

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

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

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	2
BEVEZETÉS	3
CÉLKITŰZÉSEK	9
ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	10
Humán fogzománc felszíni morfológiájában peroxidok hatására bekövetkező változások vizsgálata	10
<i>Gyári fogfehérítő készítmények és a 30 %-os hidrogén-peroxid kezelés fogzománc felületére gyakorolt hatásának összehasonlítása</i>	10
<i>Különböző koncentrációjú hidrogén-peroxid oldatok, a zománc felszíni morfológiára gyakorolt hatásának összehasonlítása</i>	11
Hidrogén-peroxidos kezelés hatására fogzománc szerkezetében létrejövő változások vizsgálata	12
<i>Az organikus állományában bekövetkező változások vizsgálata</i>	12
<i>Az anorganikus állományban bekövetkező változások vizsgálata</i>	13
EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS	16
Humán fogzománc felszíni morfológiájában peroxidok hatására bekövetkező változások vizsgálata	16
<i>Gyári fogfehérítő készítmények és a 30 %-os hidrogén-peroxid kezelés fogzománc felületére gyakorolt hatásának összehasonlítása</i>	16
<i>Különböző koncentrációjú hidrogén-peroxid oldatok zománc felszíni morfológiára gyakorolt hatásának összehasonlítása</i>	19
Hidrogén-peroxidos kezelés hatására fogzománc szerkezetében létrejövő változások vizsgálata	23
<i>Az organikus állományában bekövetkező változások vizsgálata</i>	23
<i>Az anorganikus állományban bekövetkező változások vizsgálata</i>	24
FONTOSABB MEGÁLLAPÍTÁSOK	32
ÖSSZEFOGLALÁS	33
SUMMARY	34
IRODALOMJEGYZÉK	35
Az értekezésben hivatkozott közlemények jegyzéke	35
Az értekezés alapjául szolgáló közlemények jegyzéke	39
SZAKMAI ÖNÉLETRAJZ	40
FÜGGELÉK	42
Az értekezésben felhasznált közlemények különlenyomatai	42

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, fehéritésével is kielégítő eredmény érhető el, amivel adott esetben elkerülhető a fogpótlás készítése.

A fogfehérítés azonban nem a jelenkor emberének „találmánya”, bár napjainkban széles körben elterjedt a használata, mind a társadalomban, mind pedig a kezelő orvosok körében. Már a múlt század elején is alkalmazták a fogfehérítés különböző formáit, míg napjainkban a fogfehérítésre leginkább a hidrogén-peroxidot alkalmazzák, melynek fogászati alkalmazását *AW Harlan*¹ 1882-ben írt le. Azonban a hidrogén-peroxid csak később vált a mindennapi orvosi gyakorlat részévé. Fogfehérítőként való alkalmazását pedig 1912-ben *CH Abbot*² írta le, melynek lényege a fogak külső felületének kezelése volt, a közel 30 %-os töménységű oldattal. Módszere évtizedekig az egyetlen alkalmazott eljárás volt a fogfehérítésben. *Abbot* módszerét alapul véve *EB Nutting* és *GS Poe*³, egy olyan eljárást írtak le, mellyel gyökérkezelt fogak fehéritését végezhetjük. Ehhez a technikához a fog koronájában egy kavításra kialakítására van szükség, melybe nátrium-perborát és hidrogén-peroxid keverékét helyezik, majd néhány napra lezárják a kavitást. Módszerüket, mely kimondottan a gyökérkezelt fogak fehéritésére alkalmas, „walking bleaching” technikának nevezték, mely arra utal, hogy a páciensnek nem kell a rendelőben tartózkodnia a fogfehérítés során. Napjainkban ez a módszer is háttérbe szorult és a különböző otthoni valamint az újabb rendelői fogfehérítési technikák az élő, vitális fogak kezelésére összpontosítottak. A fogfehérítési technikák ilyen irányú fejlődése részben annak tulajdonítható, hogy a fogászat nagyon sokat fejlődött a prevenció és a megtartó kezelések területén. 1989-ben *VB Haywood* és *HO Heymann*⁴ egy olyan technikát írtak le, melynek során a páciens a fogfehérítést a rendelőn kívül végezhetné. Az ezt megelőző időszakban a felmerülő magas költségek jelentősen korlátozták a fogfehérítés széles körben való alkalmazást, de *Haywood* és *Heymann* módszerével nagy populációk számára vált elérhetővé a fogfehérítési eljárás. A módszer lényege egy alacsony peroxid koncentrációjú termék hosszabb ideig tartó alkalmazása, amit a fogak külső felületére visznek fel. Az alacsony koncentráció miatt a kezelés idő megnövekszik, de a páciensnek nem kell a rendelőben várnia

a kezelések során. Technikát „at-home”, azaz otthoni fogfehérítésnek nevezték el, melynek kivitelezésében a kezelőorvos szerepe elengedhetetlen. A kezelőorvos feladata diagnózis felállítása és a kezelési alternatívák közül az optimális kiválasztása, valamint lenyomatvétel is szükséges a kezelés megkezdéséhez. Ezután a fogtechnikai laboratóriumban mélyhúzásos technikával egy vékony fóliát készítenek, melybe a fogfehérítő anyagot helyezik, és, melyet a páciensnek a kezelések alkalmával viselnie kell. A páciens a fogfehérítőt és a kezelési utasításokat is, a kezelőorvostól kapja meg. ennek a módszernek az előnye, hogy az egész fogív egyszerre kezelhető, a fogak minden felületére kiterjed, és a kezelésben a kezelőorvos csak ellenőrző, tanácsadó szerepet játszik a diagnózis felállításától a kezelés esetleges mellékhatásainak kiküszöböléséig. Az otthoni fogfehérítési eljárás során a legtöbb esetben alacsony koncentrációjú (10 %) karbamid-peroxidot tartalmazó gélt alkalmazunk, amely 3-5 % hidrogén-peroxid tartalomnak felel meg. Annak érdekében, hogy a termék hosszabb ideig kifejthesse a hatását, a hidrogén-peroxid lebomlását egy polimer, Carbopol segítségével lehet lassítani. Haywood és Heymann módszerét követően újabb nagy áttörést már nem hoztak a kutatások. A fejlesztések a peroxidos rendszerek körül maradtak, és újabb hatóanyagok nem kerültek bevezetésre a klinikai gyakorlatba. Az egyedüli innováció a *Whitestrips*® nevű termék bevezetése volt, 2001-ben, melynek hatóanyaga 6 %-os töménységű hidrogén-peroxid, melyet egy celluloid csíkra visznek fel, és a fogra ragasztható. Ez a 6 %-os koncentráció meghaladja a korábbi „at-home” típusú fogfehérítők szokásos koncentrációját (3-5 %). Az első megjelenést követően pedig még magasabb koncentrációban (6,5-9,5-10-14 %) is alkalmazták a hidrogén-peroxidot ebben a termékben. A magasabb peroxid koncentrációk inkább a rendelői, mintsem egy otthoni fogfehérítés során alkalmazott koncentrációk közelébe kerültek. A *Whitestrips*® termék bárki számára megvásárolható, orvosi kontrol nélkül alkalmazható, amivel jelentős csökkenthetők a költségek, de hátránya a rendszernek, hogy a celluloid csík nem illeszkedik pontosan a fognyak alakjához, illetve nem fehéríti a fogak proximális és orális felszínét sem.

Az alacsony koncentrációjú technikákkal ellentétben lehetőség van nagy koncentrációjú peroxidoknak az alkalmazására is, mely anyagok a rendelői fogfehérítés keretei között alkalmazhatóak. A rendelői fogfehérítés esetében magas koncentrációjú (30-38 %) hidrogén-peroxidot vagy a karbamid-peroxidot lehet használni. Ilyen magas koncentrációnál a kezelési idő rövidebb, de a páciensnek a rendelőben, vagy sok esetben a székben kell várnia a kezelés végéig. A kezelések során a lágyrészek védelemére kifejezetten nagy figyelmet kell fordítani, amire azért van szükség, mert a koncentrált hidrogén-peroxid komolyabb mellékhatásokat okozhat. Gyakran a magas koncentráció mellett a peroxidok

lebomlását fokozni szokták, ezzel is gyorsítva a fehérités, és vele párhuzamosan a fehéredés folyamatát. Erre a célra nagy teljesítményű fényforrásokat, mint pl.: halogén vagy plazma lámpa, alkalmaznak a klinikai gyakorlatban. Vizsgálatok azonban több ponton is megkérdőjelezzik ezeknek a fényforrásoknak, különösen a lézernek a fogfehéritésben betöltött szerepét ⁵, tekintettel a pulpális mellékhatásokra.

Ahhoz, hogy megértsük a fogfehéritők hatását, ismernünk kell a fogelszíneződések kémiai sajátosságait. A fogelszíneződések etiológiáját tekintve megállapítható, hogy élelmiszerek, gyógyszerek, trauma, és szisztémás megbetegedések is előidézhettek elszíneződéseket. A kialakulásukat tekintve 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. A különböző osztályozási módok közül az egyik leggyakrabban használt a *Salim A Nathoo* ⁶ által leírt beosztás, amely a fogelszíneződéseket két nagy csoportba osztotta: külső és belső elszíneződések. Nathoo osztályozásának lényege, az elszíneződés folyamatának kémiai sajátosságai. A külső elszíneződések közül három típust különböztet meg. Ezeket N1, N2 illetve N3 névvel látta el. Az N1 és N2 ún. direkt elszíneződés, mivel az elszíneződést kiváltó molekula, a kromogén, önmagában is színes. Az N3 elszíneződés viszont ún. indirekt elszíneződés, mert egy színtelen kromogén hoz létre elszíneződést a fog felszínén. Az N1 típusú elszíneződésekben a kromogén, és maga az elszíneződés azonos színű, míg az N2 típus esetében a kromogén molekula színes, de a foghoz való kötődés után a színe megváltozik. A harmadik típus (N3) jellemzője egy színtelen kromogén, mely színessé válik a fog felszínén. A kromogén molekulák a legtöbb esetben ciklikus gyűrűket vagy kettős kötések tartalmazzak, amelyek a szín kialakulásában játszanak szerepet. Nathoo felosztásának hátránya, hogy nem foglalkozik a belső elszíneződésekkel, mivel ezek kialakulásáról és kémiájáról keveset tudunk, jelentőségük viszont nagy, mivel kezelésük sok nehézséget okoz a klinikai gyakorlatban.

