

Özgün araştırma makalesi

Kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) ve floridin ağartma ajanı uygulanmış mine mikrosertliği üzerine etkisi: *ex vivo*

Mügem Aslı Gürel Ekici,¹ Fehime Alkan,²
Hacer Deniz Arısu,² Bağdagül Helvacıoğlu Kıvanç¹

¹Endodonti Anabilim Dalı, ²Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı, Diş Hekimliği Fakültesi, Gazi Üniversitesi, Ankara, Türkiye

ÖZET

AMAÇ: Bu çalışmanın amacı, kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) ve %1.23 asitlenmiş fosfat florid (APF; pH 3.5) uygulamasının ağartma ajanı uygulanmış mine mikrosertliği üzerine etkisinin değerlendirilmesi ve karşılaştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Sekiz alt daimi molar dişten toplam 32 adet mine kesiti (2x4 mm) elde edildi. Örnekler, mine yüzeyleri açıkta kalacak şekilde akrilik rezin bloklara gömüldü. Örneklerin başlangıç Vickers mikrosertlik (VHN) değerleri kaydedildi. Örnekler rastgele 4 deney grubuna ayrıldı. Grup 1'de herhangi bir uygulama yapılmadı (kontrol). Grup 2'de %35 hidrojen peroksit (HP), Grup 3'te %35 HP+CPP-ACP, Grup 4'te %35 HP+APF uygulandı. Uygulama sonrasında VHN değerleri ölçüldü ve kaydedildi. Örnekler 1 hafta yapay tükürük içerisinde 37 °C'de inkübatörde bekletildi. Bir hafta sonunda ikinci uygulamalar yapıldı ve örneklerin VHN değerleri tekrar ölçüldü ve kaydedildi. Elde edilen veri ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testiyle değerlendirildi. Başlangıç, birinci ve ikinci uygulamalar arasındaki farklar bağımlı değişkenler t-testi kullanılarak karşılaştırıldı ($\alpha=0.05$).

BULGULAR: Gruplar arası karşılaştırmalarda, başlangıç, diğer uygulamalar sonrası elde edilen mine mikrosertlik değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Grup-İçi karşılaştırmalarda, yine, başlangıç ve diğer uygulamalar sonrasındaki mine mikrosertlik değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

SONUÇ: Bu çalışma koşullarında, %35 HP uygulaması sonrasında veya %35 HP uygulaması ardından CPP-ACP ve APF uygulaması sonrasında mine yüzey sertliğinin belirgin olarak etkilenmediği söylenebilir.

ANAHTAR KELİMELER: Diş minesini; hidrojen peroksit; kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfat nanocomplex; sağlamlık testleri

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN: Gürel Ekici MA, Alkan F, Deniz Arısu H, Helvacıoğlu Kıvanç B. Kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) ve floridin ağartma ajanı uygulanmış mine mikrosertliği üzerine etkisi: *ex vivo*. Acta Odontol Turc 2017;34(2):61-6

EDİTÖR: Güven Kayaoğlu, Gazi Üniversitesi, Ankara, Türkiye

YAYIN HAKKI: © 2017 Gürel Ekici ve ark. Bu eserin yayını hakkı [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) ile ruhsatlandırılmıştır. Sınırsız kullanım, dağıtım ve her türlü ortamda çoğaltım, yazarlar ve kaynağın belirtilmesi kaydıyla serbesttir.

[Abstract in English is at the end of the manuscript]

GİRİŞ

Dişte meydana gelen renklenmeler büyük oranda estetik problemlere sebep olmaktadır.¹ Dişlerde meydana gelen renklenmeler ekstrinsik ve intrinsik nedenlere bağlı oluşabilir.² Renklenme oluşan dişlerin tedavisi için yüzey renklenmelerine sebep olan eklentilerin politür işlemleri ile uzaklaştırılması, beyazlatma yöntemleri veya alttaki renklenmiş diş dokusunun veneer ya da kron ile maskelenmesi gibi operatif işlemlere kadar pek çok farklı yöntem bulunmaktadır.¹

