2014**, *22*, 138–143. [[CrossRef](#)]
41. Attin, T.; Lennon, A.M.; Yakin, M.; Becker, K.; Buchalla, W.; Attin, R.; Wiegand, A. Deposition of fluoride on enamel surfaces released from varnishes is limited to vicinity of fluoridation site. *Clin. Oral Investig.* **2007**, *11*, 83. [[CrossRef](#)]
42. Ellwood, R.; Fejerskov, O.; Cury, J.A.; Clarkson, B. Fluorides in Caries Control. In *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*; Fejerskov, O., Kidd, E.A.M., Eds.; Blackwell Publishing: Oxford, UK, 2008; pp. 287–327.
43. Jablonowski, B.L.; Bartoloni, J.A.; Hensley, D.M.; Vandewalle, K.S. Fluoride Release from Newly Marketed Fluoride Varnishes. *Quintessence Int.* **2012**, *43*, 221–228.
44. Cochrane, N.J.; Cai, F.; Huq, N.L.; Burrow, M.F.; Reynolds, E.C. New Approaches to Enhanced Remineralization of Tooth Enamel. *J. Dent. Res.* **2010**, *89*, 1187–1197. [[CrossRef](#)]
45. Cochrane, N.; Shen, P.; Yuan, Y.; Reynolds, E. Ion Release from Calcium and Fluoride Containing Dental Varnishes. *Aust. Dent. J.* **2014**, *59*, 100–105. [[CrossRef](#)]
46. Reynolds, E. Calcium Phosphate-Based Remineralization Systems: Scientific Evidence? *Aust. Dent. J.* **2008**, *53*, 268–273. [[CrossRef](#)]
47. Santos, L.d.M.; dos Reis, J.I.L.; de Medeiros, M.P.; Ramos, S.M.; de Araújo, J.M. In Vitro Evaluation of Fluoride Products in the Development of Carious Lesions in Deciduous Teeth. *Braz. Oral. Res.* **2009**, *23*, 296–301. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Ekambaram, M.; Mohd Said, S.N.B.; Yiu, C.K.Y. A Review of Enamel Remineralisation Potential of Calcium- and Phosphate-Based Remineralisation Systems. *Oral. Health Prev. Dent.* **2017**, *15*, 415–420. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Majithia, U.; Venkataraghavan, K.; Choudhary, P.; Trivedi, K.; Shah, S.; Virda, M. Comparative Evaluation of Application of Different Fluoride Varnishes on Artificial Early Enamel Lesion: An in Vitro Study. *Indian J. Dent. Res.* **2016**, *27*, 521. [[CrossRef](#)]
50. Damyanova, D.D.; Angelova, D.S.; Targova-Dimitrova, D.T. Clinical Study Remineralization Effect of Mineralization Varnish. *IOSR J. Dent. Med. Sci.* **2016**, *15*, 134–136. [[CrossRef](#)]
51. Somasundaram, P.; Mandke, L.; Vimala, N. Protective Potential of Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate Containing Paste on Enamel Surfaces. *J. Conserv. Dent.* **2013**, *16*, 152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Lena, C.; Leyda, A.M.; Forner, L. CPP-ACP and CPP-ACFP versus Fluoride Varnish in Remineralisation of Early Caries Lesions. A Prospective Study. *Eur. J. Paediatr. Dent.* **2015**, *16*, 181–186. [[PubMed](#)]
53. Dai, Z.; Liu, M.; Ma, Y.; Cao, L.; Xu, H.H.K.; Zhang, K.; Bai, Y. Effects of Fluoride and Calcium Phosphate Materials on Remineralization of Mild and Severe White Spot Lesions. *BioMed Res. Int.* **2019**, *2019*, 1271523. [[CrossRef](#)]
54. Memarpour, M.; Fakhraei, E.; Dadaein, S.; Vossoughi, M. Efficacy of Fluoride Varnish and Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate for Remineralization of Primary Teeth: A Randomized Clinical Trial. *Med. Princ. Pract.* **2015**, *24*, 231–237. [[CrossRef](#)]
55. Güçlü, Z.A.; Alaçam, A.; Coleman, N.J. A 12-Week Assessment of the Treatment of White Spot Lesions with CPP-ACP Paste and/or Fluoride Varnish. *BioMed Res. Int.* **2016**, *2016*, 1271523. [[CrossRef](#)]
56. Pithon, M.M.; Baião, F.S.; Sant’Anna, L.I.D.; Tanaka, O.M.; Cople-Maia, L. Effectiveness of Casein Phosphopeptide-amorphous Calcium Phosphate-containing Products in the Prevention and Treatment of White Spot Lesions in Orthodontic Patients: A Systematic Review. *J. Investig. Clin. Dent.* **2019**, *10*, e12391. [[CrossRef](#)]
57. Tuloglu, N.; Bayrak, S.; Tunc, E.S.; Ozer, F. Effect of Fluoride Varnish with Added Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate on the Acid Resistance of the Primary Enamel. *BMC Oral. Health* **2016**, *16*, 103. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Salman, N.R.; ElTekeya, M.; Bakry, N.; Omar, S.S.; El Tantawi, M. Comparison of Remineralization by Fluoride Varnishes with and without Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate in Primary Teeth. *Acta Odontol. Scand.* **2019**, *77*, 9–14. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Schemehorn, B.R.; Orban, J.C.; Wood, G.D.; Fischer, G.M.; Winston, A.E. Remineralization by Fluoride Enhanced with Calcium and Phosphate Ingredients. *J. Clin. Dent.* **1999**, *10*, 13–16. [[PubMed](#)]
60. Fernández, C.E.; Tenuta, L.M.A.; Zárate, P.; Cury, J.A. Insoluble NaF in Duraphat[®] May Prolong Fluoride Reactivity of Varnish Retained on Dental Surfaces. *Braz. Dent. J.* **2014**, *25*, 160–164. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Hatrick, C.D.; Eakle, W.S. *Dental Materials: Clinical Applications for Dental Assistants and Dental Hygienists*, 3rd ed.; Elsevier Health Sciences: Amsterdam, The Netherlands, 2015; ISBN 1455773859.
62. Eakle, W.S.; Featherstone, J.D.B.; Weintraub, J.A.; Shain, S.G.; Gansky, S.A. Salivary fluoride levels following application of fluoride varnish or fluoride rinse. *Community Dent. Oral Epidemiol.* **2004**, *32*, 462–469. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Zhang, Q.; Zou, J.; Yang, R.; Zhou, X. Remineralization effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate crème on artificial early enamel lesions of primary teeth. *Int. J. Paediatr. Dent.* **2011**, *21*, 374–381. [[CrossRef](#)]