A fogfehérités 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 valamint szabadgyök bomlástermékeik az élő szövetekben is jelen vannak, ahol azonban peroxidázok révén, enzimatikus úton, rövid időn belül inaktiválódnak. Ez a folyamat része a mindennapi sejtfolyamatoknak, melyek

azonban a fog felszínén csak nagyon korlátozott mértékben (nyál peroxidáz), vagy egyáltalán nincsenek jelen, így az ott keletkező szabad gyökök hosszabb ideig aktívak maradhatnak. A hidrogén-peroxid és belőle felszabaduló szabadgyökök egyik legfontosabb tulajdonsága, hogy kis molekulasúlyuk 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 oxidáció során a kromogének kémiai struktúrája megváltozik és elvesztik színüket. Ez a kémia átalakulás és az ezzel járó színváltozás feltehetően a kettős kötések átalakulásával van összefüggésben. Sajnos ezekről a kémiai átalakulásokról keveset tudunk. Fontos azonban látnunk, hogy a színtelenné vált kromogén molekula nem távozik el a fog szöveiből, csak kémiaiilag átalakul az oxidáció során. A folyamat során nem lehet megakadályozni azt, hogy a szabad gyökök a zománcban, a dentinben és nem utolsósorban a pulpában lévő molekulákat is oxidálják. A folyamat ilyen formában tehát nem-szelektív, az elszíneződéseket kiváltó kromogénekre vonatkoztatva. A fent említett penetráció nagy jelentőségű a fogfehérítés folyamatában, hiszen ahhoz hogy színváltozást, világosodást érhessünk el, a peroxidoknak a belső szövetrétegekre is hatással kell lenniük, melyek a fog színének kialakításában nagy szerepet játszanak. A fogszín kialakításában a dentinnek és a zománcnak egyaránt jelentős szerepe van. A dentin a fog alapszínét határozza meg, a zománc viszont önmagában, a fog optikai szempontjából színtelennek mondható. A zománc jelenléte azonban alapvetően fontos a fog színének kialakításában, mert olyan optikai tulajdonságokat kölcsönöz a fognak, mint az opaleszcencia és a fluoreszcencia. A fentiekből következik, hogy a fogszín igen összetett módon alakul ki, és amikor meg szeretnénk változtatni a fog színét, ismernünk kell annak jellemzőit, illetve a szövetek tulajdonságait is. Az elszíneződések a zománcban és a dentinben egyaránt jelen vannak, ami szükségessé teszi a peroxidok és a szabadgyökök penetrációját. Ennek mértéke optimálisan a dentin pulpa határig tartana, aminek megvalósítás azonban nem lehetséges, még empirikus úton nyert adatok segítségével sem, hiszen nem lehet meghatározni a dentin vastagságát illetve a kemény szövetek peroxidra vonatkoztatott permeabilitását, egyénre vonatkozóan, és még további faktorokat sem. Mivel a peroxidok és a szabad gyökök a pulpát is eléri, a gyakorlatban számolni kell pulpális mellékhatásokkal, melyek szöveti szinten is kimutathatóak ⁷. Az eukarióta sejtek oxidatív stressz hatásra (beleértve a H₂O₂-t is) a hem-oxigenáz-1 enzimszint (HSP32) növekedésével reagálnak. Emellett in vitro vizsgálatokban megnövekedett peroxid penetrációt mutattak ki, ahol a penetráció mértéke arányos volt a hidrogén-peroxid koncentrációval ⁸. A pulpában végbemenő változások az irreverzibilis szintet is elérhetik, mint azt *Seal és Wilson*

eredményei is mutatják ⁹. Annak érdekében, hogy a fog színét megváltoztathassuk, a dentin színét kell világosabbá tenni, a peroxidok penetrációja révén. A kísérletes vizsgálatok szerint ¹⁰, a fogfehérítés során a színváltozás a dentinben megy végbe. *McCaslin* és munkatársai ¹⁰ kimutatták, hogy a 10 %-os karbamid-peroxiddal végzett kezelések után a dentin vált világosabbá. A dentin világosodása egységes volt a vizsgált dentin minták teljes vastagságában, ami azt jelenti, hogy peroxidok a teljes dentin rétegen képesek átjutni. Ennek a jelentősége a klinikai gyakorlatban van, hiszen a fogfehérítési kezelés során, vagy az utána jelentkező mellékhatásoknak ez áll, vagy állhat a hátterében.

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 panaszkodik a fogfehérítés során vagy közvetlenül utána (CRA). Ezen kívül a hatóanyag befolyásolhatja az ízérzékelést is, valamint irritálhatja a lágyrészeket, mint például a gingivát, a bukkális és palatinális nyálkahártyát. Az objektív mellékhatásokat 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 is, azonban a mellékhatások legnagyobb része a fog kemény szöveteiben jelentkezik. Ezek a változások több ponton is kimutathatóak.

Al-Salehi és munkatársai ¹², vizsgálataikban különböző koncentrációjú hidrogén-peroxidnak fogászati amalgámra kifejtett hatását vizsgálva (tömeg spektrometria) megállapította, hogy a Hg, Ag, Sn és Cu ionok kioldódása fokozódik a kezelés hatására. Ezzel párhuzamosan azonban nem jelentkezett érdesség növekedés az amalgám felületén. Az ionok kioldódása arányos volt az alkalmazott koncentrációval. *Rotstein* ¹³ és társai hasonló eredményre jutottak. Munkájukban különböző típusú amalgámokat vizsgálva kimutatták, hogy az amalgám összetétele is jelentősen befolyásolja a higanykioldódás mértékét.

A kompozit tömőanyagok alkalmazását a peroxid tartalmú fogfehérítők jelentősen módosíthatják, mely abból adódik, hogy a fogfehérítés után a fogban oxigén keletkezik a szabadgyökökből, amely aztán rövidebb hosszabb idő alatt távozik, spontán diffúzió útján. Az oxigén jelenlétében azonban a kompozitok polimerizációja és ennek következtében a foghoz való kötődése is gátolt a fogfehérítést követően ¹⁴. A fenti probléma megoldására a legtöbb esetben 1-2 hét várakozást javasolnak az adhezív technikák alkalmazása előtt, amely idő elegendő ahhoz, hogy a fog kemény szöveteiből az oxigén eltávozzon.

A fogpótlások anyagaira, egyes fémötvözeteken kívül, a peroxid tartalmú fogfehérítők nincsenek hatással. Egyes fémek esetében korrózióval számolhatunk a hidrogén-peroxid jelenlétében, amely függ a behatási időtől, a peroxid koncentrációtól és a fémötvözet összetételétől is ¹⁵. A fogászatban alkalmazott kerámiákra és kompozitokra gyakorolt hatásuk nem éri el a szignifikáns szintet, ebből adódóan klinikai relevanciájuk sincsen ¹⁶. A szabadgyökök penetrációja révén a peroxidok hatással vannak a pulpára is. Mindezeket túl a hatások legnagyobb része a fog kemény szöveteiben jelentkezik. Ezek a változások több ponton is érzékelhetőek.

Az irodalmi adatok szerint a tanulmányok egy része azt mutatja, hogy a változások sem a zománc felületén, sem a belső struktúrákban nem szignifikánsak ¹⁷⁻¹⁹. *Rotstein* ²⁰ és munkatársai azonban hidrogén-peroxid hatására Ca^{2+} és PO_4^{2-} ionok kioldódást írtak le a zománcból, míg *McCracken* ²¹ és munkatársai a Ca/P arány megváltozását mutatták ki 7 napos fogfehérítési kezelés után. *Arwill* és munkatársai ²² a fog kemény szöveteinek tanulmányozása során a zománc megnövekedett porozitását mutatták ki 30 %-os hidrogén-peroxiddal végzett, 6 órás kezelés után. Ezeket a vizsgálatokat *Carrasco* ²³ vizsgálatai is megerősítették. *Attin* és munkatársai ²⁴, valamint *Zantner* és munkatársai ²⁵ a fehérített zománc keménységét tanulmányozták, és a mikrokeménységi mutatók szignifikáns csökkenését írták le. *Basting* és munkacsoportja ²⁶ szintén a zománc mikrokeménységének csökkenését írta le. Vizsgálataik szerint a nyál hatására a mikrokeménységi mutatók növekedtek, de nem érték el a kiindulási szintet. Más vizsgálatok viszont ezen megállapításokat nem igazolták ²⁷. Irodalmi adatok szerint a peroxidok hatással vannak a zománc felületére is. Elektron mikroszkópos vizsgálatokkal *Ernst* ¹⁷ és munkatársai csak kismértékű, *Bitter* ²⁸ 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 változásokat érintik, ezáltal is pontosabb képet kapni ennek a beavatkozásnak egyes részleteiről.

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 kifejezetten orvos-biológiai alkalmazásokra kifejlesztett és kollaboráció eredményeképpen beszerzett un. *stand-alone* típusú atomerő mikroszkópot (Applied Optics Group, University of Twente, Twente, The Netherlands) használtunk ²⁹. 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 lábon álló egység (tripod), melyet a minta felett megfelelően pozicionálva készítettük a felvételeket. A Si₃N₄ összetételű piramis formájú tű rendszerint kb. 0,06 N/m rugóállandójú tartókarhoz (cantilever) van rögzítve. Berendezésünk segítségével a pásztázás különböző mérettartományokban, maximum 20×20 µm-es határig volt lehetséges. A zománc felszínekről 10×10 µm és 20×20 µm nagyságú képeket készítettünk (500×500 pixel felbontásban), melyeket a berendezéshez kifejlesztett Plotline nevű program segítségével dolgoztunk fel.

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

Vizsgálatainkban két, a kereskedelmi forgalomban is kapható fogfehérítőnek (*Oplaescence*®, Ultradent Products Inc., South Jordan, Utah, USA; *Nite White*®, Discus Dental Inc., Los Angeles, California, USA) hatását hasonlítottuk össze 30 %-os hidrogén-peroxid oldat (Sigma Chemical Corporation, Product No. H1009) hatásával. A vizsgálathoz felhasznált fogakat (15 db metsző) az extrakció után 0,5 % Kloramin-T oldatban (9,0 g nátrium-klorid és 5,0 g kloramin-trihidrát, 1000 ml desztillált vízben feloldva) tároltuk a feldolgozásig a dehidráció elkerülése érdekében. Ezt követően a fogak gyökerét, és a korona lingvális felét vízhűtés mellett turbinával eltávolítottuk, így olyan vékony mintákat kaptunk, melyek a bukkális, természetes zománcfelszínt tartalmazták, és a mikroszkópban való kezelésük egyszerűvé vált. A mintákat, a három vizsgált anyagnak megfelelően véletlenszerűen három csoportra osztottuk (1-3. csoport). Minden felületi tisztítás nélkül a mintákról AFM felvételeket készítettünk. Minden mintáról 5 különböző, egymással nem

átfedő AFM felvétel készült, különböző mérettartományokban. Ezt követően 5,25 %-os nátrium-hipoklorit oldattal átnedvesített vattával tisztítottuk meg a minták természetes zománc felszíneit, lemostuk, majd ismételt AFM felvételeket készítettünk. Ezek a felvételek szolgáltak negatív kontrollként a többi vizsgálandó minta esetében, ezáltal kiküszöböltük az egyéni zománc variabilitásból származó különbségeket. Ezután a mintákat a peroxidos kezelésnek vetettük alá. A kezelések között fogmosást nem szimuláltunk, így az ebből adódó abrazív hatást nem mértük a jelen vizsgálatban. A peroxidos kezelésekhöz használt gél mennyisége (0,2 ml) állandó volt, tehát nem vettük figyelembe a gyakorlati alkalmazáskor előforduló gél fogyását. A hidrogén-peroxid oldat mennyisége szintén állandó volt (5 ml). A két fogfehérítő gél (Opalescence és Nite White) esetében a teljes kezelési idő 28 óra volt, melyet 7 egyenként 4 órás kezelésben végeztünk. Minden kezelés után a mintákat 1 percig mostuk magas nyomású vízzel, majd szárítottuk és újabb kezelés következett. A minták bukkális felszínét a gél teljes mértékben lefedte. A kezeléseket minden esetben szobahőmérsékleten végeztük. 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

