

EGYETEMI DOKOTRI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A PEROXIDOK HUMÁN FOGZOMÁNCRA GYAKOROLT
HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA

DR. BISTEY TAMÁS

TÉMAVEZETŐK:

DR. HEGEDŰS CSABA

DR. JENEI ATTILA



Debreceni Egyetem, Orvos és Egészségtudományi Centrum

Fogorvostudományi Kar

Fogpótlástani Tanszék

Debrecen

2008

BEVEZETÉS

A fogászati kezelések során az optimális esztétikai eredmény elérése egyike a legfontosabb feladatoknak. Ennek érdekében számos megoldás alkalmazható, mint pl.: a fogpótlások készítése, melyek a fogak kemény szöveteinek a feláldozásával illetve eltávolításával járhatnak. Egyes esetekben, ahol a fog, vagy fogak elszíneződése, azaz színe okozza az esztétikai eltéréseket, a fog színének, árnyalatának világosításával, fehérítésével is kielégítő eredmény érhető el, amivel adott esetben elkerülhető a fogpótlás készítése.

Napjainkban az otthoni és a rendelői fogfehérítési technikákat alkalmazzák a leggyakrabban az élő, vitális fogak kezelésére. 1989-ben Haywood és Heymann egy olyan technikát írtak le, melynek során a páciens a fogfehérítést a rendelőn kívül végezhetette. Módszerük lényege egy alacsony peroxid koncentrációjú termék, amit a fog külső felületére visznek fel. Az alacsony koncentráció miatt a kezelés ideje hosszabb, de a páciensnek nem kell a rendelőben tartózkodnia a kezeléseknél. Technikájukat „at-home”, azaz otthoni fogfehérítésnek nevezték el, melyben alacsony koncentrációjú (10 %) karbamid-peroxid gélt alkalmazunk a legtöbb esetben. Ez a peroxid mennyiség 3-5 % hidrogén-peroxid tartalomnak felel meg. Haywood és Heymann technikáját követően az egyedüli újítás a Whitestrips[®] bevezetése volt, 2001-ben, melynek hatóanyaga 6 %-os hidrogén-peroxid, amit egy celluloid csíkra visznek fel és a fogra ragasztható. Ez a 6 %-os koncentráció meghaladja a korábbi „at-home” típusú fogfehérítők szokásos koncentrációját.

Az alacsony koncentrációjú technikákkal ellentétben lehetőség van nagy koncentrációjú peroxidoknak az alkalmazására is, melyek a rendelői fogfehérítés keretei között alkalmazhatóak. A rendelői fogfehérítés esetében magas koncentrációjú (30-38 %) hidrogén-peroxidot, vagy a karbamid-peroxidot lehet használni, amelynek előnye a rövidebb kezelési idő, de hátránya, hogy a páciensnek a rendelőben, vagy sok esetben a székben kell várnia a kezelés végéig. A kezeléseknél a lágyszövetek védelmére kifejezetten nagy figyelmet kell fordítani, amire azért van szükség, mert a magas koncentrált hidrogén-peroxid komolyabb mellékhatásokat okozhat. A rendelői fogfehérítés során a peroxidok lebomlását nagy teljesítményű fényforrásokkal, mint pl.: halogén vagy plazma lámpa, fokozni lehet, felgyorsítva ezzel a fehérítést, és vele párhuzamosan a fehéredés folyamatát. Vizsgálatok azonban több ponton is megkérdőjelezzik ezeknek a fényforrásoknak, különösen a lézernek a fogfehérítésben betöltött szerepét, tekintettel a pulzális mellékhatásokra.

Ahhoz, hogy megértsük a fogfehérítők hatását, ismernünk kell a fogelszíneződések kémiai sajátosságait. A fogelszíneződéseket élelmiszerek, gyógyszerek, trauma, és szisztémás

megbetegedések is előidézhetik. A kialakulásuk ideje szerint az elszíneződések a fogfejlődés pre- és poszteruptív szakaszaiban is manifesztálódhatnak. Mivel elszíneződéseket igen nagyszámú kémiai molekula képes létrehozni, az elszíneződéseket sokan, sokféle szempont szerint osztályozták már. Az osztályozások szempontjai különbözőek lehetnek: elszíneződés helye, a kiváltó ágensek, az elszíneződés kialakulásának ideje stb. Az egyik leggyakrabban használt felosztás a Salim A Nathoo által leírt beosztás, amely a fogszíneződéseket két nagy csoportba osztotta: külső és belső elszíneződések. A külső elszíneződések közül három típust különböztet meg. Ezeket N1, N2 illetve N3 névvel látta el. Az N1 és N2 un. direkt elszíneződés, mivel az elszíneződést kiváltó molekula, a kromogén, maga is színes. Az N3 elszíneződést indirekt elszíneződés, ami azt jelenti, hogy egy színtelen kromogén hoz létre elszíneződést. A felosztás hátránya hogy nem foglalkozik a belső elszíneződésekkel, mivel ezek kialakulásáról és kémiájáról keveset tudunk, de jelentőségük igen nagy, mivel kezelésük sok nehézséget okoz a klinikai gyakorlatban.