64. Sleibi, A.; Tappuni, A.; Karpukhina, N.G.; Hill, R.G.; Baysan, A. A comparative evaluation of ion release characteristics of three different dental varnishes containing fluoride either with CPP-ACP or bioactive glass. *Dent. Mater.* **2019**, *35*, 1695–1705. [[CrossRef](#)]
65. Yapp, R.; Powers, J.M. Fluoride Ion Release from Several Fluoride Varnishes. *Dent. Advis.* **2012**, *44*, 1.
66. Almaz, M.E.; Oba, A.A. Antibacterial activity of fluoride varnishes containing different agents in children with severe early childhood caries: A randomised controlled trial. *Clin. Oral Investig.* **2020**, *24*, 2129–2136. [[CrossRef](#)]
67. Virupaxi, S.G. Comparative Evaluation of Longevity of Fluoride Release from three Different Fluoride Varnishes—An Invitro Study. *J. Clin. Diagn. Res.* **2016**, *10*, ZC33–ZC36. [[CrossRef](#)]
68. Piesiak-Pańczyszyn, D.; Kaczmarek, U. Salivary Fluoride Level Following Application of Three Different 5% Sodium Fluoride Varnishes. *Stomatol. Współcz.* **2017**, *3*, 22–27.
69. Castillo, J.L.; Milgrom, P. Fluoride Release from Varnishes in Two in Vitro Protocols. *J. Am. Dent. Assoc.* **2004**, *135*, 1696–1699. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Shen, C.; Autio-Gold, J. Assessing Fluoride Concentration Uniformity and Fluoride Release from Three Varnishes. *J. Am. Dent. Assoc.* **2002**, *133*, 176–182. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
71. Pichaiakrit, W.; Thamrongananskul, N.; Siralermukul, K.; Swasdison, S. Fluoride Varnish Containing Chitosan Demonstrated Sustained Fluoride Release. *Dent. Mater. J.* **2019**, *38*, 1036–1042. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Castillo, J.L.; Milgrom, P.; Kharasch, E.; Izutsu, K.; Fey, M. Evaluation of Fluoride Release from Commercially Available Fluoride Varnishes. *J. Am. Dent. Assoc.* **2001**, *132*, 1389–1392; quiz 1459–1460. [[CrossRef](#)]
73. Ritwik, P.; Aubel, J.; Xu, X.; Fan, Y.; Hagan, J. Evaluation of Short Term Fluoride Release from Fluoride Varnishes. *J. Clin. Pediatr. Dent.* **2012**, *36*, 275–278. [[CrossRef](#)]
74. Cross, K.J.; Huq, N.L.; Reynolds, E.C. Casein Phosphopeptides in Oral Health—Chemistry and Clinical Applications. *Curr. Pharm. Des.* **2007**, *13*, 793–800. [[CrossRef](#)]
75. Kolter, K.; Wichtner, M.; Schönherr, M.; Mittwollen, J.-P. Pharmaceutical Formulation for Producing Rapidly Disintegrating Tablets. U.S. Patent 8,425,935B2, 11 December 2006.
76. Wang, W.; Xie, Q.; Xu, T.; Wang, Q.; Malmstrom, H.S.; Ren, Y.-F. Fluoride Release and Anti-Erosive Effects of Dentifrices Containing PVM/MA Copolymers. *J. Dent.* **2013**, *41*, 148–154. [[CrossRef](#)]
77. Twetman, S.; Sköld-Larsson, K.; Modéer, T. Fluoride Concentration in Whole Saliva and Separate Gland Secretions after Topical Treatment with Three Different Fluoride Varnishes. *Acta. Odontol. Scand.* **1999**, *57*, 263–266. [[CrossRef](#)]
78. Lippert, F. Fluoride Release from Fluoride Varnishes under Acidic Conditions. *J. Clin. Pediatr. Dent.* **2014**, *39*, 35–39. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

IV ZAŁĄCZNIKI

1. Informacja o indywidualnym wkładzie współautorów

Wrocław, dnia 27.11.2023 roku

Oświadczenie

Oświadczam, że w poniższej pracy mój wkład stanowił zgodnie z rozdzielnikiem

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn ¹, Wojciech Zakrzewski ², Aleksandra Piszko ³, Paweł J. Piszko ⁴, Maciej Dobrzyński ³: Review on fluoride varnishes currently recommended in dental prophylaxis. *Polim Med.* 2023. doi.org/ 10.17219/pim/174016

¹ Katedra Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

² Centrum Badań Przedklinicznych, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Bujwida 44, 50–345 Wrocław

³ Katedra Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

⁴ Katedra Inżynierii i Technologii Polimerów, Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny, ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 42, 50-370 Wrocław

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn – A,B,C,D

Wojciech Zakrzewski – A,B,C,D

Aleksandra Piszko – B,C,D

Paweł J. Piszko – B,C,D

Maciej Dobrzyński – E,F

A – koncepcja i projekt badawczy;

B – gromadzenie danych;

C – analiza i interpretacja danych;

D – napisanie artykułu;

E – krytyczna ocena artykułu;

F – ostateczna akceptacja artykułu

Wojciech Zakrzewski
LEKARZ DENTYSTA
3842241
czytelny podpis

Wrocław, dnia 27.11.2023 roku

Oświadczenie

Oświadczam, że w poniższej pracy mój wkład stanowił zgodnie z rozdzielnikiem

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn ¹, Wojciech Zakrzewski ², Aleksandra Piszko ³, Paweł J. Piszko ⁴,
Maciej Dobrzyński ³: Review on fluoride varnishes currently recommended in dental
prophylaxis. *Polim Med.* 2023. doi.org/ 10.17219/pim/174016

¹ Katedra Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu,
ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

² Centrum Badań Przedklinicznych, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Bujwida 44,
50–345 Wrocław

³ Katedra Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Uniwersytet Medyczny we
Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

⁴ Katedra Inżynierii i Technologii Polimerów, Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny,
ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 42, 50-370 Wrocław

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn – A,B,C,D

Wojciech Zakrzewski – A,B,C,D

Aleksandra Piszko – B,C,D

Paweł J. Piszko – B,C,D

Maciej Dobrzyński – E,F

A – koncepcja i projekt badawczy;

B – gromadzenie danych;

C – analiza i interpretacja danych;

D – napisanie artykułu;

E – krytyczna ocena artykułu;

F – ostateczna akceptacja artykułu



czytelny podpis

Wrocław, dnia 27.11.2023 roku

Oświadczenie

Oświadczam, że w poniższej pracy mój wkład stanowił zgodnie z rozdzielnikiem

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn ¹, Wojciech Zakrzewski ², Aleksandra Piszko ³, Paweł J. Piszko ⁴,
Maciej Dobrzyński ³: Review on fluoride varnishes currently recommended in dental
prophylaxis. *Polim Med.* 2023. doi.org/ 10.17219/pim/174016