Vizsgálatunkban 3 különböző (10, 20, 30 %) koncentrációjú hidrogén-peroxid oldat fogzománcra kifejtett hatását vizsgáltuk meg. A fogak (összesen 12 db; metsző: 5, szemfog: 1, premoláris: 3, moláris: 3) gyökerét és a koronájának lingvális felét, vízhűtés mellett, turbinával eltávolítottuk. Az így kapott mintákat (a klinikai korona bukkális fele) könnyebben tudtuk a mikroszkóp alá helyezni. A mintákat véletlenszerűen négy csoportra (1-4. csoport) osztottuk. Minden csoportba három minta került. Negatív kontrollként az 1. csoport, 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 egy óráig. Saját méréseink szerint az oldat pH értéke 7,5 volt. Az első felvételek a zománccról, tisztítás előtt készültek. Ezt követően 5,25 %-os nátrium-hipoklorit oldattal tisztítottuk meg a minták természetes zománc felszíneit, lemostuk, majd ismételt mikroszkópos felvételeket készítettünk. Annak érdekében, hogy

megőrizhessük a természetes zománc struktúrákat, semmilyen más anyagot nem használtunk a minták feldolgozása során. A peroxidos kezelések ideje egy óra volt, melyet zárt Petri csészekben végeztünk. A kezelés után a mintákat egy percig mostuk víz-spray alatt, majd fiziológiás sóoldatba helyeztük a 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 (metsző: 4, szemfog: 2, premoláris: 6, moláris: 5) használtunk fel. A fogakat Kloramin-T oldatban (9,0 g NaCl és 5,0 g Kloramin-T, 1000 ml desztillált vízben feloldva) tároltuk, majd a gyökerét, a koronális részből a dentint és a pulpát turbinával, gyémánt forgóeszköz segítségével vízhűtés mellett eltávolítottuk. Az így kapott mintákat, melyek csak zománcot tartalmaztak kerámia mozsárban homogenizáltuk. A homogenizált zománc darabokból 4 csoportot képeztünk, melyek mindegyike 500 mg zománcot tartalmazott. Az első csoportot negatív kontrollként használtuk és fiziológiás sóoldatban tároltuk egy óráig. A többi három csoportot pedig 10, 20 és 30 %-os hidrogén-peroxidos (Sigma Chemical Corporation, Product No. H1009) kezelésnek vetettük alá egy órán át. Minden egyes csoportot további kettő, 250 mg zománcot tartalmazó csoportra osztottuk a kezelés után alkalmazott dializáló oldat alapján. A kezelés után az egyik 250 mg zománcot tartalmazó csoportot foszfát pufferben (pH 7,2), a másikat pedig 6 M 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 reakcióban³⁰ keletkező anion számára nem hozzáférhetőek a fehérjék fedett tiol csoportjai. A dialízis oxigénmentes környezetben történt, hogy a maradék hidrogén-peroxidot eltávolítsuk a zománcból. 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 így a meghatározás pontatlan lenne. A dialízis után a szabad tiol csoportok számát az Ellman reakcióval határoztuk meg. Minden egyes 250 mg zománcot tartalmazó mintára 1 ml 5'5'-ditiobisz-(2-nitrobenzoészav)-at tartalmazó Ellman reagenst cseppentettünk steril teszt csőben, majd a mintákat egy órán keresztül inkubáltuk szobahőmérsékleten. A

5'5'-ditiobisz-(2-nitrobenzoesav) a színes tionitrobenzoesav 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 (metsző: 5, premoláris: 15, moláris: 10) használtunk fel. Ezek a fogak 10 páciensből kerültek eltávolításra (páciensenként 3 fog). A feldolgozás során figyeltünk arra, hogy az egy páciensből származó fogak ne keveredjenek össze. Vizsgálatainkhoz csak a fogak koronáját használtuk fel. Először, vízhűtés mellett, turbinával eltávolítottuk a gyökeret, majd a fog koronális részéből a pulpát. Ezt követően a mintákat műgyantába ágyaztuk (Araldite, Ciba Basel, Switzerland), majd a blokkoknak a bukkális koronafelszínt borító felületét simára csiszoltuk, olyan módon, hogy a csiszolt felületen csak a zománc exponálódjon (1. ábra).



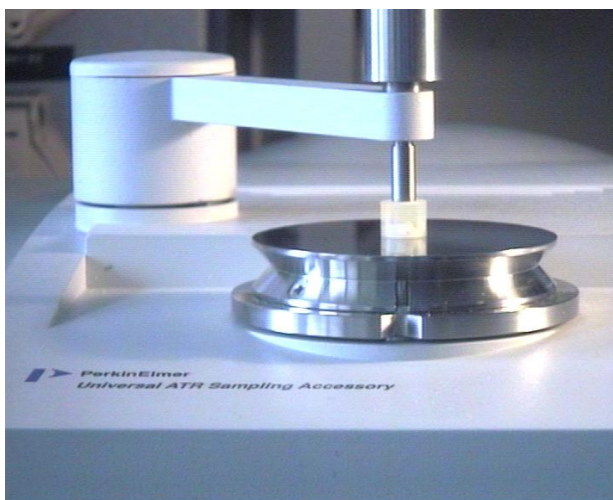
1. ábra. A csiszolással szabaddá tett zománcfelület a beágyazást követően

A mintákat ezután 10 %, 20 % és 30 %-os hidrogén-peroxid oldattal kezeltük (Sigma Chemical Corporation, Product No. H1009). A kezeléseknél az egy páciensből származó mintákat, a három koncentrációnak megfelelően választottuk ki. A kezeléseket zárt Petri csészékben végeztünk. A teljes kezelési idő 120 perc volt. A kezelés után a mintákat egy percre mostuk, majd fiziológiás sóoldatba tároltuk a spektrumok felvételének időpontjáig. 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. A hidrogén-peroxidnak és az Aralditnak a spektrumát szintén

felvettük. Ez lehetővé tette ezen anyagok észlelését a felületen a spektrumok elemzése során. 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, ATR egységgel felszerelt infravörös spektrométert (Perkin-Elmer Inc., Wellesley, MA USA) használtunk. A spektrumokat szobahőmérsékleten, $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ sáv szélesség és 4 cm^{-1} felbontás mellett készítettük. Minden spektrum négy gyors egymást követő mérés eredményeként alakul ki. A vizsgált felületeket az ATR egység gyémánt kristálya fölé helyeztük, majd a jellemző spektrum felvételéhez szükséges kalibrált erővel rögzítettük (2. ábra).

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



2. ábra. A minta az infravörös spektroszkóp ATR mérőtányérján. Felette a nyomókar, amely a minta és az ATR kristály megfelelő illeszkedését biztosítja.

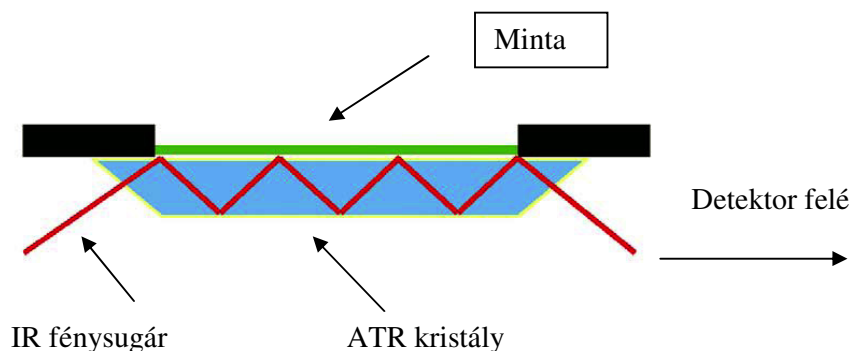
Az FT-IR spektroszkópia az anyagot alkotó molekulák infravörös tartományba tartozó rezgéseinek változásait detektáló rendszer. A molekulák rezgőmozgása során az atomok egyensúlyi helyzetük körül, különböző irányban mozognak. A különböző rezgési állapotokban a molekula dipólus momentuma és/vagy polarizálhatósága állandóan változik, és ez az állapotváltozás fényelnyeléssel vagy fénykibocsátással jár. Az elektromágneses sugárzás infravörös sávjába eső fénysugárral való gerjesztés után a molekulák a saját rezgéseik frekvenciájának megfelelően abszorbeálják az infravörös sugárzást, melyet aztán detektálunk.

A Fourier transzformáció esetében nem monokromatikus fényt, hanem egy szélesebb frekvenciasávot detektálunk egyszerre.

Nagyszámú vegyület színeképek vizsgálatából megállapították, hogy bizonyos atomcsoportokhoz és kötésmódhoz jellemző csoport- és kötésfrekvenciák tartoznak, melyeket karakterisztikus frekvenciáknak, sávoknak nevezünk. A karakterisztikus frekvenciák elsősorban a kötésmódtól függenek, de nem teljesen függetlenek a molekula többi részétől. A kötési illetve csoportfrekvenciák tulajdonságait ugyanis a kémiai szerkezet illetve a vizsgálati körülmények jellegzetesen befolyásolják.

A vegyület színeképében megjelenő frekvenciákhoz a szerkezeti egység hozzárendelése gyakran tapasztalati összehasonlításon és elméletileg értelmezhető egyszerűbb molekulák színeképeivel való összevetés segítségével történik.

Az IR (infravörös) spektrofotométer elvi felépítése hasonló a látható, és az ultraibolya tartományban üzemelő fotométerekével: fényforrás, fényfelbontó egység, detektor. Az ATR (Attenuated Total Reflectance) technika egy olyan roncsolás mentes vizsgálati módszer, amely a vizsgálandó minta felületén, kis behatolási mélységig végezhető (3. ábra). Előnye a minimális minta előkészítési igény.



3. ábra. Az ATR egység optikai sugármeneti sémája

A minta a mérés során egy nagy törésmutatójú kristály felülete mentén érintkezik az IR sugárnyalábbal. Az ATR technika esetén ez a kristály általában cink-szelenid-gyémánt kompozit kristály. Ezzel csökkenthető a tiszta gyémántra jellemző interferencia, a gyémánt tartalom miatt viszont kemény és ellenáll a korróciónak is.

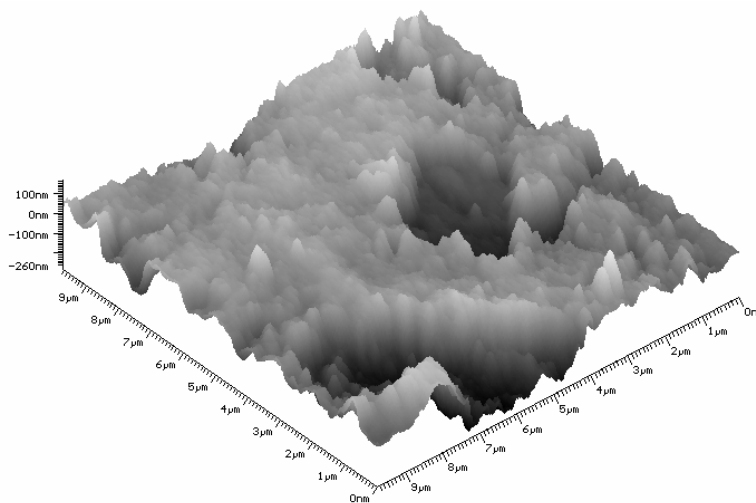
A módszer alkalmas homogén szilárd minták vizsgálatára, felületi bevonatok mérésére. Ilyenkor a minta és a mérőtányérba beépített kristály közötti érintkezés javítása érdekében enyhe nyomást alkalmazunk a minta felületére.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

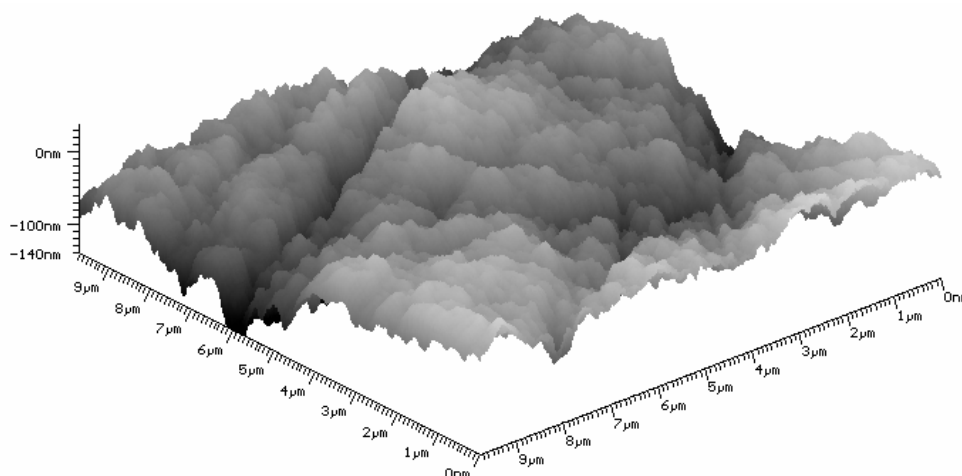
Humán fogzománc felszíni morfológiájában peroxidok hatására bekövetkező változások vizsgálata

Gyári fogfehérítő készítmények és a 30 %-os hidrogén-peroxid kezelés fogzománc felületére 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 (4. ábra). Ennek a rétegnek a vastagsága 175-250 nm között változott. A réteg jelenléte miatt, a valódi zománc felszín nem volt megfigyelhető. A nátrium-hipokloritos tisztítás után az AFM felvételeken jellegzetes felületi morfológiát figyelhetünk meg (5. ábra).