Günümüzde hastaların estetik beklentilerinin gideerek artması renklenme meydana gelen dişlerin tedavisinde vital diş beyazlatma yöntemlerinin sıklıkla kullanılan bir konservatif tedavi seçeneği haline gelmesine neden olmuştur.³ Literatürde diş sert dokularında, beyazlatma tedavilerinin ağartma ajanlarının uygulanmasının ardından, diş yüzeyinde klinik olarak fark edilebilir makroskopik hasar oluşumu bildirilmemiş olmasına karşın,⁴ beyazlatma ajanlarının uygulanmasının ardından minenin kalsiyum, fosfat içeriğinde ve mikrosertliğinde azalmaya neden olduğunu bildiren yayınlar da mevcuttur.⁵ Mikrosertlik değerinde meydana gelen bu azalmanın, daha sonra meydana gelen bir remineralizasyon periyodu ile eski haline geldiği de yapılan çalışmalar sonucunda bildirilmiştir.⁶ Mikro yapısal düzeyde meydana gelen bu hasarların kalsiyum ve fosfat gibi

Makale gönderiliş tarihi: 25 Eylül 2016; Yayına kabul tarihi: 12 Kasım 2016
*İletişim: Dr. Mügem Aslı Gürel Ekici, Endodonti AD, Diş Hekimliği Fakültesi, Gazi Üniversitesi, Emek, Ankara, Türkiye;
E-posta: muuagem@hotmail.com

tükürük bileşenlerinin absorpsiyonu ve çökmesi ile tamir olduğu söylenebilir.⁵

Diş yüzeyinde meydana gelen demineralizasyonu önlemek ve remineralizasyonu sağlamak amacı ile farklı formlardaki florid preparatları sıklıkla kullanılmaktadır. Floridin, florohidroksiapatit oluşturduğu, kalsiyum ve fosfat iyonlarının diş yüzeyine çökmesini hızlandırdığı, çürük önleyici ve remineralizasyon etkisi olduğu bilinmektedir.^{7,8} Kullanılan topikal florid jellerinden biri de %1.23 asitlenmiş fosfat floriddir (APF). APF %1.23 florid iyonu içerir ve pH'si 3-4 arasındadır. Düşük pH'sinin minenin florid alımını artıracağı düşünülmüştür⁹ ve bunun en çok ilk 4 dakikada olduğu gösterilmiştir. Mine-deki florid miktarı yeterli hale geldiğinde, florid minenin kristal yüzeyine tutunmakta ve remineralize olmuş aside dirençli bir florohidroksiapatit yapı oluşturmaktadır.¹⁰ Floridin bilinçsiz ve aşırı kullanımının florozise neden olduğu bilinmektedir.¹¹ Bu nedenle minede remineralizasyonu sağlayan farklı ürünler de geliştirilmiştir.¹² Bu ürünlerden biri kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfatı (CPP-ACP).

CPP-ACP mine demineralizasyonunu önleyen ve mine yüzeyinin remineralizasyonunu başlatan, yumuşamış mine yüzeyinin mikrosertliğinde artışa neden olan bir ajandır.⁶ Kazein fosfopeptit (CPP) amorf kalsiyum ve fosfat (ACP) solüsyonunda nanokompleks yapıda kalsiyum fosfatı sabit bir şekilde tutma yeteneğine sahiptir. Kazein fosfopeptit molekülleri fosfoseril içerir ve fosfoseril amorf kalsiyum fosfatı nötral ve alkali koşullarda stabilize ederek kalsiyum fosfatın çözünürlüğünü artırır.¹³ Böylece dişin mineral dolgunluğunun devamını sağlamaktadır. Bununla beraber CPP-ACP'nin aside maruz kalması, ortamda ACP açığa çıkmasına neden olmakta ve ortama salınan kalsiyum ve fosfat iyonları, asidik ortamı da tamponlayarak pH'yi dengelemektedir. Bu nedenle demineralizasyonu engellemeye yardımcı olmaktadır.¹⁰