¹ Katedra Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu,
ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

² Centrum Badań Przedklinicznych, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Bujwida 44,
50–345 Wrocław

³ Katedra Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Uniwersytet Medyczny we
Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

⁴ Katedra Inżynierii i Technologii Polimerów, Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny,
ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 42, 50-370 Wrocław

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn – A,B,C,D

Wojciech Zakrzewski – A,B,C,D

Aleksandra Piszko – B,C,D

Paweł J. Piszko – B,C,D

Maciej Dobrzyński – E,F

A – koncepcja i projekt badawczy;

B – gromadzenie danych;

C – analiza i interpretacja danych;

D – napisanie artykułu;

E – krytyczna ocena artykułu;

F – ostateczna akceptacja artykułu



czytelny podpis

Wrocław, dnia 27.11.2023 roku

Oświadczenie

Oświadczam, że w poniższej pracy mój wkład stanowił zgodnie z rozdzielnikiem

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn ¹, Wojciech Zakrzewski ², Aleksandra Piszko ³, Paweł J. Piszko ⁴,
Maciej Dobrzyński ³: Review on fluoride varnishes currently recommended in dental
prophylaxis. *Polim Med.* 2023. doi.org/ 10.17219/pim/174016

¹ Katedra Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu,
ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

² Centrum Badań Przedklinicznych, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Bujwida 44,
50–345 Wrocław

³ Katedra Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Uniwersytet Medyczny we
Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

⁴ Katedra Inżynierii i Technologii Polimerów, Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny,
ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 42, 50-370 Wrocław

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn – A,B,C,D

Wojciech Zakrzewski – A,B,C,D

Aleksandra Piszko – B,C,D

Paweł J. Piszko – B,C,D

Maciej Dobrzyński – E,F

A – koncepcja i projekt badawczy;

B – gromadzenie danych;

C – analiza i interpretacja danych;

D – napisanie artykułu;

E – krytyczna ocena artykułu;

F – ostateczna akceptacja artykułu

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Wydział Lekarsko-Stomatologiczny
KATEDRA ZAKŁAD
STOMATOLOGII DZIECIĘCJ
i STOMATOLOGII PRZEDKLINICZNEJ
Maciej Dobrzyński
czYTELNY podpis
dr hab. n. med. Maciej Dobrzyński, profesor uczelni

Wrocław, dnia 27.11.2023 roku

Oświadczenie

Oświadczam, że w poniższej pracy mój wkład stanowił zgodnie z rozdzielnikiem

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn ¹, Martyna Staszewicz ², Maciej Dobrzyński ³: Uwalnianie jonów fluorkowych z lakieru fluorkowego drugiej generacji zawierającego CPP – ACP w warunkach *in vitro* i *in vivo* z zastosowaniem jonoselektywnej. *Inż. Fiz. Med.* 2023, 5, 12, 445-454.

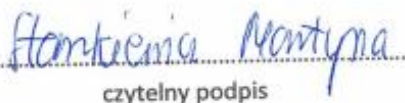
¹ Katedra Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

² Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wybrzeże Ludwika Pasteura 1, 50–367 Wrocław

³ Katedra Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn – A,B,C,D
Martyna Staszewska – B,C,D
Maciej Dobrzyński – E,F

A – koncepcja i projekt badawczy;
B – gromadzenie danych;
C – analiza i interpretacja danych;
D – napisanie artykułu;
E – krytyczna ocena artykułu;
F – ostateczna akceptacja artykułu


czytelny podpis

Wrocław, dnia 27.11.2023 roku

Oświadczenie

Oświadczam, że w poniższej pracy mój wkład stanowił zgodnie z rozdzielnikiem

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn ¹, Martyna Staszekwicz ², Maciej Dobrzyński ³: Uwalnianie jonów fluorkowych z lakieru fluorkowego drugiej generacji zawierającego CPP – ACP w warunkach *in vitro* i *in vivo* z zastosowaniem jonoselektywnej. *Inż. Fiz. Med.* 2023, 5, 12, 445-454.

¹ Katedra Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

² Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wybrzeże Ludwika Pasteura 1, 50–367 Wrocław

³ Katedra Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn – A,B,C,D
Martyna Staszewska – B,C,D
Maciej Dobrzyński – E,F

A – koncepcja i projekt badawczy;
B – gromadzenie danych;
C – analiza i interpretacja danych;
D – napisanie artykułu;
E – krytyczna ocena artykułu;
F – ostateczna akceptacja artykułu

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Wydział Lekarsko-Stomatologiczny
- KATEDRA I ZAKŁAD
STOMATOLOGII DZIECIĘCJ I
STOMATOLOGII PRZEDKLINICZNEJ
KATEDRA
czytelny podpis
dr hab. n. med. Maciej Dobrzyński, profesor uczelni

Wrocław, dnia 27.11.2023 roku

Oświadczenie

Oświadczam, że w poniższej pracy mój wkład stanowił zgodnie z rozdzielnikiem

Dagmara Piesiak-Panczyszyn ¹, Adam Watras ^{2,3}, Rafał J. Wiglusz ², Maciej Dobrzyński ³:
In vitro comparison of the fluoride ion release from the first and second generation fluoride varnishes. *Appl. Sci.* 2023, 13, 7327. <https://doi.org/10.3390/app13127327>

¹ Katedra Stomatologii Zachowawczej z Endodencją, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50 – 425 Wrocław

² Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu, ul. Okólna 2, 50–422 Wrocław

³ Katedra Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

Dagmara Piesiak–Pańczyszyn – A,B,C,D

Adam Watras – B,C,D

Rafał J. Wiglusz – E,F

Maciej Dobrzyński – A,E,F

A – koncepcja i projekt badawczy;

B – gromadzenie danych;

C – analiza i interpretacja danych;

D – napisanie artykułu;

E – krytyczna ocena artykułu;

F – ostateczna akceptacja artykułu


.....
czytelny podpis

Wrocław, dnia 27.11.2023 roku

Oświadczenie

Oświadczam, że w poniższej pracy mój wkład stanowił zgodnie z rozdzielnikiem

Dagmara Piesiak-Panczyszyn ¹, Adam Watras ^{2,3}, Rafał J. Wiglusz ², Maciej Dobrzyński ³:
In vitro comparison of the fluoride ion release from the first and second generation fluoride varnishes. *Appl. Sci.* 2023, 13, 7327. <https://doi.org/10.3390/app13127327>

¹ Katedra Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50 – 425 Wrocław

² Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu, ul. Okólna 2, 50–422 Wrocław