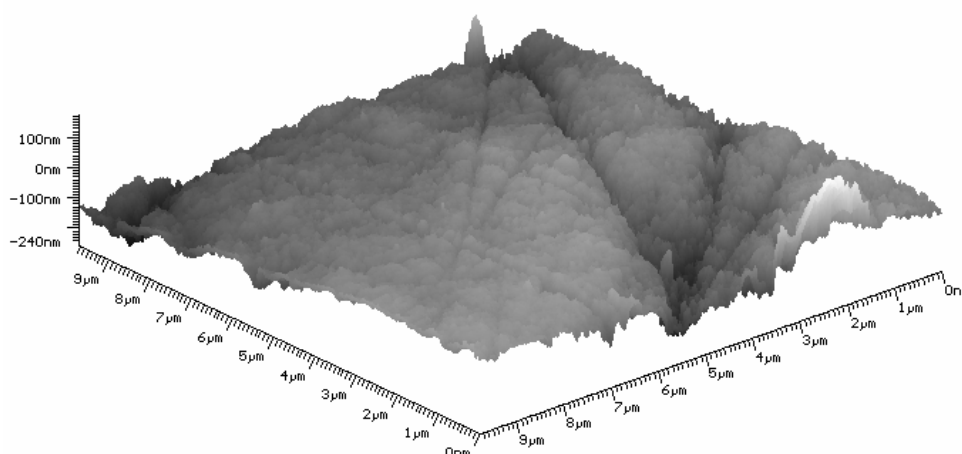


4. ábra. A Na-hipoklorit tisztítás előtti AFM felvétel a zománcfelszínről. 'Z' tengely tartománya: -260 -150 nm.
Méret: 10 μm .



5. ábra. A Na-hipokloritos tisztítás utáni zománc AFM felvétele. 'Z' tengely tartománya: -140-50 nm.
Méret: 10 μm .

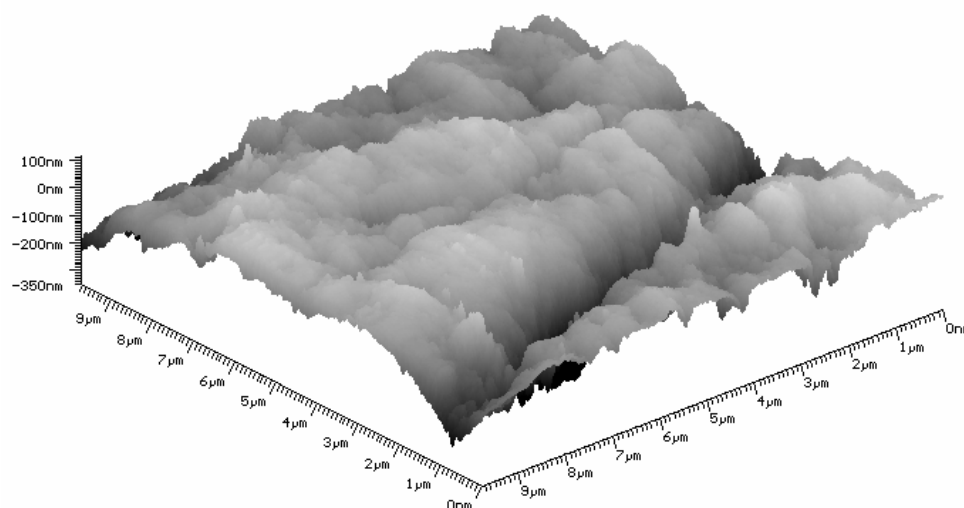
Az 5. ábrán a kezeletlen, de tisztított zománc felszín, jellemző AFM felvétele látható. A felszínt minden irányban lefutó barázdák jellemzik melyek viszonylag kis mélységűek. Megjelenésük, a szabálytalan lefutás miatt leginkább karcolatokhoz hasonlít. A barázdák jellemző paraméterei: mélység: 14-70 nm; szélesség: 0,25-1,0 μm . A 28 órás Opalescence kezelést követően, az AFM felvételek eltérést mutattak a negatív kontrol felvételekhez képest (6. ábra). 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.



6. ábra. A 28 órás Opalescence kezelés utáni zománc AFM felvétele. 'Z' tengely tartománya: -240 -150 nm.
Méret: 10 μm .

Hasonló változások figyelhetők meg a 28 órás Nite White kezelések hatására a zománcon, bár 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 (7. ábra). 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).



7. ábra. A zománc felszín AFM felvétele 30 %-os hidrogén-peroxiddal végzett 28 órás kezelés után. 'Z' tengely tartománya: -350 -100 nm. Méret: 10 μm .

Az általunk kapott eredmények több ponton is korrelálnak az irodalmi adatokkal. *Bitter*³¹ és *McGuckin*³² hasonló barázdákat írt le a zománc felszínen elektronmikroszkópos technikával. A vizsgálatainkban használt két gyári készítmény hatása közel azonosnak mondható, mindkettő alkalmazása esetén a barázdák szélesebbek és mélyebbek lettek, valamint a barázdák felszíne érdesebb és szabálytalanabb képet mutatott. 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.

A Carbopol stabilizálja a peroxidot, így a lebomlása és a szabad gyökök felszabadulása lassabb, elhúzódóbb lesz. Ennek hatása azonban nem volt érzékelhető a felületi

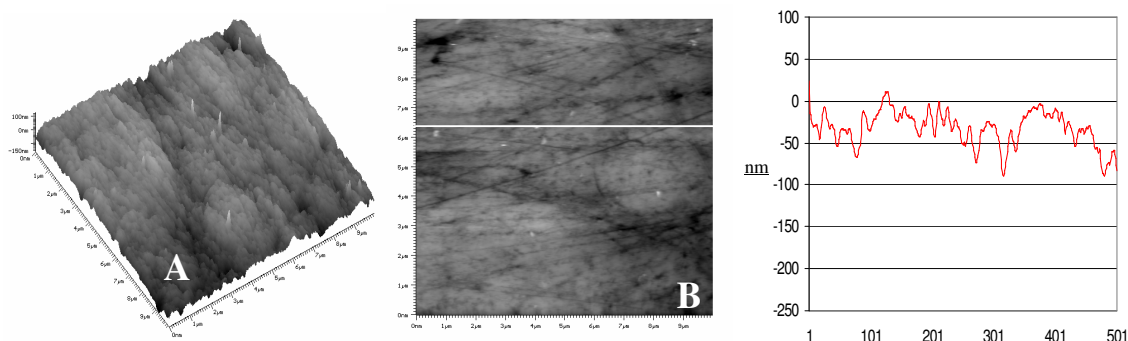
morfológia változásában, hiszen a két gyári készítmény hatása elmaradt a tömény oldat hatásától. Vizsgálatok szerint ³³ a 10-15 % töménységű karbamid-peroxidból 7-10 % urea (karbamid), és 3-5 % hidrogén-peroxid keletkezik a disszociáció után. Ennek a peroxid mennyiségnek az elhúzó fel szabadulása nem eredményezett azonos hatást a zománc felületén, összevetve a nagy koncentrációjú hidrogén-peroxid hatásával. *Nathoo* és munkatársai ³⁴ a karbamid-peroxid lebomlásának tanulmányozása során arra az eredményre jutottak, hogy az Opalescence gélben a kezelés megkezdése után 4 órával az anyagnak több mint 60 %-a aktív volt. Figyelembe véve a hidrogén-peroxid mechanikus tisztító hatását ³⁵, 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 ³⁶. A prizmák felett pedig egy ún. aprizmatikus zománcréteg található, ami az amelogenezis végső fázisában alakul ki. Ez a zománcréteg többnyire a tejfogakon található meg, de jelen van a maradó fogakon is. Főként azokon a felszíneken (bukkális, proximális és cervikális) található meg, amelyek nincsenek nagy mechanikai terhelésnek kitéve. Ezzel magyarázható, hogy jelen tanulmányban az AFM felvételeken nem volt megfigyelhető 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-peroxidnak és a szabad gyökök számára. Az AFM által láthatóvá tett morfológiai változások vélhetően ebben a zománcrétegben bekövetkező változások eredményeként alakultak ki. Azonban további vizsgálatokra van szükség annak érdekében, hogy a felszíni morfológiai változások pontos mechanizmusát értelmezni tudjuk.

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

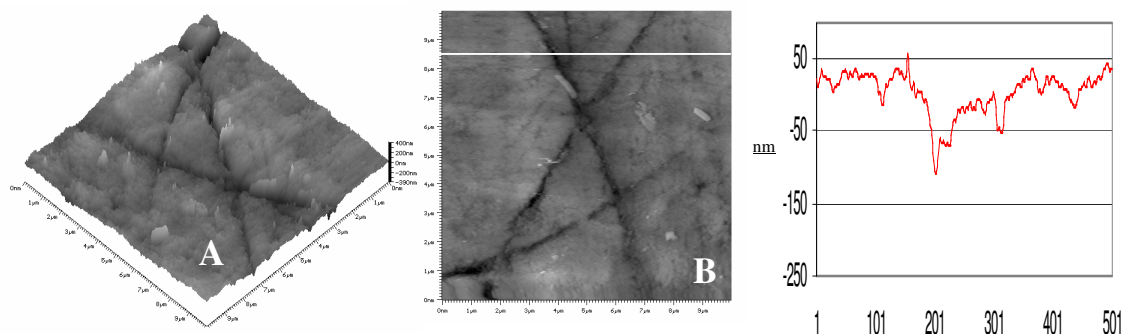
A minták zománcfelülete a hidrogén-peroxidos kezelések után fényes volt, ami arra utal, hogy a peroxidok nem marták meg a felületet. Ezt támasztja alá az is, hogy nem láttunk az atomerő mikroszkópos felvételeken a zománcot súlyosan destruáló, az adhezív töméstechika során alkalmazott foszforsavas kondicionálásra jellemző struktúrát.

A kezeletlen minták felületén sekély barázdákat figyeltünk meg, melyek lefutása teljesen szabálytalan volt. Átlagos mélységük 28-84 nm, szélességük 100-250 nm között változott (8. ábra A,B).



8. ábra. A kezeletlen minta AFM felvétele 3D (A), és felülnézeti (B) megjelenítésben. A grafikon a fehér vonalnak megfelelően ábrázolja a 'z' magassági paramétereket. Méret: 10 x 10 μm .

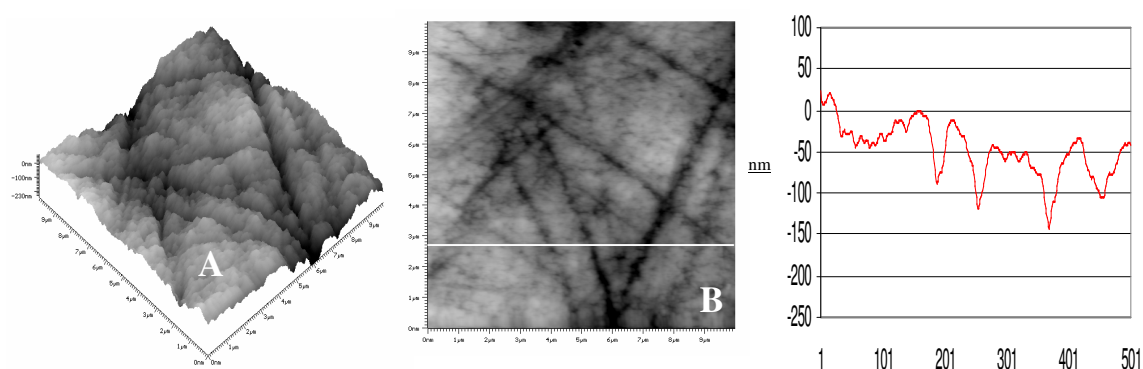
A 9. ábra a 10 %-os hidrogén-peroxid oldatos kezelés eredményét mutatja be két és háromdimenziós felvételeken (A, B). A felvételek jól ábrázolják a barázdák méretbeli változásait a negatív kontrolhoz viszonyítva. A barázdák szélessége 380-600 nm, míg a mélységük 50-150 nm között változott.