A fogfehérítés hatásmechanizmusában egy „nem-szelektív” oxidáció megy végbe a fog felszínén, és a kemény szövetek belső struktúráiban. A hidrogén-peroxid egy igen reaktív vegyület, mely nyállal, vérrel, fehérjével illetve más organikus elemekkel érintkezve, azonnal bomlásnak indul. Ennek eredményeként szabadgyökök szabadulnak fel, melyek aztán spontán vízzé és oxigénné alakulnak. A hidrogén-peroxid és a belőle felszabaduló szabadgyökök egyik legfontosabb tulajdonsága, hogy kis molekulásúlyuk miatt képesek a zománcba illetve a dentinbe penetrálni és a szövetekben található organikus anyagokat oxidálni. Mivel a fogban vagy a felületén található elszíneződést okozó anyagok általában organikus eredetűek az oxidatív „kezelés”-nek létjogosultsága van az elszíneződések kezelésében. A folyamat során a szabad gyökök azonban a zománcban és a dentinben lévő minden organikus molekulát oxidálnak, vagyis a folyamat „nem-szelektív”. A diffúziós folyamat fontos a fehérítés folyamatában, melynek mértéke optimálisan a dentin pulpa határig tartana. Mivel ennek megvalósítása nem lehetséges, a pulpát is elérő peroxidoknak a klinikai gyakorlatban nagy jelentőségük van, hiszen a fogfehérítési kezelés során, vagy az azt követően jelentkező mellékhatásoknak ez áll, vagy állhat a háttérben.

A fogfehérítés során jelentkező mellékhatásokat objektív és szubjektív csoportba sorolhatjuk. A leggyakoribb szubjektív mellékhatás a fogak hideg, illetve meleg érzékenysége. Egy vizsgálat eredményei szerint a páciensek közel 60 %-a közepes erősségű, míg 10-20 %-a erős érzékenységre panaszodik a fogfehérítés során vagy közvetlenül utána (Clinical Research Associate). Ezen kívül a hatóanyag befolyásolhatja az ízérzékelést is, valamint irritálhatja a lágyszöveteket, mint például a gingivát, a bukkális és palatinális

nyálkahártyát. Az objektív melléhatásokat laboratóriumi körülmények között vagy módszerekkel lehet kimutatni, melyek közé a fokozott higany kioldódás az amalgámtömésekből, a kompozitok, illetve fogszabályozó záruk ragasztási erősségének csökkenése illetve a fogpótlások és tömések anyagaira gyakorolt hatás tartozik. A szabad gyökök penetrációja révén a peroxidok hatással lehetnek a pulpára, azonban a mellékhatások legnagyobb része a fog kemény szöveteiben jelentkezik. Ezek a változások több ponton is kimutathatóak.

Az irodalmi adatok szerint a tanulmányok egy része azt mutatja, hogy a változások sem a zománc felületén, sem a belső struktúrákban nem szignifikánsak. Rotstein és munkatársai azonban hidrogén-peroxid hatására Ca^{2+} és PO_4^{2-} ionok kioldódást írtak le a zománcból, míg McCracken és munkatársai a Ca/P arány megváltozását mutatták ki 7 napos fogfehérítési kezelés után. Arwill és munkatársai a fog kemény szöveteinek tanulmányozása során a zománc megnövekedett porozitását mutatták ki 30 %-os hidrogén-peroxiddal végzett, 6 órás kezelés után. Attin és munkatársai a fehérített zománc keménységét tanulmányozták, és a mikrokeménységi mutatók szignifikáns csökkenését írták le. Irodalmi adatok szerint a peroxidok hatással vannak a zománc felületére is. Elektron mikroszkópos vizsgálatokkal Ernst és munkatársai csak kismértékű, Bitter és munkacsoportja viszont jelentős változásokat írt le a zománc felületén.

Látható tehát, hogy a fogfehérítés a folyamat egyszerűségét tekintve könnyen megérthető, de számos ponton kérdéseket vet fel. Vizsgálatainkban megpróbáltunk azokra a kérdésekre választ kapni, melyek a fog kemény szöveteiben, azon belül is a zománcban végbemenő változások, amelyek a hidrogén-peroxid hatására alakulnak ki.

CÉLKITŰZÉSEK

- Vizsgálni kívántuk a peroxidok hatására humán fogzománc felszíni morfológiájában bekövetkező változásokat.
 - Gyári fogfehérítő készítmények fogzománc felszínére gyakorolt hatásának összehasonlítása a referenciaként használt 30 %-os hidrogén-peroxid kezelés hatásával.
 - Különböző koncentrációjú hidrogén-peroxid oldatoknak, a zománc felszíni morfológiára gyakorolt hatásának összehasonlítása.
- Hidrogén-peroxidos kezelés hatására fogzománc szerkezetében létrejövő változások vizsgálata.
 - A fogzománc organikus állományában végbemenő változások kimutatása.
 - Különböző koncentrációjú hidrogén-peroxid oldatok hatására, a zománc anorganikus állományában bekövetkező változások kimutatása.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Humán fogzománc felszíni morfológiájában peroxidok hatására bekövetkező változások vizsgálata