Ayrıca CPP-ACP diş yüzeyindeki lokalize olan plak içerisindeki serbest kalsiyum ve fosfatı da bağlayarak diş yüzeyini doygun hale getirmekte ve bununla birlikte dental plaktaki bakteri hücrelerinin yüzeylerine bağlanarak diş üzerine kolonize olmalarını engellemektedir.¹⁴ Bu sayede CPP-ACP, demineralizasyon sürecinde diş minesinin kaybettiği mineralleri tekrar kazanması için depo görevi görmektedir.¹⁵

Diş yüzeyine %35 hidrojen peroksit (HP) uygulanarak ağartma yapıldıktan sonra mine mikrosertliğinde azalma meydana geldiğini öne süren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmanın birinci sıfır hipotezi HP uygulamasının mine mikrosertliğinde herhangi bir değişiklik meydana getirmeyeceğidir. İkinci sıfır hipotez ise HP uygulaması sonrasında yüzeye uygulanacak olan remineralize edici ajanların mine mikrosertliği üzerinde etkisi olmayacağıdır. Bu çalışmanın amacı, HP içeren ağartma ajanı uygulanmış mine yüzeyine CPP-ACP ve APF (pH 3.5) uygulamasının mine mikrosertliği üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi ve karşılaştırılmasıdır.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan materyallerin içerikleri, üretici firma ve lot numaraları

Materyal	İçerik	Üretici firma	Lot numarası
Tooth Mousse	saf su, gliserol, %10 CPP-ACP, D-sorbitol, silikon dioksit, ksilitol, fosforik asit, guar sakızı, çinko oksit, sodyum sakkarin, etil p-hidroksibenzoat, magnezyum oksit, butil p-hidroksibenzoat, propil p-hidroksibenzoat	GC Corp, Tokyo, Japonya	160511S
Topex Florid Jel	sodyum florid, etanol, rosin	Sultan Healthcare, York, PA, ABD	04110804152
Whiteness HP	%35 hidrojen peroksit, kalınlaştırıcı, renk verici, glikol, su	FGM, Joinville, SC, Brezilya	020212

Örneklerin hazırlanması

Çalışmaya başlamadan önce Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı (Protokol no: 36290600-20). Çalışmada kullanılmak amacıyla yeni çekilmiş 8 adet alt daimi 3. molar diş seçildi. Dişlerin çürük, çatlak, kırık ve mine anomalisine sahip olmadığına doğrulanmasının ardından dişler çalışma için kullanılabilecek kadar %5 salin solüsyonunda oda sıcaklığında bekletildi. Hassas kesme cihazı (Mecatome T 201A, Presi, Grenoble, Fransa) kullanılarak dişlerin bukkal ve lingual yüzeylerinden mine kesitleri elde edildi. Her bir mine kesitinde dentin 2 mm dentin kalınlığı kalacak şekilde kesim yapıldı ve orta hatlarından bölünerek toplamda 32 adet 2x4 mm boyunda örnek elde edildi. Örnekler, mine yüzeyleri üstte dentin yüzey altta kalacak şekilde akrilik rezin bloklara (8x5x2 mm) gömüldü ve akrilik rezinin sertleşmesinin ardından düz yüzeyler elde etmek amacı ile örnekler 600 SiC kağıtlar ile aşındırıldı.

Mikrosertlik testi ve ağartma ajanının uygulanması

Örnekler her grupta 8 adet mine kesiti olacak şekilde 4 gruba ayrıldı ve örneklerin ilk mikrosertlik değeri mikrosertlik cihazı ile (HMV Microhardness Tester, Shimadzu, Japonya) 15 sn boyunca 100 gr yük uygulanarak ölçüldü. Her örnekten üç ayrı ölçüm yapıldı. Üç ölçümün ortalama değeri alınarak başlangıç Vickers mikrosertlik değeri olarak kaydedildi. Çalışmada kullanılan materyallerin içerikleri, üretici firma ve lot numaraları Tablo 1'de verilmiştir.