9. ábra. 10 %-os hidrogén-peroxiddal kezelt zománcfelület AFM felvétele 3D (A), és felülnézeti (B) megjelenítésben. A grafikon a fehér vonalnak megfelelően ábrázolja a 'z' magassági paramétereket. Méret: 10 x 10 μm .

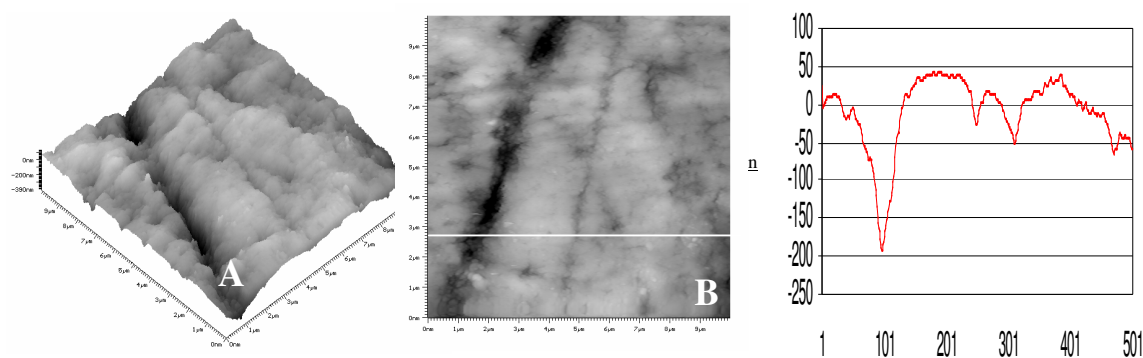
A 20 % illetve a 30 %-os oldatok tovább növelték a felszíni barázdák szélességét és mélységét (10-11. ábra A,B). A 20 %-os hidrogén-peroxiddal végzett egy órás kezelés végére

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).



10. ábra. 20 %-os hidrogén-peroxiddal kezelt zománcfelület AFM felvétele 3D (A), és felülnézeti (B) megjelenítésben. A grafikon a fehér vonalnak megfelelően ábrázolja a 'z' magassági paramétereket.

Méret: 10 x 10 μm .



11. ábra. 30 %-os hidrogén-peroxiddal kezelt zománcfelület AFM felvétele 3D (A), és felülnézeti (B) megjelenítésben. A grafikon a fehér vonalnak megfelelően ábrázolja a 'z' magassági paramétereket.

Méret: 10 x 10 μm .

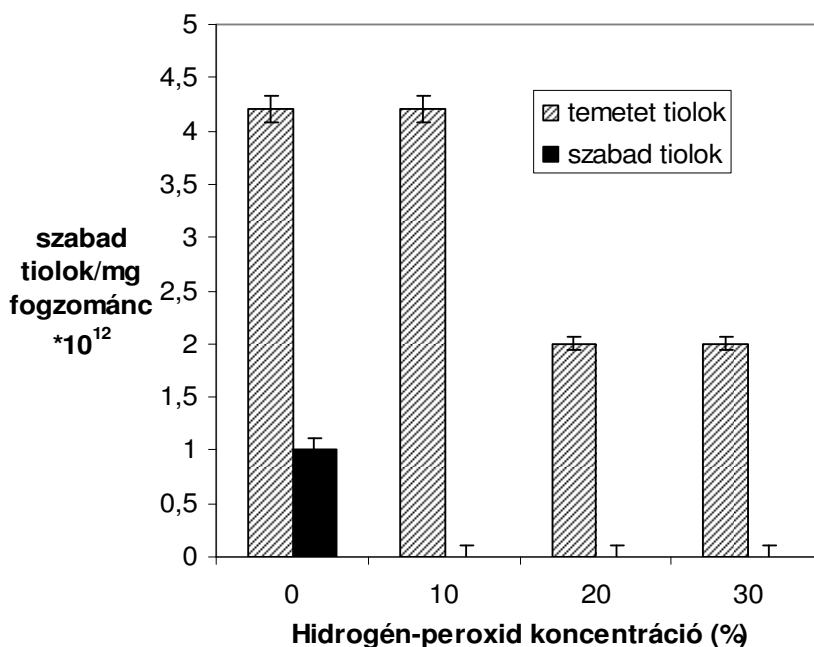
Az irodalmi adatok alapján a fogzománcban felületi és belső változások is bekövetkeznek a fogfehérítések hatására^{20-24, 37-40}. Ezek a változások érintik a zománcnak mind az organikus és az anorganikus állományát is. Mindenképpen fontos a zománcot, mint egységes szövetet vizsgálni, mert ezzel jobban közelíthetünk az *in vivo* állapothoz. Bármilyen változást is eredményez a peroxidos fogfehérítés, az főként a peroxid penetrációjának tulajdonítható.

McCracken és *Haywood*²¹ a karbamid-peroxidos kezelés hatására demineralizációt írt le, bár ennek mértéke klinikailag nem releváns. Méréseik szerint a bekövetkező Ca^{2+} veszteség $1,06 \mu\text{g}/\text{mm}^2$, amely megközelítően megfelel 500 ml kóla elfogyasztása során végbemenő kalcium veszteségnek. *Rotstein* és munkatársai²⁰ viszont nem csak a Ca^{2+} kioldódást írták le, hanem a Ca/P arány megváltozását is, ami jelentős lehet abból a szempontból, hogy az apatit kristályrendszer egyensúlya megbomlik és ezzel további változásokat indukál a peroxidos oxidáció. Vizsgálataik nemcsak a zománcot, hanem a dentint és a cementet is érintették. A dentinben és a cementben is Ca^{2+} kioldódás volt kimutatható, ami arra utal, hogy a peroxidok és a szabadgyökök nemcsak elérik a mélyebb szövetrétegeket, hanem ott jelentős változásokat képesek előidézni a kemény szövetek kristályszerkezetében. Amellett, hogy a fogfehérítéssel a felületi morfológia és vélhetően a belső struktúra is megváltozik, a zománc fizikai mutatóiban is eltérések jelentkeznek. *Attin* és munkatársai²⁴ a zománc mikrokeménységi mutatóit vizsgálták Opalescence kezelése után, és arra az eredményre jutottak, hogy a zománc keménysége szignifikánsan csökkent a fehérítés hatására. A fogfehérítést követő fluoridok alkalmazása azonban jelentősen ellensúlyozhatja ezeket a változásokat. Mindebből arra következtethetünk, hogy a peroxidok hatására változások mennek végbe a zománcban, melyet fluoridokkal, ha nem is teljes mértékben, de csökkenthetünk. Ezzel szemben *Seghi* és *Denry*³⁸ 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 munkatársai⁴⁰, bár nem szignifikáns mértékben, de szintén a mikrokeménységi mutatók csökkenését figyelték meg kéthetes kezelést követően. Négyhetes kezelés után pedig jelentős morfológiai eltérést találtak pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatokkal. *Titley* és munkatársai³⁹, tömény hidrogén-peroxid (35 %) alkalmazása után 60 perccel, precipitátum képződést észleltek a zománc felületén. *McGuckin* és munkatársai³², különböző koncentrációjú fogfehérítő termékeknek a fogzománc felszíni morfológiájára kifejtett hatását vizsgálták profilometriás eljárással, és arra az eredményre jutottak, hogy a fogfelszín érdesebb és hullámosabb lett a kezelése után. *Goldberg* és munkatársai⁴¹, valamint *Arends* és munkatársai³⁷, a karbamid zománcra gyakorolt hatását vizsgálva arra a következtetésre jutottak, 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. Az 12. ábráról leolvasható, hogy a 10 %-os hidrogén-peroxid elegendő volt ahhoz, hogy az összes szabadon elérhető tiol csoportot oxidálja, azonban a mélyen elhelyezkedő, fedett tiol csoportokkal nem tudott reagálni az alacsony koncentrációjú peroxid oldat. Ezzel szemben a 20 %-os hidrogén-peroxid már a fedett tiol csoportokkal is reakcióba lépett (12. ábra).



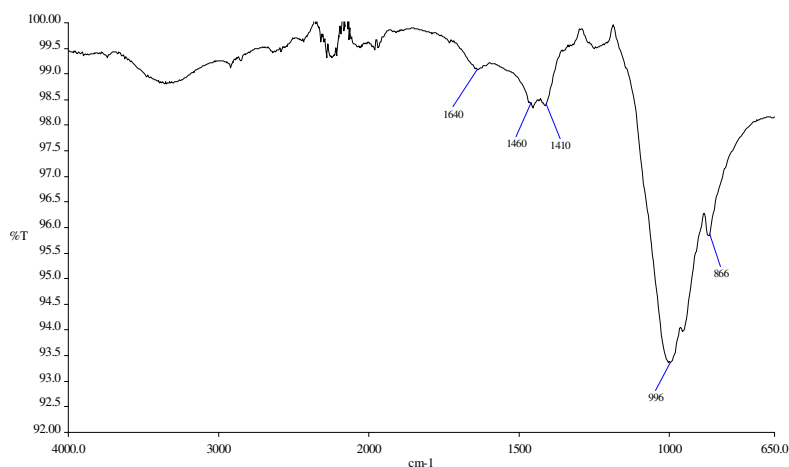
12. ábra. A hidrogén-peroxid koncentráció hatása a zománc tiol csoportok számára mg tömegegységre vonatkoztatva. A szabad tiol csoportok a 10 %-os koncentráció hatására eltűnnek, de a fedett tiol csoportokra csak a magasabb koncentrációban hat a hidrogén-peroxid. A 20 és 30 %-os hidrogén-peroxid hatásában nem látható különbség.

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-peroxid azonnal reakcióba lépett 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 további növelése, 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 marker lehet a zománcban végbemenő oxidatív folyamatokban.

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 $\text{PO}_4\text{ v1}$, a továbbiakban apatit I. főszá. Egy kettős csúcs figyelhető meg 1460 és 1410 cm^{-1} -nél, ami szintén a hidroxipatitos szerkezetre jellemző, biológiai $\text{PO}_4\text{ v2}$, a továbbiakban apatit II. mellékszár. A 996 cm^{-1} -es hangsúlyos az apatit II. mellékszár oldalában, 866 cm^{-1} -nél egy kisebb csúcs figyelhető meg, ami a karbonát-apatitos szerkezet ún. $\text{v}_2\text{ CO}_3$ sár jellegzetessége (13. ábra). Ezek a megfigyelések egybevágó az irodalomban jól ismert adatokkal, melyet *Bohic* és munkatársai⁴², illetve *Eliades* és munkatársai⁴³ publikáltak.



13. ábra. A kezeletlen zománc IR spektruma a karakteres csúcsokkal: biológiai $\text{PO}_4\text{ v1}$ (996 cm^{-1}), biológiai $\text{PO}_4\text{ v2}$ (1460 és 1410 cm^{-1}), karbonátos apatit ($\text{v}_2\text{ CO}_3$).

Az infravörös spektrum megváltozását tapasztaltuk a hidrogén-peroxidos kezelés hatására a vizsgált kezelési idők, és koncentrációk esetében. A szisztematikus vizsgálatok megkezdése előtt megvizsgáltuk, hogy mennyire jellemzőek az apatitos struktúra spektrális tulajdonságai különböző egyénektől származó fogminták tekintetében, illetve a felvételek reprodukálhatóságát illetően, ha egy egyéntől származó fogat több részre osztunk, és azokat külön-külön vizsgáltuk.

Ennek érdekében összesen öt személytől származó fogakat mintának előkészítve 23, egymástól független spektrumfelvételt készítettünk. Eredményeinket a 1. táblázatban foglaltuk össze.