³ Katedra Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

Dagmara Piesiak-Pańczyszyn – A,B,C,D

Adam Watras – B,C,D

Rafał J. Wiglusz – E,F

Maciej Dobrzyński – A,E,F

A – koncepcja i projekt badawczy;

B – gromadzenie danych;

C – analiza i interpretacja danych;

D – napisanie artykułu;

E – krytyczna ocena artykułu;

F – ostateczna akceptacja artykułu



czytelny podpis

Wrocław, dnia 27.11.2023 roku

Oświadczenie

Oświadczam, że w poniższej pracy mój wkład stanowił zgodnie z rozdzielnikiem

Dagmara Pesiak-Panczyszyn ¹, Adam Watras ^{2,3}, Rafał J. Wiglusz ², Maciej Dobrzyński ³:
In vitro comparison of the fluoride ion release from the first and second generation fluoride
varnishes. *Appl. Sci.* 2023, 13, 7327. <https://doi.org/10.3390/app13127327>

¹ Katedra Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu,
ul. Krakowska 26, 50 – 425 Wrocław

² Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu,
ul. Okólna 2, 50–422 Wrocław

³ Katedra Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Uniwersytet Medyczny we
Wrocławiu, ul. Krakowska 26, 50–425 Wrocław

Dagmara Pesiak–Pańczyszyn – A,B,C,D
Adam Watras – B,C,D
Rafał J. Wiglusz – E,F
Maciej Dobrzyński – A,E,F

A – koncepcja i projekt badawczy;
B – gromadzenie danych;
C – analiza i interpretacja danych;
D – napisanie artykułu;
E – krytyczna ocena artykułu;
F – ostateczna akceptacja artykułu

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Wydział Lekarsko-Stomatologiczny
KATEDRA I ZYWIAD
STOMATOLOGII DZIECIĘCJ I
STOMATOLOGII PRZEDKLINICZNEJ
Wrocław
czytelny podpis
dr hab. n. med. Maciej Dobrzyński, profesor uczelni

2. Opinia Komisji Bioetycznej

KOMISJA BIOETYCZNA
przy
Uniwersytecie Medycznym
we Wrocławiu
ul. Pasteura 1; 50-367 WROCLAW

OPINIA KOMISJI BIOETYCZNEJ Nr KB – 45/2016

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu, powołana zarządzeniem Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu nr 48/XV R/2011 z dnia 24 października 2011 r. oraz działająca w trybie przewidzianym rozporządzeniem Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 1 maja 1999 r. (Dz.U. nr 47, poz. 480) na podstawie ustawy o zawodzie lekarza z dnia 5 grudnia 1996 r. (Dz.U. nr 28 z 1997 r. poz. 152 z późniejszymi zmianami) w składzie:

prof. dr hab. Maciej Bałaj (chirurgia, pediatria)
prof. dr hab. Karol Bał (filozofia)
dr hab. Jacek Daroszewski (endokrynologia, diabetologia)
prof. dr hab. Krzysztof Grabowski (chirurgia)
dr Henryk Kaczkowski (chirurgia szczękowa, chirurgia stomatologiczna)
mgr Irena Knabel-Krzyszowska (farmacja)
prof. dr hab. Jan Kolasa (prawo)
prof. dr hab. Jerzy Liebhart (choroby wewnętrzne, alergologia)
ks. dr Piotr Mrzygłód (duchowny)
prof. dr hab. Krystyna Orzechowska-Juzwenko (farmakologia kliniczna, choroby wewnętrzne)
prof. dr hab. Zbigniew Rudkowski (pediatria)
dr hab. Sławomir Sidorowicz (psychiatria)
Danuta Tarkowska (położnictwo)
dr hab. Andrzej Wojnar (histopatologia, dermatologia) przedstawiciel Dolnośląskiej Izby Lekarskiej)

pod przewodnictwem

prof. dr hab. Jana Kornafela (ginekologia i położnictwo, onkologia)

Przestrzegając w działalności zasad Good Clinical Practice oraz zasad Deklaracji Helsińskiej, po zapoznaniu się z projektem badawczym pt.

„Poziom fluoru w ślinie po aplikacji lakieru fluorkowego”

zgłoszonym przez **Panią prof. dr hab. Urszulę Kaczmarek** zatrudnioną w Katedrze i Zakładzie Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu oraz złożonymi wraz z wnioskiem dokumentami, w tajnym głosowaniu postanowiła wyrazić zgodę na przeprowadzenie badania w Katedrze i Zakładzie Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej **pod warunkiem zachowania anonimowości uzyskanych danych.**

Uwaga: Badanie to zostało objęte ubezpieczeniem odpowiedzialności cywilnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z tytułu prowadzonej działalności:

Pouczenie: W ciągu 14 dni od otrzymania decyzji wnioskodawcy przysługuje prawo odwołania do Komisji Odwoławczej za pośrednictwem Komisji Bioetycznej UM we Wrocławiu

Opinia powyższa dotyczy: dotyczy projektów badawczych będących podstawą działalności statutowej.

Wrocław, dnia *11* lutego 2016 r.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KOMISJA BIOETYCZNA
przewodniczący
prof. dr hab. Jan Kornafel

KOMISJA BIOETYCZNA
przy Uniwersytecie Medycznym
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
Wybrzeże L. Pasteura 1, 50-367 Wrocław
tel. 71 784 10 14, 784 17 10, faks: 71 71 784 01 20
e-mail: bioetyka@umed.wroc.pl
http://www.umed.wroc.pl/bioetyka

EZ

za zgodność z oryginałem

Komisja Bioetyczna
przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu
sekretariat