A vizsgálatokhoz egy egyénileg épített un. *stand-alone* típusú atomerő mikroszkópot használtunk. A mintákról felvételeket készítettünk kontakt és un. *tapping* módban, levegőben. A mintákat egy a laboratóriumunkban speciálisan erre a célra készített alumínium állványra helyeztük. A mikroszkóp „fej” része egy három lábbon álló egység, melyet a minta felett megfelelően pozícionálva készítettünk a felvételeket. A letapogató tűk mozgatása elektronikus úton történt. A felvételekhez piramis formájú Si_3N_4 tartókarokat használtunk. A tűk átmérője 10-30 nm-ig változott, a tartókarok rugalmassági tényezője megközelítőleg 0,06 N/m volt. A zománc felszínekről 10x10 μm és 20x20 μm nagyságú képeket készítettünk, melyeket számítógépesen dolgoztunk fel.

Gyári fogfehérítő készítmények és a 30 %-os hidrogén-peroxid kezelés fogzománc felszínére gyakorolt hatásának összehasonlítása

Vizsgálatainkban kettő, a kereskedelmi forgalomban is kapható fogfehérítőnek (*Oplaescence*[®], *Nite White*[®]) a hatását hasonlítottuk össze 30 %-os hidrogén-peroxid oldat (Sigma Chemical Corporation, Product No. H1009) hatásával. A vizsgálathoz felhasznált fogakat (n=15) az extrakció után 0,5 % Kloramin-T oldatban tároltuk a feldolgozásig a dehidráció elkerülése érdekében. Ezt követően a fogak gyökerét, és a korona lingvális felét vízhűtés mellett turbinával eltávolítottuk, majd az így kapott mintákat, a három vizsgált anyagnak megfelelően véletlenszerűen három csoportra osztottuk. Minden felületi tisztítás nélkül a mintákról AFM felvételeket készítettünk, különböző mérettartományokban. Minden mintáról 5 különböző, egymással nem átfedő AFM felvétel készült. Ezt követően 5,25 %-os nátrium-hipoklorit oldattal tisztítottuk meg a minták felszíneit, majd ismétlen AFM felvételeket készítettünk. Ezek a felvételek szolgáltak negatív kontrollként a többi vizsgálandó minta esetében. A kezeléseket minden esetben szobahőmérsékleten végeztük. A két fogfehérítő gél (*Opaescence* és *Nite White*) esetében a teljes kezelési idő 28 óra volt, melyet 7, egyenként 4 órás kezelésben végeztünk. A 30 %-os hidrogén-peroxid oldattal végzett kezeléseket a két gyári készítmény kezelésével azonos módon végeztük. AFM felvételeket csak a teljes, 28 órás kezelés után készítettünk a mintákról.

Különböző koncentrációjú hidrogén-peroxid oldatok, a zománc felszíni morfológiára gyakorolt hatásának összehasonlítása

A vizsgálatunkban 3 különböző (10, 20, 30 %) koncentrációjú hidrogén-peroxid oldat fogzománcre kifejtett hatását vizsgáltuk meg. A fogak (n=12) gyökerét és a koronájának lingvális felét, vízhűtés mellett, turbinával eltávolítottuk. A mintákat véletlenszerűen négy csoportra osztottuk. Negatív kontrollként az 1. csoportot, valamint minden egyes mintának a kezelés előtti felvételét használtuk. A kontrol csoportba tartozó mintákat fiziológiás sóoldatban tároltuk egy óráig, majd atomerő mikroszkóppal a természetes, bukkális zománc felszínekről felvételeket készítettünk. A 2-4. csoport mintáit szisztematikusan a felhasznált hidrogén-peroxid oldatokkal (Sigma Chemical Corporation, Product No. H1009) kezeltük, zárt Petri csészékben, egy óráig. Az első felvételek a zománctól tisztítás előtt készültek. Ezt követően 5,25 %-os nátrium-hipokloritos tisztítás után ismételt AFM felvételeket készítettünk. A kezelés után a mintákat egy percre mostuk, majd fiziológiás sóoldatba helyeztük az atomerő mikroszkópos felvételek készítéséig.

Hidrogén-peroxidos kezelés hatására fogzománc szerkezetében létrejövő változások vizsgálata

Az organikus állományában bekövetkező változások vizsgálata

A fogzománc organikus állományának fehérjéi illetve a peroxidok közötti reakció kimutatására szolgáló biokémiai eljáráshoz 17 fogat használtunk fel. A fogak zománcát kerámia mozsárban homogenizáltuk. A homogenizált zománc darabokból 4 csoportot képeztünk. Az első csoportot negatív kontrollként használtuk és fiziológiás sóoldatban tároltuk egy óráig. A többi három csoportot pedig 10, 20, és 30 %-os hidrogén-peroxid oldatban (Sigma Chemical Corporation, Product No. H1009) kezeltük egy óráig. Minden egyes csoportot további kettő alcsoportra osztottuk, a kezelés után alkalmazott dializáló oldat alapján. A kezelés után az egyik alcsoport mintáit foszfát pufferben (pH 7,27), a másikat pedig 6M guanidin-kloridot tartalmazó foszfát pufferben dializáltuk hat óráig. A guanidin-klorid denaturálta a zománcproteineket, ezáltal a fedett tiol csoportok számát is meg tudtuk határozni, mivel az Ellman reakcióban keletkező anion számára nem hozzáférhetőek a fehérjék fedett tiol csoportjai. A dialízis oxigénmentes környezetben történt, hogy a maradék hidrogén-peroxidot eltávolítsuk a zománctól. Ennek érdekében a dializáló oldatba