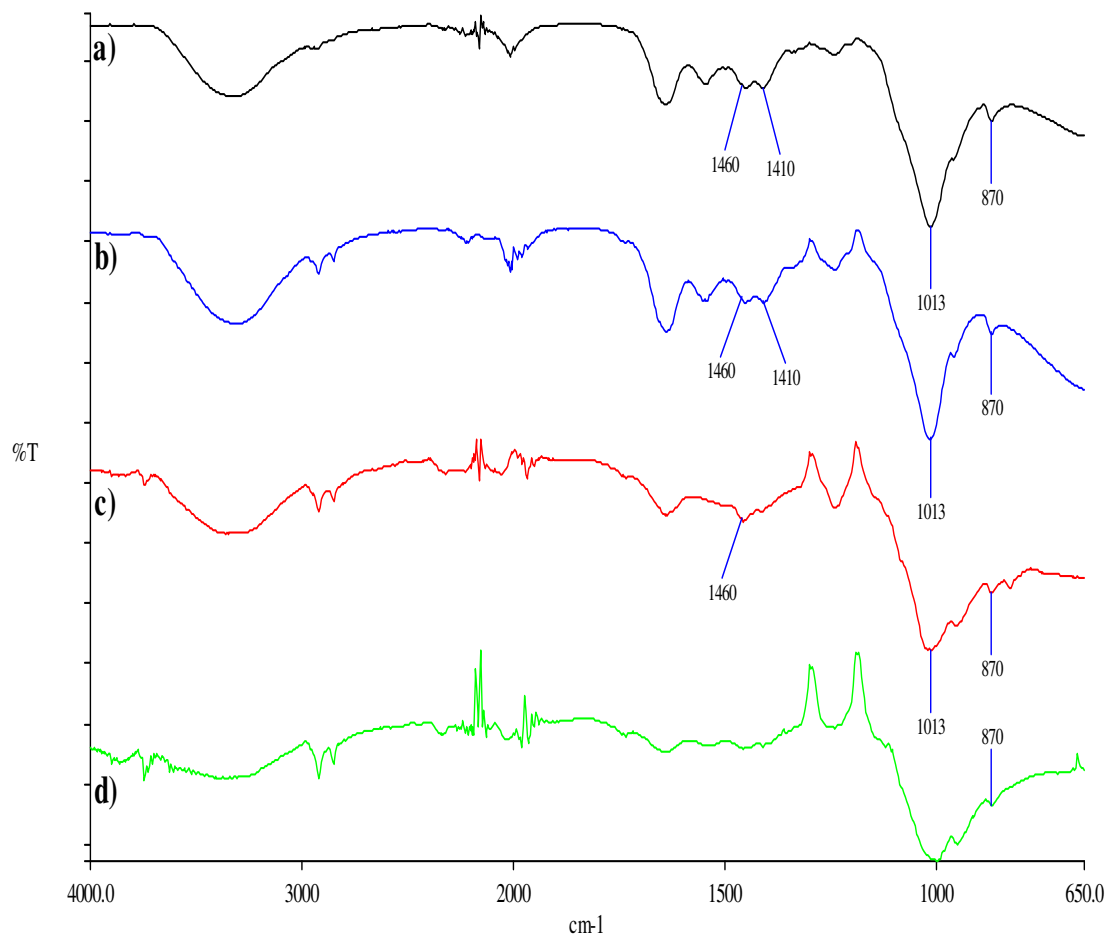
	Apatit I. főszáv (996 cm ⁻¹)	%	Apatit II. mellékszáv (1460 és 1410 cm ⁻¹)	%
Intenzíven észlelhető	18	78	17	74
Jól észlelhető	3	13	4	17
Értékelhetetlen	2	9	2	9
Összesen	23 minta	100	23 minta	100

1. táblázat. A mérések megbízhatósága, a jellegzetes spektrális sávok kiértékelhetősége tekintetében.

A táblázat adatai azt mutatják, hogy az apatitos szerkezetre jellemző spektrumsávok a minták mintegy háromnegyedében intenzíven, és teljesen reprodukálható módon észlelhetők. Az intenzíven és a valamivel gyengébben, de még jól észlelhető sávok százalékának összege a teljes mintában pedig hozzávetőleg 90 %. Ez azt jelenti, hogy egyrészt a sáv szerkezet főbb jellemzőit tekintve független a személytől, másrészt a mérési módszer valószínűleg objektívnek tekinthető. Természetesen, az alacsony mintaszám (n=23) statisztikailag nem teljesen kielégítő, viszont ezen feltételek mellett is megbízhatónak bizonyult a módszer.

Azonban annak érdekében, hogy a hidroxiapatit lehetséges variabilitását kiküszöböljük a mintákat a vizsgálati sorban nem véletlenszerűen, hanem az adott koncentrációnak megfelelően válogattuk szét. Ezáltal az egy adott személytől származó fogakat (n=3) a három koncentrációnak megfelelő oldattal kezeltük.

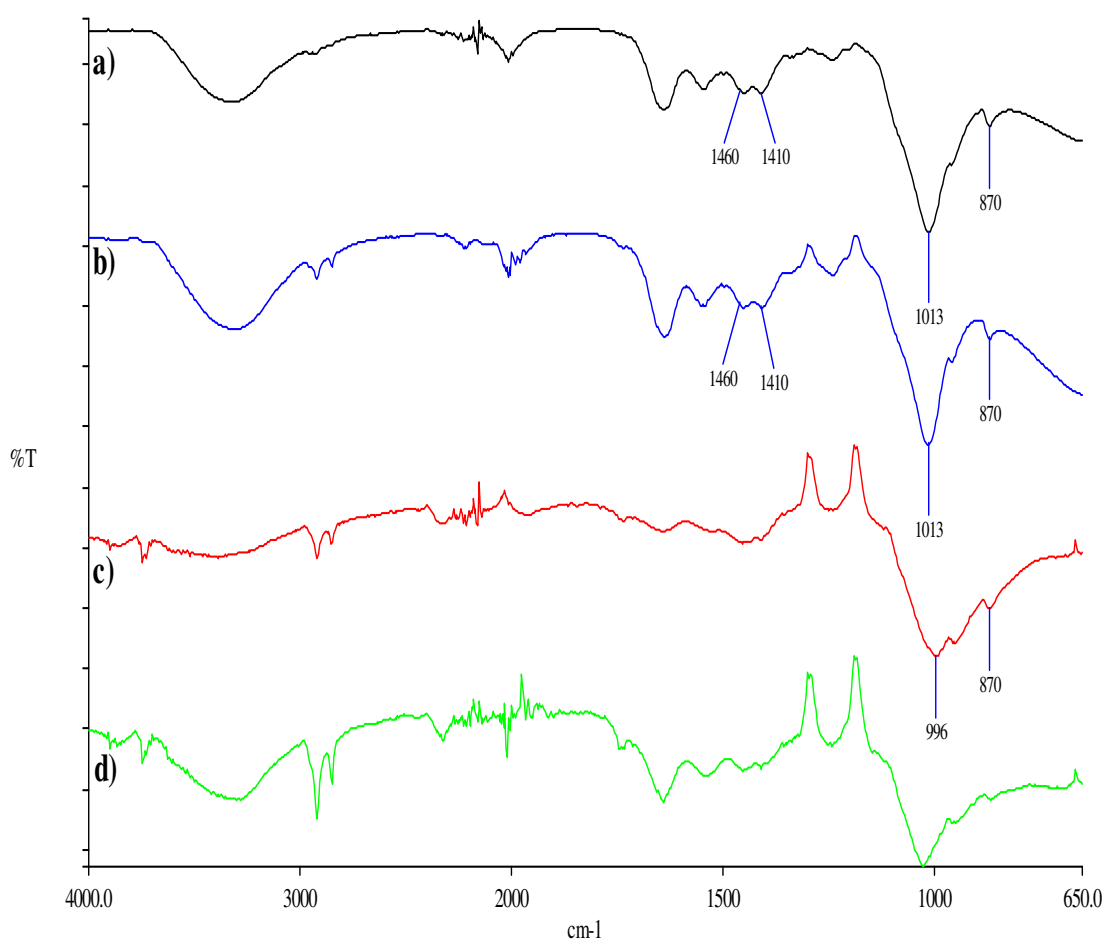
A 14. ábrán a 120 perces kezelések után készült infravörös spektrumokat láthatjuk, mindhárom koncentráció esetében, a negatív kontrollal összehasonlítva. Az apatit I. főszáv, összehasonlítva a negatív spektrummal szélesebbé és torzultabbá vált a kezelések hatására.



14. ábra. Infravörös spektrumok a 120 perces kezelés után a három koncentráció esetében, összehasonlítva a negatív kontrollal. Kontrol (a), 10 % (b), 20 % (c), 30 % (d).

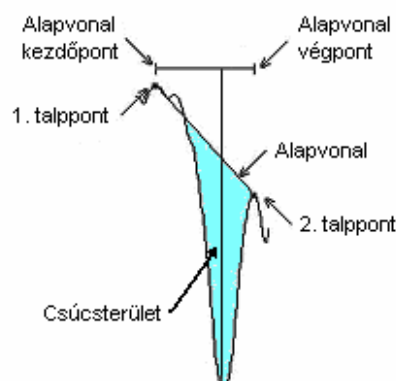
Az apatit I. főszáv változásai egyenesen arányosak voltak az alkalmazott hidrogén-peroxid koncentrációval. Hasonlóan az apatit I. főszáv változásához, az apatit II. mellékszáv is torzultan jelent meg a spektrumon a kezelések után. Az apatit II. mellékszáv a 20 %-os hidrogén-peroxid kezelés hatására már olyan mértékben torzult, hogy a spektrumon a sávnak csak egy kis része figyelhető meg (c spektrum), a 30 %-os koncentráció mellett pedig teljesen feloldódik, és a spektrumból hiányzik az apatit II. mellékszáv karaktere (d spektrum). Ezek a változások a spektrumban mindenképpen a hidroxiapatit állomány részleges degradációjára utalnak, ami meglepő, hiszen az apatit típusú ásványi rendszerek kémiaiailag általában rendkívül ellenállóak.

A kezelési idő hatása, vagy más néven a kezelés kinetikája a 15. ábráról olvasható le. A kinetika a 10 %-os hidrogén-peroxidos kezelések spektrumain demonstrálható a legjobban, mivel a 20 % koncentráció feletti hidrogén-peroxid olyan mértékű destrukciót okoz az apatit struktúrában, ami megakadályozza a kinetika pontos követését az apatit II. melléksávban. Az apatit I. főcsúcs a kezelési idő növelésével folyamatosan torzul és kiszélesedik. Az apatit II. mellécsáv 30 perces kezelés után még jól megfigyelhető (*b* spektrum), de 60 perc után már csak egy csúcs látható a spektrumon (*c* spektrum), és 120 perc után már teljesen feloldódik (*d* spektrum).



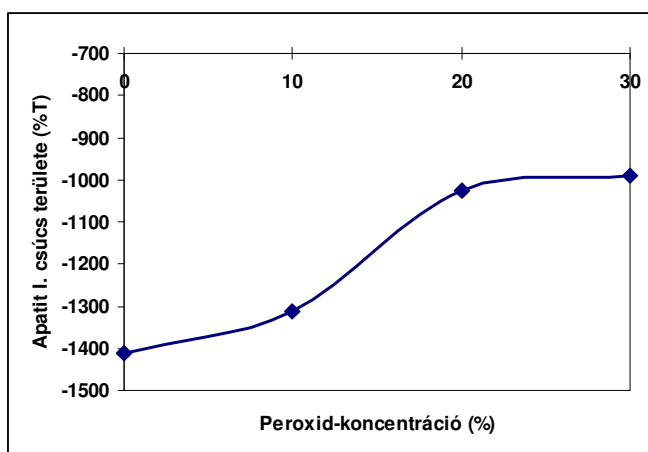
15. ábra. Infravörös spektrumok a 10 %-os hidrogén-peroxiddal végzett kezeléseket után 30, 60 illetve 120 perccel, összehasonlítva a negatív kontrollal. Kontrol (a), 30 perc (b), 60 perc (c), 120 perc (d).