mgr Bronisława Żelustowicz
główny specjalista

3. Wykaz publikacji autora

Dagmara Magdalena Piesiak-Pańczyszyn

1. Publikacje w czasopismach naukowych

1.1 Publikacje w czasopiśmie z IF

Lp.	Opis bibliograficzny	IF	Punkty
1	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Pregiel Beata, Wrzyszczyk-Kowalczyk Alina: Clinical application of MTA material in dentistry - case report, Polish Journal of Environmental Studies, 2008, vol. 17, nr 6A part, s. 475-480. [Second Scientific and Educational Conference "State of health of oral cavity and environments conditionals. Achivments of modern dentistry". Nałęczów, 24th-26th of April 2008]	0,963	13
2	Janeczek Maciej, Herman Katarzyna, Fita Katarzyna, Dudek Krzysztof, Kowalczyk-Zajac Małgorzata, Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Kosior Piotr, Dobrzyński Maciej: Assessment of heat hazard during the polymerization of selected light-sensitive dental materials, BioMed Research International, 2016, vol. 2016, art.4158376 [7 s.], DOI:10.1155/2016/4158376	2,476	25
3	Janeczek Maciej, Kosior Piotr, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Dudek Krzysztof, Chrószcz Aleksander, Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Kowalczyk-Zajac Małgorzata, Gabren-Syller Aleksandra, Kirstein Karol, Skalec Aleksandra, Bryła Ewelina, Dobrzyński Maciej: The effect of file size and type and irrigation solutions on the accuracy of electronic apex locators: an in vitro study on canine teeth, BioMed Research International, 2016, vol. 2016, art.8594087 [7 s.], DOI:10.1155/2016/8594087	2,476	25
4	Kosior Piotr, Dobrzyński Maciej, Korczyński Mariusz, Herman Katarzyna, Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Kowalczyk-Zajac Małgorzata, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Fita Katarzyna, Janeczek Maciej: Long-term release of fluoride from fissure sealants - in vitro study, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2017, vol. 41, s. 107-110, DOI:10.1016/j.jtemb.2017.02.014	3,755	20
5	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Watras Adam, Wiglusz Rafal J., Dobrzyński Maciej: In vitro comparison of the fluoride ion release from the first- and second-generation fluoride varnishes, Applied Sciences-Basel, 2023, vol. 13, nr 12, art.7327 [12 s.], DOI:10.3390/app13127327	2,7*	100
6	Lubojański Adam, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Zakrzewski Wojciech, Dobrzyński Wojciech, Szymonowicz Maria, Rybak Zbigniew, Mielan Bartosz, Wiglusz Rafal J., Watras Adam, Dobrzyński Maciej: The safety of fluoride compounds and their effect on the human body - a narrative review, Materials, 2023, vol. 16, nr 3, art.1242 [20 s.], DOI:10.3390/ma16031242	3,4*	140
	Podsumowanie	15,77	323

*IF 2021

1.2 Publikacje w czasopiśmie bez IF

Lp.	Opis bibliograficzny	Punkty
1	Kaczmarek Urszula, Piesiak Dagmara , Woźniak Joanna, Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Łoś Przemysław, Pitts Nigel B., Longbottom Christopher: Charakterystyka właściwości przewodnictwa	5

	elektrycznego powierzchni zębów metodą spektroskopii impedancyjnej - badania wstępne, Czasopismo Stomatologiczne, 2001, vol. 54, nr 9, s. 559-564	
2	Kaczmarek Urszula, Piesiak Dagmara , Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Łoś Przemysław, Pitts Nigel, Longbottom Christopher: Porównanie pomiarów przewodnictwa elektrycznego zębów metodą spektroskopii impedancyjnej w warunkach pokojowych i symulujących środowisko jamy ustnej, Czasopismo Stomatologiczne, 2002, vol. 55, nr 4, s. 205-210	4
3	Woźniak Joanna, Kaczmarek Urszula, Piesiak Dagmara : Diagnostowanie początkowych zmian próchnicowych. Część 1. Metody oparte na zjawiskach optycznych, Twój Magazyn Medyczny-Forum Stomatologiczne, 2003, vol. 8, nr 4, 54, 56, 58-63	2
4	Woźniak Joanna, Kaczmarek Urszula, Piesiak Dagmara : Diagnostowanie wczesnych zmian próchnicowych. Część 2. Metody oparte na zjawiskach elektrycznych, Forum Stomatologiczne, 2004, vol. 1, nr 1, 31-34, 36	2
5	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Kaczmarek Urszula, Woźniak Joanna: Wpływ wytrawiania powierzchni wczesnej zmiany próchnicowej na proces jej leczenia z użyciem różnych preparatów remineralizacyjnych - badania in vitro, Czasopismo Stomatologiczne, 2005, vol. 58, nr 9, s. 620-627	4
6	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Kaczmarek Urszula: Analiza porównawcza obrazu ultrastrukturalnego i składu chemicznego wczesnej zmiany próchnicowej i zdrowych tkanek twardych zębów, Dental and Medical Problems, 2005, vol. 42, nr 3, s. 443-448	3
7	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Czajczyńska Agnieszka, Kaczmarek Urszula: Zastosowanie techniki mikroskopowej w obrazowaniu i leczeniu wczesnej zmiany próchnicowej = Application of microscope technique in representation and treatment of early caries lesion, Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów, 2005, vol. 8, nr 47-53, s. 169-174	2
8	Woźniak Joanna, Kaczmarek Urszula, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Czajczyńska Agnieszka, Łoś Przemysław: The reproducibility of tooth impedance spectroscopy measurements: an in vitro study, Dental and Medical Problems, 2007, vol. 44, nr 1, s. 11-17	3
9	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Pregiel Beata: Zaburzenia czasu wyrzynania się i hipoplazja szkliwa zęba stałego jako skutki przewlekłego stanu zapalnego tkanek okołowierzchołkowych zęba mlecznego. Opis przypadku - doniesienie wstępne, Magazyn Stomatologiczny, 2007, vol. 17, nr 9, s. 94-96	3
10	Kaczmarek Urszula, Grzesiak Iwona, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara : Temperament a oceny egzaminacyjne studentów stomatologii, Magazyn Stomatologiczny, 2007, vol. 17, nr 12, s. 68-72	3
11	Woźniak Joanna, Kaczmarek Urszula, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Pietkiewicz-Rzepa Agnieszka: Powtarzalność pomiarów fluorescencji za pomocą aparatu Diagnodent® na powierzchniach zużywających zębów trzonowych w warunkach in vitro, Dental and Medical Problems, 2008, vol. 45, nr 3, s. 255-259	6
12	Herman Katarzyna, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara : Wpływ diety wegetariańskiej na stężenie wydzielniczej immunoglobuliny A w ślinie, Dental and Medical Problems, 2008, vol. 45, nr 4, s. 407-412	6
13	Sokołowska-Trelka Agnieszka, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Zeńczak-Więckiewicz Dobrochna, Mochniej Halina: Zmiany patologiczne w jamie ustnej na tle przewlekłej niewydolności nerek - opis przypadku, Czasopismo Stomatologiczne, 2009, vol. 62, nr 1, s. 42-48	9
14	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Pregiel Beata, Fita Katarzyna: Leczenie endodontyczne z niezakończonym rozwojem korzeni w zależności od zastosowanych materiałów, Implantoprotetyka, 2010, vol. 11, nr 1, s. 38-43	6
15	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Pregiel Beata, Fita Katarzyna: Leczenie endodontyczne zębów stałych z niezakończonym rozwojem korzeni w zależności od zastosowanych materiałów, Implantoprotetyka, 2010, vol. 11, nr 2-3, s. 19-24	6