túlnyomású nitrogén gázt vezettünk, az oxigén távoltartására. Erre azért volt szükség, mert az Ellman reakció során keletkező aniont oxidálhatja a hidrogén-peroxid és a meghatározás pontatlan lenne. A dialízis után a szabad tiol csoportok számát az Ellman reakcióval határoztuk meg. Minden egyes alcsoportra 1 ml 5'5'-ditiobisz-(2-nitrobenzooesav)-at tartalmazó Ellman reagenst cseppentettünk steril teszt csőben, majd a mintákat egy órán keresztül inkubáltuk szobahőmérsékleten. A 5'5'-ditiobisz-(2-nitrobenzooesav) a színes tionitrobenzooesav felszabadulása mellett reagál a szabad SH csoportokkal. A keletkezett mennyiség arányos a reagáló szabad tiol csoportok számával. Ezután a reagens abszorpcióját Shimadzu spektrofotométerrel 412 nm-es hullámhosszt használva határoztuk meg. Referenciának a dializáló oldatot használtuk. A szabad tiol csoportok számát a zománc mg tömegegységre vonatkoztatva adtuk meg.

Az anorganikus állományban bekövetkező változások vizsgálata

Az infravörös spektroszkópos mérésekhez 30 fogat használtunk fel. A koronából nyert mintákat műgyantába ágyaztuk majd a felületét simára csiszoltuk, olyan módon, hogy a csiszolt felületen csak a zománc exponálódjon. A mintákat ezután 10, 20 és 30 %-os hidrogén-peroxid oldattal (Sigma Chemical Corporation, Product No. H1009) kezeltük. A teljes kezelési idő 120 perc volt. Az első spektrumot a kezeléseket előtt készítettük ($t=0$), így minden minta a saját negatív kontroljaként volt használható. További infravörös spektrumokat készítettünk 30, 60 és 120 perccel a kezelés kezdete után. Ezt követően a mintákat két hétre fiziológiás sóoldatba helyeztük. Kéthét inkubáció után újabb spektrumot készítettünk, annak érdekében, hogy a bekövetkezett változások spontán reverzibilitását kimutathassuk.

Vizsgálatainkhoz SPECTRUM-ONE (Perkin-Elmer Inc., Wellesley, MA USA), ATR egységgel felszerelt infravörös spektrométert használtunk. A spektrumokat szobahőmérsékleten, $4000-650\text{ cm}^{-1}$ sáv szélesség és 4 cm^{-1} felbontás mellett készítettük. Minden spektrum négy, gyors, egymást követő mérés eredményeként alakul ki.

A kvantitatív elemzést a kiválasztott hullámszámok közé eső spektrumok spektrális integráljának számításával végeztük.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Humán fogzománc felszíni morfológiájában peroxidok hatására bekövetkező változások vizsgálata

Gyári fogfehérítő készítmények és a 30 %-os hidrogén-peroxid kezelés fogzománc felszínére gyakorolt hatásának összehasonlítása

Munkánkban először alkalmaztunk atomerő mikroszkópos képalkotó technikát, peroxid tartalmú fogfehérítők fogzománcra kifejtett hatásának vizsgálatához. A fogfehérítőkkel végzett kezelések után a minták felülete makroszkóposan fényes, sima volt, azonban eltérés volt kimutatható az AFM felvételeken a kezeletlen és a kezelt minták között. A nátrium-hipokloritos tisztítás előtt készített felvételeken egy nem meghatározható réteg volt látható a zománc felületén, melyen folytonossági hiányok ábrázolódtak. Ennek a rétegnek a vastagsága 175-250 nm között változott. A réteg jelenléte miatt, a valódi zománc felszín nem látható. A nátrium-hipokloritos tisztítás után az AFM felvételeken jellegzetes felületi morfológiát figyelhetünk meg. A felszín különböző irányban lefutó barázdák jellemezték, melyek viszonylag kis mélységűek. Megjelenésük a szabálytalan lefutás miatt leginkább karcolatokhoz hasonlított. A barázdák jellemző paraméterei: mélység: 14-70 nm; szélesség: 0,25-1,0 μm . A 28 órás Opalescence kezelést követően a barázdák továbbra is megtalálhatóak voltak, de szélességük 0,1-0,75 μm , míg mélységük 30-120 nm közötti tartományba esett. További eltérés a barázdák oldalának és alapjának a szabálytalanabb megjelenése volt. A 28 órás Nite White kezelések hatására a felületi barázdák nem változtak olyan mértékben, mint az Opalescence esetében. A Nite White kezelések után a barázdák méretei a következők voltak: szélesség 0,1-0,3 μm ; mélység 20-80 nm. A 30 %-os hidrogén peroxidos kezelés olyan változásokat idézett elő a zománc felszínen, melyek jelentős eltérést mutattak a kezeletlen illetve a két karbamid-peroxidos géllal kezelt mintákhoz képest. Az AFM felvételek a barázdák nagyfokú kiszélesedését (1,0-1,5 μm), és a barázdák érdessé válását mutatták. A barázdák mélysége nem növekedett olyan mértékben, mint a szélessége (90-350 nm). A 30 %-os hidrogén-peroxid oldat sokkal markánsabb változásokat okozott, ami nyilván a magasabb koncentrációnak tulajdonítható. A koncentráción kívül további különbség a három vizsgált anyag között a két gél Carbopol tartalma volt. Ennek hatása azonban nem volt érzékelhető a felületi morfológia változásában, hiszen a két gyári készítmény hatása elmaradt a tömény oldat hatásától. Vizsgálatok szerint a 10-15 % töménységű karbamid-peroxidból