A hidrogén-peroxid hatásának kvantitatív értékelése az apatit I. fősáv spektrális integráljának kiszámításával lehetséges (16. ábra). A talppontok pontos kijelölése révén összehasonlítható eredményeket kaphatunk.



16. ábra. A spektrális integrál, vagy csúcsterület meghatározása.

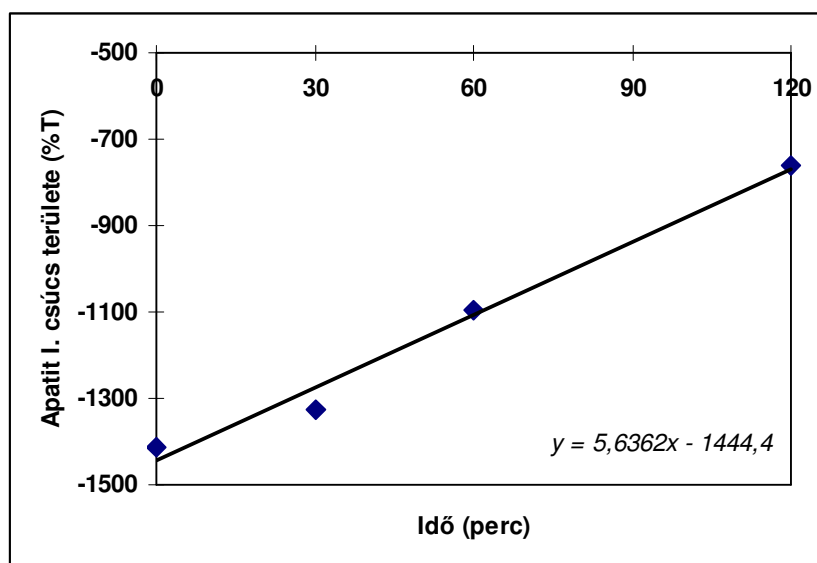
Egy platóval rendelkező görbét kapunk, ha az apatit I. fősáv spektrális integráljait a különböző koncentrációk függvényében ábrázoljuk (17. ábra). Erről a grafikonról leolvasható, hogy az apatit I. fősáv torzulása és az ezzel járó apatitos degradáció 10 %-os peroxid koncentrációig nem emelkedik számottevően. 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.



17. ábra. Az apatit I. fősáv spektrális integráljának változása a koncentráció függvényében.

A fentiek gyakorlati vonatkozása az lehet, hogy az apatit szerkezet degradációja 10 %-os hidrogén-peroxid koncentrációnál nem számottevő, hiszen az apatit I. főszáv kiszélesedése a kezeletlen fognál mérthez képest elenyésző, ezért a kezelést ennél a koncentrációnál lenne célszerű végezni. A jelentősebb csúcskiszélesedés 20 és 30 %-nál mutatkozik. A 10 %-os peroxid kezelés hatása ugyanakkor még nem eredményezi az apatit II. mellékszáv torzulását (a sáv ép marad). Ezt támasztják alá azok a vizsgálatok ^{44,45}, melyekben a 10-15 %-os és a 10-16 %-os karbamid-peroxid koncentráció (a koncentráció termékenként változik) mellett azonos hatást tapasztaltak a klinikai paraméterek tekintetében.

Ha viszont a kezelési idők függvényében ábrázoljuk az apatit I. főszáv spektrális integráljait, akkor egy egyenest illeszthetünk a kapott értékekre és a 18. ábrán látható grafikont kapjuk. Azt mondhatjuk, hogy a változás az idő függvényében megközelítően lineáris.



18. ábra. Az apatit I. főszáv spektrális integráljának változása az idő függvényében.

Az időkinetikai vizsgálat eredményei gyakorlati szempontból azt mutatják, hogy a fehéritést nem érdemes 30-60 percnél hosszabb ideig megszakítás nélkül végezni, mert az apatit I. főszáv kiszélesedése ezt követően szignifikáns, és az apatit II. mellékszáv eltűnése is a hatvanadik perc után felvett spektrumon észlelhető.

Az apatit I. főszáv kiszélesedése, és az apatit II. mellékszáv eltűnése egyaránt az apatitos szerkezet degradációját jelzi. Ahogyan azt már említettük, ez rendkívül szokatlan, hiszen az apatit, mint ásványi anyag kémiaiilag rendkívül ellenálló. Tovább nehezíti a körülményeket,

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. Az irodalomból széles körben ismert, hogy a legtöbb ásványi anyag, de még a közönséges laboratóriumi üveg is katalizálja a hidrogén-peroxid bomlását (közismerten ezért forgalmazzák a 30 %-os hidrogén peroxid oldatot műanyag üvegben). Ez utóbbi tény viszont nem lehet magyarázat a tartós, drasztikus, és kvantitatívan is leírható spektrális változásokra.

A peroxidok pontos helyét az apatit kristályban nem tudjuk meghatározni. 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, mely képes megváltoztatni a hidroxipatit szerkezetét és a PO_4 ligand kicserélődik a diperoxo ligandra és egy új komplex keletkezik. A ligandok más szubsztitúciója ^{46,47} akkor következhet be, amikor az új komplexhez fémionok (például vas) kapcsolódnak, vagy amikor a CO_3 csoportok $\bullet\text{OH}$ csoportokra cserélődnek, melyek a hidrogén-peroxidból származnak. Az infravörös spektrum 3000 és 3700 cm^{-1} területén, az OH sáv található, amely nagy változékonyságot mutat. Feltételezhető, hogy a zománc és a hidroxipatit 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, egyrésről 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. Ezt támasztják alá azok a vizsgálatok ^{26,48} is, amelyek a fogfehérítő kezelések után fluoridot vagy hidroxipatit kristályt tartalmazó készítményeket alkalmaznak. Ezeknek az anyagoknak a hatására végbemehetnek olyan ligand cserék, melyekkel ismételt az eredeti kristály struktúra alakul ki. 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 megmaradhat. Jelen tanulmányunkban a spontán reverzibilitást vizsgáltuk két hét leforgása alatt. Erre az időre a mintákat fiziológiás sóoldatban tároltuk, mivel a fluoridos tárolás nem lett volna fiziológiás. A műnyál használatát pedig azért nem választottuk, mert korábbi laboratóriumi tapasztalatunk szerint az eltávolítása csak erőteljes kémiai beavatkozásokkal lehetséges. Ezek jelenléte a minták felszínén viszont zavarta volna a spektrumok

összehasonlítását. Kéthetes várakozás után a spektrumokon sem az apatit I. főcsáv, sem pedig az apatit II. mellécsáv nem mutatott spontán reverzióra utaló változásokat összehasonlítva a 120 perces kezelésekkel.

Az infravörös spektrumban bekövetkező változások a hidroxipatit degradációját jelentik, bár ennek kémiája pontosan nem ismert, ezek a változások hatással lehetnek a zománc mechanikai tulajdonságaira is. *Cavalli* és munkatársai⁴⁹ a zománc húzószilárdságának csökkenését írták le karbamid-peroxidos kezelések hatására (6 óra /nap; 14 nap). Az általunk leírt spektrális változások állhatnak a *McCracken* és *Haywood*²¹, valamint *Rotstein*²⁰ és munkatársai által leírt Ca^{2+} kioldódás mögött is. *Oltu* és *Gürkan*⁵⁰ infravörös abszorpciós spektroszkópiával és röntgen diffrakciós vizsgálatokkal a koncentrált karbamid-peroxid struktúrát károsító hatását írta le. Az alacsonyabb koncentrációk (10-16 %) viszont nem okoztak jelentős eltérést a zománc struktúrákban, mellyel *Lewinstein* és munkatársai⁵¹ is hasonló eredményeket kaptak. Ezek az eredmények hasonlóak az általunk kapott FT-IR vizsgálatok eredményeihez. Mindezek alapján a karbamid-peroxid alacsony és magas koncentrációban is demineralizációt okoz, azonban fluoridok alkalmazásával remineralizációt lehet elérni. *Efeoglu* és munkatársai⁵², μCT vizsgálatokkal már 10 %-os karbamid-peroxid kezelések alkalmával is demineralizációt írt le a zománcban, melynek mélysége elérte az 50 μm -t. Azonban magasabb koncentrációban (35 %) a karbamid-peroxid demineralizációja ennek többszörösét is elérheti⁵³.

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 irreverzibilisek változások figyelhetők meg.
6. Az alacsony hidrogén-peroxid koncentráció és a rövidebb kezelési idők alkalmazása kedvezőbb a humán fogzománcban lezajló degradációs folyamatok szempontjából.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az elmúlt évtizedben jelentősen megnőtt a peroxid alapú fogfehérítők használata klinikai gyakorlatban. Ezeknek a peroxidoknak azonban számos mellékhatása lehetséges.

Célunk a humán fogzománc felületén valamint belső struktúráiban hidrogén- és karbamid-peroxid hatására végbemenő változások kimutatása volt. Vizsgálatainkban háromféle módszer segítségével értékeltük a bekövetkező változásokat. A felületi morfológia változásainak leírásához atomerő mikroszkópot (AFM), a zománc organikus állományában a tiol csoportokat érintő oxidatív változásokat Ellman reakció segítségével próbáltuk kimutatni, míg az anorganikus apatit szerkezet vizsgálatához Fourier transzformációs infravörös spektroszkópiát (FT-IR) alkalmaztunk.

Az in vitro vizsgálataink eredményei szerint a hidrogén peroxid alacsony (5-10 %) koncentráció mellett is változásokat hoznak létre a zománc szerkezetében és felületi morfológiájában. A felületi morfológia területén, a zománcon természetes körülmények között is megtalálható barázdák kiszélesedése és mélyülése látható a karbamid-peroxidos kezelések után az AFM felvételeken. A változások arányosak voltak az alkalmazott peroxid koncentrációval. A zománc organikus állományában kétféle tiol csoportot tudtunk megkülönböztetni. A szabad tiol csoportok már a 10 %-os hidrogén peroxid hatására oxidálódtak, ezzel szemben a magasabb koncentráció az ún. fedett tiol csoportok oxidációját is kiváltotta. Az FT-IR spektroszkópiás méréseink szerint a zománcban az apatit struktúra területén degradáció következik be, amely a hidrogén-peroxid koncentrációval és a kezelési idővel is arányos volt. Vizsgálataink nem mutattak spontán reverzióra utaló eredményeket.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a hidrogén- és karbamid-peroxid a zománc felületét és mély struktúráját is megváltoztatja. Mivel ezek a változások a koncentrációval arányosak voltak, az alacsonyabb koncentráció alkalmazása és megfelelően megválasztott kezelési idő fontos részét képezi ezeknek az anyagoknak az alkalmazása területén.

Tárgyszavak: atomerő mikroszkópia, FT-IR spektroszkópia, hidrogén-peroxid, fogzománc

SUMMARY

Examination of the effects of peroxides on human enamel

Tamás Bistey, University of Debrecen, Medical and Health Science Center, Faculty of Dentistry, Dept. of Prosthetic Dentistry

Supervisor: Csaba Hegedűs, Attila Jenei

PhD school: Clinical Medical Sciences, Dental Sciences program

In the past decade the importance of peroxide base tooth bleaching materials has been increased in clinical practice. On the other hand these materials can produce several side effects.

The aim of the study was to examine the effect of hydrogen and carbamide peroxide on human enamel surface and inner structure. Three different methods were used to demonstrate the changes in enamel. Surface morphology alterations were studied by atomic force microscopy (AFM). The changes in the organic phase of enamel were demonstrated with the determination of the numbers of thiols using Ellman reagent. Inorganic phase of enamel was studied by Fourier transformed infrared spectroscopy (FT-IR).

The results of our in vitro examinations showed that hydrogen peroxide even in low (5-10 %) concentration can alter the surface morphology and inner structure of enamel. In AFM images showed groves on natural surface on enamel which became wider and deeper after carbamide peroxide treatment. Two types of thiol groups were differentiated in the organic phase of enamel. The free thiols that were oxidized by the 10 % hydrogen peroxide, but the so called buried ones, which were oxidized by the more concentrated solutions only. According to the results of the FT-IR spectroscopic measurements the apatite structure degraded in enamel. This degradation was directly proportional to the peroxide concentration and the treatment time. Spontaneous reversion of the enamel structure was not observed.