16	Pregiel Beata,Wrzyszc-Kowalczyk Alina, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara :Aktualne poglądy na temat substytutów cukru, Poradnik Stomatologiczny, 2010, vol. 10, nr 2, s. 60-65	6
17	Herman Katarzyna,Wrzyszc-Kowalczyk Alina, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Jankowska Katarzyna:Ocena kliniczna pasty do zębów Parodontax Fluoride, Magazyn Stomatologiczny, 2011, vol. 21, nr 2, s. 38-42	6
18	Wrzyszc-Kowalczyk Alina,Herman Katarzyna, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Jankowska Katarzyna:Zachowania prozdrowotne studentów stomatologii i innych uczelni w zakresie zdrowia jamy ustnej, Magazyn Stomatologiczny, 2011, vol. 21, nr 5, s. 96-101	6
19	Wrzyszc-Kowalczyk Alina, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Herman Katarzyna,Jankowska Katarzyna,Mysiak-Dębska Monika:Uwalnianie jonów fluoru do środowiska jamy ustnej z wybranej pasty do zębów, Dental and Medical Problems, 2013, vol. 50, nr 1, s. 38-44	5
20	Jankowska Katarzyna, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Herman Katarzyna,Kasiak Mirosława,Wrzyszc-Kowalczyk Alina:Domowe leczenie nadwrażliwości zębiny z zastosowaniem technologii Pro-Argin, Dental and Medical Problems, 2014, vol. 51, nr 3, s. 365-374	5
21	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Wrzyszc-Kowalczyk Alina,Kobierska-Brzoza Joanna:A comparison of selected regenerative materials used in the management of pulp diseases - review of the literature, Dental and Medical Problems, 2015, vol. 52, nr 4, s. 485-490, DOI:10.17219/dmp/58819	11
22	Wrzyszc-Kowalczyk Alina,Herman Katarzyna, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Mysiak-Dębska Monika,Dębska-Łasut Katarzyna:Nawyki żywieniowe a stan zdrowia jamy ustnej studentów stomatologii i innych wrocławskich uczelni, Magazyn Stomatologiczny, 2015, vol. 25, nr 5, 115-122 (online)	6
23	Jankowska Katarzyna, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Herman Katarzyna,Wrzyszc-Kowalczyk Alina:Profesjonalne metody leczenia nadwrażliwości zębiny po zabiegach stomatologicznych z wykorzystaniem technologii Pro-Argin, Magazyn Stomatologiczny, 2015, vol. 25, nr 6, 113-118 (online)	6
24	Jankowska Katarzyna, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara :Leczenie nadwrażliwości zębiny po zabiegach stomatologicznych, Medical Tribune, 2015, s. 13-15	2
25	Wrzyszc-Kowalczyk Alina, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Jankowska Katarzyna:Wybrane metody zapobiegania procesom kariogennym u dzieci, Medical Tribune, 2015, s. 21-24	2
26	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Wrzyszc-Kowalczyk Alina,Jankowska Katarzyna:Metody i materiały zachowawczego zaopatrywania perforacji zębów, Medical Tribune, 2015, s. 25-29	2
27	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Wrzyszc-Kowalczyk Alina,Jankowska Katarzyna:Profilaktyka fluorkowa w zapobieganiu chorobie próchnicowej, Medical Tribune, 2016, s. 4-8	2
28	Jankowska Katarzyna, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Soltan Elżbieta,Kanaffa-Kilijańska Urszula,Kasiak Mirosława:Porównanie przydatności indykatora próchnicy w pracy klinicznej studentów III i V roku stomatologii = A comparison of the usefulness of a caries indicator in the clinical practice of third-year and fifth-year dentistry students, Nowa Stomatologia, 2016, vol. 21, nr 1, s. 3-11, DOI:10.5604/14266911.1199062	6
29	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Kaczmarek Urszula:Fluoride release from fluoride varnish under in vitro and in vivo conditions, Dental and Medical Problems, 2017, vol. 54, nr 4, s. 327-331, DOI:10.17219/dmp/78887	11
30	Wrzyszc-Kowalczyk Alina,Jankowska Katarzyna,Przywitowska Iwona, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara :Kompleksowe zapobieganie patologiom jamy ustnej u dzieci z przewlekłą chorobą nerek, Medical Tribune, 2017, s. 24-27	4
31	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara ,Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka,Kowalczyk-Zajac Małgorzata,Soltan Elżbieta:Ocena kliniczna wypełnień z materiału kompozytowego Evetric =	6

	Clinical evaluation of restorations made using Evetric composite, Nowa Stomatologia, 2017, vol. 22, nr 3, s. 103-111	
32	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Kaczmarek Urszula: Poziom fluoru w ślinie po aplikacji trzech różnych lakierów fluorkowych zawierających 5% fluoru sodu, Stomatologia Współczesna, 2017, vol. 24, nr 3, s. 22-27	4
33	Giers-Kryczekow Magda, Wrzyszczyk-Kowalczyk Alina, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Jankowska Katarzyna: Aktualne poglądy dotyczące profilaktyki próchnicy u dzieci do drugiego roku życia, Medical Tribune, 2018, s. 16-19	4
34	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Wrzyszczyk-Kowalczyk Alina, Jankowska Katarzyna, Giers-Kryczekow Magda: Aktualne zalecenia dotyczące profilaktyki próchnicy u dzieci od drugiego do szóstego roku życia, Medical Tribune, 2018, s. 24-27	4
35	Wrzyszczyk-Kowalczyk Alina, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Jankowska Katarzyna, Giers-Kryczekow Magda: Aktualne zalecenia dotyczące profilaktyki zdrowia jamy ustnej dla dzieci powyżej szóstego roku życia, Medical Tribune, 2018, s. 43-46	4
36	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Wrzyszczyk-Kowalczyk Alina, Jankowska Katarzyna, Giers-Kryczekow Magda: Kumulacja związków fluoru w organizmie ludzkim. Źródła związków fluorkowych, Medical Tribune, 2019, 45-46, 48, [Publikacja w czasopiśmie spoza listy MNiSW]	5
37	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Wrzyszczyk-Kowalczyk Alina, Jankowska Katarzyna, Giers-Kryczekow Magda: Nadmierna podaż fluoru i jego toksyczność, Medical Tribune, 2019, s. 45-47, [Publikacja w czasopiśmie spoza listy MNiSW]	5
38	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Staszkiwicz Martyna, Dobrzyński Maciej: Uwalnianie jonów fluorkowych z lakieru fluorkowego drugiej generacji zawierającego CPP - ACP w warunkach in vitro i in vivo z zastosowaniem jonoselektywnej elektrody, Inżynier i Fizyk Medyczny, 2023, vol. 12, nr 5, s. 445-454	20
	Podsumowanie	196