7-10 % urea, és 3-5 % hidrogén-peroxid keletkezik a disszociáció után. Ennek a peroxid mennyiségnek az elhúzódo felszabadulása nem eredményezett azonos hatást a zománc felületén a nagy koncentrációjú hidrogén-peroxiddal. Figyelembe véve a hidrogén-peroxid mechanikus tisztító hatását illetve azt, hogy a peroxidok reagálnak a zománc organikus állományával, a nem szelektív oxidáció a zománc felületén és a mélyebb rétegekben létrehozhatja az általunk megfigyelt morfológiai változásokat.

Az AFM felvételeken sem a kezeletlen, sem pedig a kezelt mintákon nem volt látható a zománcprizmák felszíni végződése. Ez azzal magyarázható, hogy a prizmák a fogfejlődés során nem közvetlenül a felszínen, hanem 5-100 µm-rel alatta végződnek. A prizmák felett pedig egy un. aprizmatikus zománc réteg található, ami az amelogenezis végső fázisában alakul ki. Ez a zománc réteg többnyire a tejfogakon található meg, de jelen van a maradó fogakon is. Főként azokon a felszíneken (bukkális, proximális, cervikális) található meg, amelyek nincsenek nagy mechanikai terhelésnek kitéve. Ezzel is magyarázható, hogy jelen tanulmányban nem volt megfigyelhető az AFM felvételeken a prizmatikus végződés. Ennek az aprizmatikus zománcnak a másik fontos tulajdonsága, hogy viszonylag nagy az organikus anyag tartalma. Ennek köszönhetően, az aprizmatikus zománc nagyon kedvező felület a hidrogén-peroxid és a szabad gyökök számára. Feltételezhetően az AFM által láthatóvá tett morfológiai változások, ebben a zománcrétegben bekövetkező destrukció eredményeként alakultak ki.

Különböző koncentrációjú hidrogén-peroxid oldatok, a zománc felszíni morfológiára gyakorolt hatásának összehasonlítása

A kezeletlen minták felületén sekély barázdákat figyeltünk meg, melyek lefutása teljesen szabálytalan volt. Átlagos mélységük 28-84 nm, szélességük 100-250 nm között változott. A 10 %-os hidrogén-peroxid oldatos kezelés eredményeként a barázdák szélessége 380-600 nm, míg a mélységük 50-150 nm között változott.

A 20 % illetve a 30 %-os oldatok tovább növelték a felszíni barázdák szélességét és mélységét. A 20 %-os hidrogén-peroxiddal végzett egy órás kezelés végére a felszíni barázdák átlagosan 136-544 nm szélesek és 100-150 nm mélyek voltak. A 30 %-os oldatban való kezelés után ezek a paraméterek még tovább növekedtek (szélesség: 710-2000 nm, mélység: 50-250 nm).

Az irodalmi adatok alapján a fogzománcban felületi és belső változások is bekövetkeznek a fogfehérítések hatására. Ezek a változások érintik a zománcnak mind az

organikus és az anorganikus állományát is. Mindenképpen fontos a zománcot, mint egységes szövetet vizsgálni, mert ezzel jobban közelíthetünk az *in vivo* állapothoz. A peroxidos fogfehérítés hatására kialakuló változások, függetlenül azok pontos lokalizációjától, a peroxid penetrációjának tulajdoníthatók.

Irodalmi adatokból arra következtethetünk, hogy a peroxidok hatására változások mennek végbe a zománcban, melyek bizonyos körülmények között fluoridokkal csökkenthetünk. Ezzel szemben *Seghi* és *Denry* vizsgálataikban nem írtak le csökkenést a keménységi mutatók terén, azonban vizsgálataikban a zománcminták törési paraméterei és abrázóval szembeni ellenállása szignifikánsan csökkent. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a peroxidos fogfehérítési eljárás hatására a zománc strukturálisan átalakul. *Shannon* és munkatársai, bár nem szignifikáns mértékben, de szintén a mikro keménységi mutatók csökkenését figyelték meg kéthetes kezelés után. Négyhetes kezelés után pedig jelentős morfológiai eltérést találtak pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálattal. *Titley* és munkatársai, tömény hidrogén-peroxid (35 %) alkalmazása után 60 perccel, precipitátum képződést észleltek a zománc felületén. *McGuckin* és munkatársai, profilometriás eljárással a zománc érdesebb és hullámosabb megjelenését írták le. *Goldberg* és munkatársai, valamint *Arends* és munkatársai, tanulmányai alapján az mondható el, hogy mind az organikus, mind pedig az anorganikus állomány szerepet játszik a zománc fogfehérítés után megfigyelt strukturális változásaiban.