It can be concluded that hydrogen and carbamide peroxide are capable of changing the surface morphology and inner structure of enamel. Since alterations were directly proportional to peroxide concentration the use of properly selected material and treatment time are important parts of the application of these materials.

Keywords: *atomic force microscopy, FT-IR spectroscopy, hydrogen peroxide, tooth enamel*

IRODALOMJEGYZÉK

Az értekezésben hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Harlan AW. Hydrogen dioxide (in the treatment of alveolar abscess, pyorrhea and the bleaching of teeth. *Dent Cosmos* 1882: 515–23.
2. Janoff LE: Origin and development of hydrogen peroxide disinfection systems. *CLAO Journal*, 1990; 6: 1.
3. Nutting EB, Poe GS. Chemical bleaching of discolored endodontically treated teeth. *Dent Clin North Am.* 1967 Nov: 655-62.
4. Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching. *Quint Int* 1989; 20: 173-176.
5. Joiner A. The bleaching of teeth: A review of the literature. *J Dent* 2006; 34: 412-419.
6. Nathoo SA. The chemistry and mechanism of extrinsic and intrinsic discoloration. *J Am Dent Assoc* 1997; 128: 6S-10S.
7. Anderson DG, Daniel J. Chiego DJ Jr., Glickman GB, McCauley LK. A clinical assessment of the effects of 10 % carbamide peroxide gel on human pulp tissue. *J Endodont* 1999; 25: 247-250.
8. Gökay O, Müjdeci A, Algin E. Peroxide penetration into the pulp from whitening strips. *J Endodont* 2004; 30: 887-889.
9. Seal NS, Wilson CFG. Pulpal response to bleaching of teeth in dogs. *Pediatr Dent* 1985; 7: 209-214.
10. McCaslin AJ, Haywood VB, Potter BJ, Dickinson GL, Russell CM. Assessing dentin color changes from nightguard vital bleaching. *J Am Dent Assoc* 1999; 130: 1485-90.
11. Farrell S, Barker ML, McMillan DA, Gerlach RW. Placebo-controlled trial evaluating safety with 12-months continuous use of 6 % hydrogen peroxide whitening strips. *J Dent* 2008; 36: 726-730.
12. Al-Salehi SK, Hatton PV, McLeod CW, Cox AG. The effect of hydrogen peroxide concentration on metal ion release from dental amalgam. *J Dent* 2007; 35: 172-176.
13. Rotstein I, Dogan H, Avron Y, Shemesh H, Steinberg D. Mercury release from dental amalgam after treatment with 10 % carbamide peroxide in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2000; 89: 216-9.

14. Swift EJ Jr. Restorative considerations with vital tooth bleaching. *J Am Dent Assoc* 1997; 128: 60S-64S.
15. Al-Salehi SK, Hatton PV, Johnson A, Cox AG, McLeod C. The effect of hydrogen peroxide concentration on metal ion release from dental casting alloys. *J Oral Rehabil* 2008; 35: 276-82.
16. Polydorou O, Monting JS, Hellwig E, Auschill TM. Effect of in-office tooth bleaching on the microhardness of six dental esthetic restorative materials. *Dent Mater* 2007; 23: 153-8.
17. Ernst CP, Marroquin BB, Willershausen-Zönnchen B. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. *Quint Int* 1996; 27: 53-56.
18. Murchison DF, Charlton DG, Moore BK. Carbamide peroxide bleaching: Effects on enamel surface hardness and bonding. *Oper Dent* 1992; 17: 181-185.
19. Tong LSM, Pang MKM, Mok NYC, King NM, Wei SHY. The effects of etching, micro-abrasion, and bleaching on surface enamel. *J Dent Res* 1993; 72: 67-71.
20. Rotstein I, Danker E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod* 1996; 22: 23-26.
21. McCracken MS, Haywood VB. Demineralization effects of 10 percent carbamide peroxide. *J Dent* 1996; 24: 395-398.
22. Arwill T, Myrberg N, Söremark R. Penetration of radioactive isotopes through enamel and dentine II. Transfer of ²²Na in fresh and chemically treated dental tissues. *Odont Revy* 1969; 20: 47-54.
23. Carrasco LD, Guerisoli DMZ, Pécora JD, Fröner IC. Evaluation of dentin permeability after light activated internal dental bleaching. *Dental Traumatol* 2007; 23: 30-34.
24. Attin T, Kielbassa AM, Schwanenberg M, Hellwig E. Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. *J Oral Rehabil* 1997; 24: 282-286.
25. Zantner C, Beheim-Schwarzbach N, Neumann K, Kielbassa AM. Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures. *Dent Mater* 2007; 23: 243-250.
26. Basting RT, Rodrigues AL JR., Campos Serra M. The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. *J Am Dent Assoc* 2003; 134: 1335-1342.

27. Maia E, Baratieri LN, de Andrada CMA, Sylvio Monteiro Jr, Vieira LCC. The influence of two home-applied bleaching agents on enamel microhardness: An in situ study. *J Dent* 2008;36: 2-7.
28. Bitter NC. A scanning electron microscope study of the long-term effect of bleaching agents on the enamel surface in vivo. *Gen Dent* 1998; 46: 84-88.
29. Van der Werf KO, Putman CAJ, De Grooth BG, Segerink FB, Schipper EH, Van Hulst NF, Greve J. Compact stand-alone atomic force microscope. *Rev Sci Instrum* 1993; 64: 2892-2897.
30. Riddles PW, Blakeley RL, Zerner B. Reassessment of Ellman's reagent. *Method Enzymol* 1983; 91: 49-60.
31. Bitter NC. A scanning electron microscopy study of the effect of bleaching agents on enamel: A preliminary report. *J Prosthet Dent* 1992; 67: 852-855.
32. McGuckin RS, Babin JF, Meyer BJ. Alteration in human enamel surface morphology following vital bleaching. *J Prosthet Dent* 1992; 68: 754-760.
33. Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching: how safe is it? *Quint Int* 1991; 23: 515-523.
34. Nathoo SA, Richter R, Smith SF. Kinetics of carbamide peroxide degradation in bleaching trays. *J Dent Res* 1996; 75: 286.
35. Nathoo SA, Gaffar A. Studies on dental stain induced by antibacterial agents and rational approaches for bleaching dental stain. *Adv Dent Res* 1995; 9: 462-470.
36. Schoeder HE. Amelogenesis and dental enamel. Oral structural biology. Stuttgart (New York): Thieme (Georg), 1991 pp 65-66.
37. Arends J, Jongebloed WL, Goldberg M, Schuthof J. Interaction of urea and human enamel. *Caries Res* 1984; 18: 17-24.
38. Seghi RR, Denry I. Effect of external bleaching on the indentation and abrasion characteristics of human enamel in vitro. *J Dent Res* 1992; 71: 1340-1344.
39. Titley KC, Torneck CD, Smith DC. The effects of concentrated hydrogen peroxide solution on the surface morphology of human tooth enamel. *J Endod* 1988; 14: 69-74.
40. Shannon H, Spencer P, Gross K, Tira D. Characterisation of enamel exposed to 10 % carbamide peroxide bleaching agents. *Quint Int* 1993; 24: 39-44.
41. Goldberg M, Arends J, Jongebloed WL, Schuthof J, Septier D. Action of urea solutions on human enamel surfaces. *Caries Res* 1983; 17: 106-112.

42. Bohic S, Heymann D, Pouezat JA, Gauthier O, Daculsi G: Transmission FT-IR microspectroscopy of mineral phases in calcified tissues. *Sciences de la vie/Life Sciences* 1998; 321: 865-876.
43. Eliades G, Palaghias G, Vougiouklakis G: Effect of acidic conditioners on dentin morphology, molecular composition and collagen conformation in situ. *Dent Mater* 1997; 13: 24-33.
44. Kihn PW, Barnes DM, Romberg E, Peterson K. A clinical evaluation of 10 percent vs. 15 percent carbamide peroxide tooth-whitening agents. *J Am Dent Assoc* 2000; 131: 1478-1784.
45. Meireles SS, Heckmann SS, Santos IS, Bona AD, Demarco FF. A double blind randomized clinical trial of at-home tooth bleaching using two carbamide peroxide concentrations: 6-month follow-up. *J Dent* 2007 (in press)
46. Fleet ME, Liu X. Local structure of channel ions in carbonate apatite. *Biomater* 2005; 26: 7548-54.
47. Peroos S, Du Z, de Leeuw NH. A computer modelling study of the uptake, structure and distribution of carbonate defects in hydroxy-apatite. *Biomater* 2006; 27: 2150-61.
48. Tao J, Xiao M, Zhejun WHT, Hub J, Wang Y. Beneficial effects of hydroxyapatite on enamel subjected to 30 % hydrogen peroxide. *J Dent* 2008 (in press).
49. Cavalli V, Giannini M, Carvalho RM. Effect of carbamideperoxide bleaching agents on tensile strength of human enamel. *Dent Mater* 2004; 20: 733-9.
50. Oltu Ü., Gürkan S. Effects of three concentration of carbamide peroxide on the structure of enamel. *J Oral Rehabil* 2000; 27: 332-40.
51. Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent* 2004; 92: 337-42.
52. Efeoglu N, Wood DJ, Efeoglu C. Microcomputerised tomography evaluation of 10 % carbamide peroxide applied to enamel. *J Dent* 2005; 33: 561-7.
53. Efeoglu N, Wood DJ, Efeoglu C. Thirty-five percent carbamide peroxide application causes in vitro demineralization of enamel. *Dent Mater* 2007; 23: 900-904.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények jegyzéke

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 fogzománcra gyakorolt hatásának in vitro vizsgálata. *Fogorvosi szemle*. 2005; 98: 145-150.

SZAKMAI ÖNÉLETRAJZ

Név: Bistey Tamás dr.

Születési hely és idő: Debrecen, 1973. szeptember 19.

Állampolgárság: magyar

Családi állapot: házas, feleségem: Dr. Daragó Andrea
Gyermekek: Beáta (2000)
Noémi (2003)

Állandó lakhely: 4032 Debrecen, Németh László u. 39.
Tel.(52) 458-401
(20) 9843-793
E-mail: bistey@dote.hu

Végzettség:

1993-1998 Debreceni Orvostudományi Egyetem Fogorvostudományi Szak.
(Summa cum laude)
2000 Fog- és Szájbetegségek Szakvizsga
2007 Konzerváló fogászat és Fogpótlástan

Egyetemi aktivitások:

1994-1996 tagság, Oktatási Bizottság (DOTE, ÁOK)
1996/97 demonstrátor, III. éves fogorvostan hallgatók gyakorlati
oktatásában, DOTE Stomatológiai Klinika

Munkahelyek:

1998- 2003 klinikai orvos a DOTE, Stomatológiai Klinika
2003- egyetemi tanársegéd, Debreceni Egyetem OEC, Fogorvostudományi
Kar, Fogpótlástani Tanszék

Oktatási tevékenység:

1998- a II-V. éves fogorvostan hallgatók elméleti és gyakorlati oktatása
magyar és angol nyelven.
Oktatott tárgyak:
Fogászati anyagtan
Bevezetés a rögzített fogpótlások technológiájába
Rögzített fogpótlások propedeutikája és technológiája
Fogpótlástan I-IV.

Tudományos érdeklődés:

Fémkerámia pótlások korszerű javításának lehetőségei a fogpótlásban;
Polimerizációs módszerek a fogászatban;
Fogfehérítőknek a fogakra kifejtett hatása;
Humán fogzománc szerkezete;

Betegellátás:

1998- komplex fogászati betegellátás
2003- önálló fogászati szakellátás

Debrecen, 2008. október 9.

Dr. Bistey Tamás

FÜGGELÉK

Az értekezésben felhasznált közlemények különlenyomatai