2. Abstrakty

Lp.	Opis bibliograficzny
1	Kasiak Mirosława, Sozańska Zofia, Piesiak Dagmara, Grabowska-Holysz Anna: Skuteczność usuwania miękkich osadów za pomocą różnych typów szczotek Aquafresh, W: Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Sekcji Stomatologii Środowiskowej PTS [Polskiego Towarzystwa Stomatologicznego]. Polanica Zdrój, 1-2 października 1999. Streszczenia referatów 1999, poz.P44
2	Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Pitts Nigel, Longbottom Christopher, Piesiak Dagmara, Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Woźniak Joanna: SEM images and chemical composition of early caries lesions, W: The 4th Joint Meeting of the IADR CED/NOF [International Association of Dental Research Continental European Division/Nordisk Odontologisk Förening - Scandinavian Division]. Warsaw, 24-27 August 2000. Programme and abstracts 2000, 147 abstr.121
3	Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Pitts Nigel, Longbottom Christopher, Piesiak Dagmara, Czajczyńska Agnieszka, Woźniak Joanna: Electrical properties of teeth surfaces by ac impedance spectroscopy, W: The 4th Joint Meeting of the IADR CED/NOF [International Association of Dental Research Continental European Division/Nordisk Odontologisk Förening - Scandinavian Division]. Warsaw, 24-27 August 2000. Programme and abstracts 2000, 150 abstr.127
4	Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Pitts N., Longbottom C., Piesiak Dagmara, Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Woźniak Joanna: SEM images and chemical composition of early caries lesions, Journal of Dental Research, 2001, vol. 80, nr 4, 1283 poz.121, [CED/ScADR - Divisional and sectional abstracts 2000]
5	Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Pitts N., Longbottom C., Piesiak Dagmara, Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Woźniak Joanna: Electrical properties of teeth surfaces by AC impedance spectroscopy, Journal of Dental Research, 2001, vol. 80, nr 4, 1284 poz.127, [CED/ScADR - Divisional and sectional abstracts 2000]

4

6	Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Pitts N., Longbottom C., Piesiak Dagmara , Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Woźniak Joanna: Zastosowanie spektroskopii impedancyjnej w wykrywaniu wczesnych zmian próchnicowych, W: Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Sekcji Stomatologii Zachowawczej Polskiego Towarzystwa Stomatologicznego "Osiągnięcia stomatologii u progu XXI wieku" - Salmeg 2001. Poznań, 5-6 kwiecień 2001. Program, streszczenia 2001, 42 poz.19
7	Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Pitts Nigel B., Longbottom Christopher, Piesiak Dagmara , Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Woźniak Joanna: Les images de SEM et la composition chimique des lésions carieuses précoces, W: VI Journées Franco-Polonaises de la Santé. Wrocław, 29-30 Juin 2002 2002, 33, poz.P07
8	Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Pitts Nigel B., Longbottom Christopher, Piesiak Dagmara , Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Woźniak Joanna: Étude par spectroscopie d'impédance des propriétés électriques des surfaces des dents, W: VI Journées Franco-Polonaises de la Santé. Wrocław, 29-30 Juin 2002 2002, 34, poz.P08
9	Grzebieluch Wojciech, Ścigala K., Piesiak Dagmara : Strain and stress distribution in the loaded first upper premolar, W: 47ème Congrès du GIRSO. Sienne (Italie), 1-4 Mai 2003. Résumé des communications orales 2003, s. 36
10	Piesiak Dagmara , Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Czajczyńska Agnieszka, Pitts Nigel B., Longbottom Christopher: Sem and chemical studies of early caries lesion, W: 47ème Congrès du GIRSO. Sienne (Italie), 1-4 Mai 2003. Résumé des communications orales 2003, s. 47
11	Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Łoś Przemysław, Kaczmarek Urszula, Piesiak Dagmara , Woźniak Joanna, Longbottom C., Pitts N.B.: Statistical analysis of the AC impedance method's effectiveness in the diagnosis of early caries lesions, Journal of Dental Research, 2003, vol. 82, B-270 abstr.2070, [81st General Session of the IADR; 2nd Meeting of the PEF (British, Continental European, Irish, and Scandinavian Divisions of the IADR). Goteborg (Sweden), June 25-28, 2003. Abstracts]
12	Piesiak Dagmara , Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Woźniak Joanna, Pitts N.B., Longbottom C.: Early caries lesion studied by SEM images and chemical composition analysis, Journal of Dental Research, 2003, vol. 82, B-270 abstr.2072, [81st General Session of the IADR; 2nd Meeting of the PEF (British, Continental European, Irish, and Scandinavian Divisions of the IADR). Goteborg (Sweden), June 25-28, 2003. Abstracts]
13	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Kaczmarek Urszula, Woźniak Joanna: Porównanie skuteczności działania dwóch metod remineralizacyjnych, Czasopismo Stomatologiczne, 2004, vol. 57, nr 4 supl., s. 158-159, [Jubileuszowy X Kongres Stomatologów Polskich. Wrocław, 22-24 kwietnia 2004 r.]
14	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Kaczmarek Urszula, Woźniak Joanna: The influence of the early caries lesion acid - etching on the remineralization process - in vitro study, Dental and Medical Problems, 2004, vol. 41, nr 2, 347 poz.P10, [48 Congress GIRSO [Groupment International pour la Recherche Scientifique en Stomatologie et Odontologie] Wrocław, 22-24 April 2004. Abstracts]
15	Woźniak Joanna, Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Piesiak Dagmara , Czajczyńska Agnieszka: Diagnostic accuracy of chosen methods of early caries lesion on molars occlusal surface, Dental and Medical Problems, 2004, vol. 41, nr 2, 347 poz.P9, [48 Congress GIRSO [Groupment International pour la Recherche Scientifique en Stomatologie et Odontologie] Wrocław, 22-24 April 2004. Abstracts]
16	Woźniak Joanna, Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Piesiak Dagmara , Czajczyńska Agnieszka: Diagnostic accuracy of chosen methods of early caries lesion on molars occlusal surface, W: International Conference - 30th Anniversary of co-operation between the Medical University of Warsaw and the University in Lund and Malmö. Warsaw, 21st May 2004. Abstracts 2004, poz.11
17	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Kaczmarek Urszula, Woźniak Joanna: The influence of the early caries lesion acid-etching on the remineralization process - in vitro study, W: International Conference - 30th Anniversary of co-operation between the Medical University of Warsaw and the University in Lund and Malmö. Warsaw, 21st May 2004. Abstracts 2004, poz.8