Hidrogén-peroxidos kezelés hatására fogzománc szerkezetében létrejövő változások vizsgálata

Az organikus állományában bekövetkező változások vizsgálata

Vizsgálatainkkal meg tudtuk határozni a tiol csoportok számát 1 mg zománcra vonatkoztatva guanidin-klorid jelenlétében: $4,2 \pm 0,3 \times 10^{12}$, és guanidin-klorid nélkül: $1,01 \pm 0,12 \times 10^{12}$. Ezek alapján azt mondhatjuk, hogy a tiol csoportok 25 %-a könnyen hozzáférhető az 5'5'-ditiobisz-(2-nitrobenzoé sav) számára. A 10 %-os hidrogén-peroxid elegendő volt ahhoz, hogy az összes szabadon elérhető tiol csoportot oxidálja. A mélyen elhelyezkedő, fedett tiol csoportokkal azonban nem tudott reagálni az alacsony koncentrációjú peroxid oldat. Ezzel szemben a 20 %-os hidrogén-peroxid, a fedett tiol csoportokkal is reakcióba lépett. Azonban a koncentráció további növelése nem eredményezte a fedett tiol csoportok számának szignifikáns csökkenését. Az SH-csoportok oxidációja arányos volt az

alkalmazott hidrogén peroxid koncentrációjával. A hidrogén peroxidok azonnal reakcióba léptek a zománcban található tiol csoportokkal, már a legkisebb (10 %-os) koncentrációban is. A 20 %-os koncentráció mellett a mély, fedett tiolok degradálódását is megfigyeltük. A koncentráció emelése azonban nem okozta a fedett tiolok további csökkenését, ami a zománc tiol csoportjainak oxidatív telítődésére utal. Az eredmények általánosítását nehezítheti az a tényező, hogy a zománc proteinekben nem a cisztein a leggyakoribb aminosav, de amint azt az Ellman reakció eredményei mutatják fontos markere lehet az érett zománcban végbemenő oxidatív folyamatoknak.

Az anorganikus állományban bekövetkező változások vizsgálata

A humán zománcminták jellegzetes infravörös spektrumot mutattak két határozott csúccsal, melyek a hidroxipatit struktúrára jellemzőek. 996 cm^{-1} -es maximummal egy viszonylag széles alapú csúcs adja a hidroxipatitos szerkezet jellemző, erős sávját, biológiai $\text{PO}_4 \nu_1$, a továbbiakban apatit I. fősv. Egy kettős csúcs figyelhető meg 1460 és 1410 cm^{-1} -nél, ami szintén a hidroxipatitos szerkezetre jellemző, biológiai $\text{PO}_4 \nu_2$, a továbbiakban apatit II. melléksáv. A 996 cm^{-1} -es hangsúlyos apatit I. sáv oldalában, 866 cm^{-1} -nél egy kisebb csúcs figyelhető meg, ami a karbonát-apatitos szerkezet ún. $\nu_2 \text{CO}_3$ sáv jellegzetessége. Ezek a megfigyelések egybevágóak az irodalomban jól ismert adatokkal, melyet Bohic és munkatársai, illetve Eliades és munkatársai publikáltak.

Az infravörös spektrum megváltozását tapasztaltuk a hidrogén-peroxidos kezelés hatására a vizsgált kezelési idők és koncentrációk esetében.

Az apatit I. fősv, összehasonlítva a negatív spektrummal szélesebbé és torzultabbá vált a kezelésekre hatására. Ezek a változások egyenesen arányosak voltak a hidrogén-peroxid koncentrációval. Hasonlóan az apatit I. fősv változásához, az apatit II. melléksáv is torzultan jelent meg a spektrumon a kezelésekre után. Az apatit II. melléksáv a 20 %-os hidrogén-peroxid kezelés hatására már olyan mértékben torzult, hogy a spektrumon csak egy kis része figyelhető meg, 30 %-os koncentráció mellett pedig teljesen feloldódik, és hiányzik a spektrumból. Ezek a változások a spektrumban mindenképpen a hidroxipatitos állomány degradációjára utalnak, ami meglepő, hiszen az apatit típusú ásványi rendszerek kémiaiilag általában rendkívül ellenállóak.

A kezelési idő hatása, vagy más néven a változások kinetikája, a koncentrációhoz hasonlóan arányos volt a spektrális változásokkal. A kinetika a 10 %-os hidrogén-peroxidos

kezelések spektrumain demonstrálható a legjobban, mivel 10 % felett a hidrogén-peroxid olyan mértékű destrukciók okoz az apatit struktúrában, ami megakadályozza a kinetika pontos követését az apatit II. melléksávbán. Az apatit I. főcsáv a kezelési idő növelésével folyamatosan torzul és kiszélesedik. Az apatit II. melléksáv a 30 perces kezelés után még jól megfigyelhető, de 60 perc után már csak egy csúcs látható a spektrumon és 120 perc után már teljesen feloldódik.

A hidrogén-peroxid hatásának kvantitatív értékelése az apatit I. főcsáv spektrális integráljának kiszámításával lehetséges. Egy platóval rendelkező görbét kapunk, ha az apatit I. főcsáv spektrális integráljait a különböző koncentrációk függvényében ábrázoljuk. Ez azt mutatja, hogy az apatit I. főcsáv torzulása és az ezzel járó apatitos degradáció 10 %-os peroxid koncentrációig nem emelkedik számottevően. Azonban a koncentráció növelésével (10-20 %), jelentős emelkedés figyelhető meg. Nem figyelhető meg számottevő változás a nagyobb koncentrációjú (20-30 %) kezelések hatására. Ez az eredmény a tiol csoportoknál már említett peroxiddal történő telítődésre utal. Hasonló telítődésre utaló jelenség figyelhető meg a klinikai gyakorlatban is, amikor a fogszín további világosodása már nem érhető el további kezeléssel. A fentiek gyakorlati vonatkozása az lehet, hogy az apatit szerkezet degradációja 10 %-os hidrogén-peroxid koncentrációnál nem számottevő, hiszen az apatit I. főcsáv kiszélesedése a kezeletlen fognál mérthez képest elenyésző, ezért a kezelést ennél a koncentrációnál lenne célszerű végezni.

Ha viszont a kezelési idők függvényében ábrázoljuk az apatit I. főcsáv spektrális integráljait, akkor egy egyenest illeszthetünk a kapott értékekre. Azt mondhatjuk, hogy a változás az idő függvényében lineáris. Az időkinetikai vizsgálat a gyakorlat szempontjából azt indikálná, hogy a fehérítést nem érdemes 30-60 percnél hosszabb ideig megszakítás nélkül végezni, mert az apatit I. főcsáv kiszélesedése ezt követően szignifikáns, és az apatit II. melléksáv eltűnése is a hatvanadik perc után felvett spektrumon volt észlelhető.

Az apatit I. főcsáv kiszélesedése, és az apatit II. melléksáv eltűnése egyaránt az apatitos szerkezet degradációját jelzi. Ahogyan azt már említettük, ez rendkívül szokatlan, hiszen az apatit, mint ásványi anyag kémiaiilag rendkívül ellenálló. Ezzel egybevetve, hogy a foszfát és a hidrogén-peroxid között, ismereteink szerint nincs közvetlen reakció. Legvalószínűbbnek tűnhet egy olyan kölcsönhatás az apatit foszfát csoportja és a hidrogén-peroxid között, ami nem redox reakció, hanem valamilyen koordinációs, komplex-kémiai kölcsönhatás. Ezt akkor kell feltételeznünk, ha értelmezni akarjuk a spektrális változásokat.

A peroxidok pontos helyét az apatit kristályban nem tudjuk megmondani. A hidrogén-peroxid az infravörös spektrum 3500 és 4000 cm^{-1} sávjában helyezkedik el. Feltételezhető,

hogy a hidrogén-peroxid, amelynek van, egy ún. diperoxo (H_4O_4) formája, amely képes megváltoztatni a hidroxapatit szerkezetét és a PO_4 ligand kicserélődik a diperoxo ligandra és egy új komplex keletkezik. A ligandok más szubsztitúciója akkor következhet be, amikor az új komplexhez fémionok (például vas) kapcsolódnak, vagy amikor a CO_3 csoportok, OH csoportokra cserélődnek, melyek a hidrogén-peroxidból is származhatnak. Az infravörös spektrum 3000 és 3700 cm^{-1} területén az OH sáv található, amely nagy változékonyságot mutat. Feltételezhető, hogy a zománc és a hidroxapatit hidratálódik a peroxidos kezelés vagy a fogfehérítés során. Ebben az esetben a sáv változékonysága mögött az OH csoportok kristályon belüli kötésének erősödése, vagy gyengülése állhat. Más szóval, egyrészt a kristályból „felszabadulhatnak” OH csoportok, vagy azok kötődése erősebb lehet. Ez a kötéserősség változás része lehet a ligand szubsztitúciónak is. Feltételezhető, hogy ezek a szubsztitúciók gyengék és a folyamat visszafordítható, például fluorid ionok segítségével. Azonban, ha a klinikai gyakorlatban is alkalmazott fluoridok túl gyorsan, vagy nagy mennyiségben penetrálnak a zománcba, akkor a mélyebb zománcrétegekben már nem mehet végbe az átalakulás, és a peroxidok hatása hosszabb távon is megmarad. Jelen tanulmányunkban a spontán reverzibilitást vizsgáltuk két hét leforgása alatt. Erre az időre, a mintákat fiziológiás sóoldatban tároltuk, azonban a kéthetes várakozás után a spektrumokon sem az apatit I. fősv, sem pedig az apatit II. mellésv nem mutatott spontán reverzióra utaló változásokat a 120 perces kezelésekhöz hasonlítva. Az infravörös spektrumban bekövetkező változások a hidroxapatit degradációját jelentik, bár ennek kémiája nem ismert pontosan.