18	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Kaczmarek Urszula, Woźniak Joanna: The influence of early caries lesion acid-etching on the remineralization process - in vitro study, <i>Medycyna Dydaktyka Wychowanie</i> , 2004, vol. 36, nr supl.2, s. 20-21, [Międzynarodowa konferencja z okazji 30-lecia współpracy Akademii Medycznej w Warszawie a Uniwersytetem w Lund i Malmö. Sesja plakatowa: Postępy w diagnostyce, zapobieganiu i leczeniu zaburzeń zespołu twarzowo-czaszkowego. Warszawa, 21.05.2004 r. Streszczenia]
19	Woźniak Joanna, Kaczmarek Urszula, Łoś Przemysław, Piesiak Dagmara, Czajczyńska Agnieszka: Diagnostic accuracy of chosen methods of early caries lesion diagnosis on molar occlusal surfaces, <i>Medycyna Dydaktyka Wychowanie</i> , 2004, vol. 36, nr supl.2, s. 21-22, [Międzynarodowa konferencja z okazji 30-lecia współpracy Akademii Medycznej w Warszawie a Uniwersytetem w Lund i Malmö. Sesja plakatowa: Postępy w diagnostyce, zapobieganiu i leczeniu zaburzeń zespołu twarzowo-czaszkowego. Warszawa, 21.05.2004 r. Streszczenia]
20	Waśko-Czopnik Dorota, Piesiak Dagmara, Paradowski Leszek: GERD jako przyczyna przewlekłego kaszlu pochodzenia pozapłucnego = GERD as a cause of chronic cough of non-pulmonary origin, <i>Gastroenterologia Polska</i> , 2006, vol. 13, nr supl.1, 22 poz.2, [XII Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii. Łódź, 9-11 czerwca 2006. Streszczenia]
21	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Pregiel Beata, Wrzyszc-Kowalczyk Alina: Zastosowanie kliniczne materiału MTA w stomatologii - opis przypadków, W: II Konferencja Naukowo-Szkoleniowa "Środowiskowe uwarunkowania stanu zdrowia jamy ustnej. Osiągnięcia współczesnej stomatologii". Nałęczów, 24-26 kwietnia 2008, Lublin 2008, Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, 194 poz.PC031
22	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara: Zastosowanie kliniczne materiału MTA w stomatologii - opis przypadków, <i>Czasopismo Stomatologiczne</i> , 2009, vol. 62, nr 5, 434 poz.176.CS/P-153, [XI Kongres Stomatologów Polskich. Wrocław, 25-27 czerwiec 2009 r. Streszczenia]
23	Herman Katarzyna, Wrzyszc-Kowalczyk Alina, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Jankowska Katarzyna: Ocena kliniczna pasty Parodontax Fluoride, W: III Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Szkoleniowa "Środowisko a stan zdrowia jamy ustnej". Nałęczów, 23 kwietnia 2009 r., Lublin 2009, Drukarnia Akapit s.c., 154 poz.PB56
24	Wrzyszc-Kowalczyk Alina, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Dębska Monika, Herman Katarzyna, Jankowska Katarzyna: Poziom jonów fluorkowych w ślinie po zastosowaniu standardowej pasty do zębów = The fluoride level in saliva after using the regular toothpaste, <i>Czasopismo Stomatologiczne</i> , 2014, vol. 67, nr suppl.1, 172 poz.P-103, [12 Kongres Stomatologów Polskich. Kraków, 9-12 kwietnia 2014 r.]
25	Jankowska Katarzyna, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Herman Katarzyna, Kasiak Mirosława, Wrzyszc-Kowalczyk Alina: Profesjonalne leczenie nadwrażliwości zębiny po zabiegach stomatologicznych z wykorzystaniem technologii pro-argin = Professional treatment of dentin hypersensitivity after dental procedures based on pro-argin technology, <i>Czasopismo Stomatologiczne</i> , 2014, vol. 67, nr suppl.1, 172-173 poz.P-104, [12 Kongres Stomatologów Polskich. Kraków, 9-12 kwietnia 2014 r.]
26	Jankowska Katarzyna, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Herman Katarzyna, Wrzyszc-Kowalczyk Alina, Kasiak Mirosława: Domowe leczenie nadwrażliwości zębiny z zastosowaniem technologii pro-argin = Home treatment of dentin hypersensitivity based on pro-argin technology, <i>Czasopismo Stomatologiczne</i> , 2014, vol. 67, nr suppl.1, 173-174 poz.P-105, [12 Kongres Stomatologów Polskich. Kraków, 9-12 kwietnia 2014 r.]
27	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara, Jankowska Katarzyna, Sołtan Elżbieta, Kasiak Mirosława, Kanaffa-Kilijańska Urszula: The usefulness of caries indicator by students during the preparation, <i>International Dental Journal</i> , 2016, vol. 66, nr suppl.1, 42-43 poz.P054, [104th FDI Annual World Dental Congress. Poznań (Poland), 7-10 September 2016. Abstracts]

28	Kirstein Karol, Kosior Piotr, Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Dudek Krzysztof, Chrószcz Aleksander, Czajczyńska-Waszkiewicz Agnieszka, Kowalczyk-Zajac Małgorzata, Gabren-Syller Aleksandra, Skalec Aleksandra, Bryła Ewelina, Janeczek Maciej, Dobrzyński Maciej: Wpływ rodzaju środka irygacyjnego oraz rozmiaru i typu narzędzia endodontycznego na dokładność pomiarów endometrycznych. Badania in vitro na zębach psich = The effect of file size and type and irrigation solutions on the accuracy of electronic apex locators: an in vitro study on dog's teeth, W: VIII Międzynarodowe Sympozjum Fizykodiagnostyki i Fizjoterapii Stomatologicznej i Medycznej "Stomatologia nauką interdyscyplinarną". Międzyzdroje, 19.05-22.05.2016 2016, s. 51-52, [http://www.sffsptf.pl/upload/201605/MATERIAL_ZJAZDOWY_-_zmiany_z_19052016.pdf]
29	Piesiak-Pańczyszyn Dagmara , Kaczmarek Urszula: Poziom fluoru w ślinie po aplikacji lakierów fluorkowych, W: XVIII Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Sekcji Stomatologii Dziecięcej Polskiego Towarzystwa Stomatologicznego. Zabrze, 19-20 maja 2017 2017, 47 poz.10

Impact factor: 15,77

Punkty ministerialne: 519,0



Signed by /
Podpisano przez:

Dominika
Sidorska

Date / Data:
2023-11-29 12:12

OSOBA SPORZĄDZAJĄCA: BEATA MAJEWSKA
DZIAŁ BIBLIOGRAFII I BIBLIOMETRII BG UMW