FONTOSABB MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. A hidrogén-peroxid és az általunk vizsgált karbamid-peroxid tartalmú készítmények, hatással vannak a humán zománc felületi morfológiájára.
2. A humán fogzománc felszín morfológia változásai arányosak az alkalmazott hidrogén-peroxid koncentrációval.
3. A hidrogén-peroxid hatásai kimutathatóak a zománc organikus állományában.
4. Az anorganikus állományban bekövetkező változások egyenesen arányosak mind a kezelési idővel, mind a hidrogén-peroxid koncentrációval.
5. A vizsgált rendszerekben irreverzibilis változások figyelhetők meg.
6. Az alacsony hidrogén-peroxid koncentráció és a rövidebb kezelési idők alkalmazása kedvezőbb a humán fogzománcban lezajló degradációs folyamatok szempontjából.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

Hegedűs Cs, **Bistey T**, Flóra-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A.
An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface.
Journal of Dentistry 1999; 27: 509-515.

IF: 1,255

Citáció: 68

Bistey T, Nagy PI, Simó A, Hegedűs Cs. In vitro FT-IR study of the effects of hydrogen peroxide on superficial tooth enamel *Journal of Dentistry* 2007; 35: 325-330.

IF: 1,705

Citáció: 4

Bistey T, Jenei A, Szondy Zs, Nagy PI, Hegedűs Cs. 10-30 %-os hidrogén-peroxid humán fogzománkra gyakorolt hatásának in vitro vizsgálata. *Fogorvosi szemle*. 2005; 98: 145-150.

AZ ÉRTEKEZÉSHEZ KAPCSOLÓDÓ ELŐADÁSOK, POSZTEREK

Bistey T, Hegedűs Cs, Flóra-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. Peroxid tartalmú fogfehérítő anyagok hatására kialakuló mikromorfológiai változások fogzománcon. Magyar Fogpótlástani Társaság, Pécs. 1999.

Bistey T, Keszthelyi G, Jenei A, Hegedűs Cs. Otthon alkalmazható fogfehérítők humán fogzománkra kifejtett hatásának atom-erő mikroszkópos vizsgálata. Szegedi Tudományos Napok, Szeged. 2000.

Bistey T, Keszthelyi G, Jenei A. Effects of bleaching agents on human enamel: An Atomic Force Microscopy study. IADR/CED NOF, Varsó. 2000.

Bistey T, Hegedűs Cs. Vitapan 3D Master fogszínkulcs alkalmazhatóságának klinikai vizsgálata Szegedi Tudományos Napok, Szeged. 2001

Bistey T, Jenei A, Hegedűs Cs. A peroxidok hatására kialakuló változások a fogzománcon. Magyar Fogpótlástani Társaság, Debrecen. 2001.

Bistey T., Hegedűs Cs. Peroxid tartalmú fogfehérítők mellékhatásai. Miskolci Továbbképző Konferencia, Miskolc. 2002.

Bistey T, Nagy PI Hegedűs Cs. 10-30 %-os hidrogén peroxid hatására kialakuló változások a fogzománconban. Magyar Fogpótlástani Társaság, Budapest.2003.

Bistey T, Jenei A, Szondy Zs, Hegedűs Cs. Hidrogén-peroxid hatására kialakuló változások a fogzománconban. Szegedi Tudományos Napok, Szeged. 2005.

Bistey T, Nagy PI, Hegedűs Cs. A hidrogén-peroxid hatása a fogzománconra: infravörös spektroszkópos vizsgálat. Magyar Fogpótlástani Társaság, Sopron. 2005.

Bistey T, Nagy PI, Hegedűs Cs. Karbamid-peroxid tartalmú fogfehérítők hatásának infravörös spektroszkópiás vizsgálata. Árkövy Vándorgyűlés, Debrecen. 2006.

Bistey T, Nagy PI, Jenei A, Szondi Zs, Hegedűs Cs. Karbamid-peroxid tartalmú fogfehérítők hatásának vizsgálata. BAZ Megyei Fogorvos napok. 2007.

Bistey T. Fogfehérítés a klinikai gyakorlatban. Debreceni Fogászati Szaknapok, Debrecen. 2007.

Bistey T, Nagy PI, Hegedűs Cs. A hidrogén-peroxid hatása a fogzománconra: infravörös spektroszkópos vizsgálat. Élettudományi Társaság Kongresszusa, Debrecen. 2008.

Bistey T. Fogfehérítők hatása a klinikai gyakorlatban. Debreceni Fogászati Szaknapok, Debrecen. 2008.

Bistey T, Nagy PI, Szondy Zs, Simó A, Hegedűs Cs. Effects of hydrogen peroxide on enamel structure and surface EPA Pécs. 2008.