Grup 1'deki örnekler kontrol grubu olarak ayrıldı ve bu gruptaki örneklere herhangi bir uygulama yapılmadı.

Grup 2'deki örneklerin yüzeyine 1 mm kalınlığında ağartma ajanı (Whiteness HP; FGM Produtos Odontológicas Ltda, Joinville, SC, Brezilya) uygulandı ve ağartma ajanı 30 dk boyunca bekletildi.^{16,17}

Grup 3'teki örneklere 30 dk ağartma ajanı (Whiteness HP) uygulandıktan sonra örneklerin yüzeyi yıkandı ve kurutuldu. CPP-ACP (Toothmousse Strawberry, GC Corp, Tokyo, Japonya) 4 dk¹⁸ boyunca örnek yüzeyine uygulandıktan sonra yüzey steril bir gazlı bez ile temizlendi.

Grup 4'teki örneklere ise 30 dk ağartma ajanı (Whiteness HP) uygulandıktan sonra örneklerin yüzeyi yıkandı ve kurutuldu. APF (Topex Florid Jel, Sultan Healthcare, York, PA, ABD) 4 dk¹⁹ boyunca örnek yüzeyine uygulandı. Daha sonra yüzey steril bir gazlı bez ile temizlendi.

Uygulamaların hemen sonrasında tüm örneklerin yüzey sertlikleri mikrosertlik cihazı ile ilk ölçümlere paralel olacak şekilde tekrar ölçüldü. Örnekler ikinci uygulamaya kadar 1 hafta süre ile yapay tükürük içerisinde (pH 6.7) 37 °C inkübatörde bekletildi.¹⁷ Hazırlanan yapay tükürüğün 1 mL'si, 2.5 mmol KH₂PO₄, 2.4 mmol Na₂HPO₄, 15 mmol KHCO₃, 10 mmol NaCl, 1.5 mmol MgCl₂, 1.5 mmol CaCl₂ ve 0.15 mmol sitrik asit içermektedir.²⁰

Bir hafta sonunda deney gruplarına yapılan ikinci uygulama ilk uygulamalar ile aynı şekilde tekrarlandı ve tüm örneklerin yüzey sertlikleri ikinci uygulamalar sonrası tekrar mikrosertlik cihazı ile ölçüldü. Birinci ve ikinci uygulamalar sonrası yapılan mikrosertlik ölçümlerinde örneklerden üç ayrı ölçüm yapıldı ve bu üç ölçümün ortalamaları alınarak 1. ve 2. uygulamalar sonrası Vickers mikrosertlik değeri olarak kaydedildi. Vickers sertlik ölçümlerinin tamamı, gruplar hakkında herhangi bir bilgisi olmayan tek bir araştırmacı tarafından yapıldı (F.A.).

Uygulamalar arasındaki sertlik değişim yüzdeleri hesaplanırken $\%VHN=100 \times (VHN2-VHN1)/VHN1$ formülü kullanıldı.

İstatistiksel analiz

Bu çalışmaya başlanmadan önce yapılan kuvvet analizinde, tip 1 hata 0.05 (%95 güven düzeyi), testin gücü %80 ve testin etki büyüklüğü %30 olarak alındığında, örneklem genişliği her grupta minimum 8 diş olacak şekilde hesaplandı. Elde edilen mikrosertlik değerleri ve uygulamalar arasındaki sertlik değişim yüzdeleri homojenite testi yapıldıktan sonra tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Başlangıç, birinci uygulama ve ikinci uygulama mikrosertlik değerleri arasındaki farklar bağımlı değişkenler t-testi kullanılarak karşılaştırıldı ($\alpha=0.05$). İstatistiksel analizler SPSS 15.0 yazılımı kullanılarak yapıldı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD).

Tablo 2. Çalışma gruplarının başlangıçtaki ve uygulamalar sonrası mikrosertlik ortalama değerleri (VHN) ve standart sapmaları

Gruplar	Başlangıç	1. Uygulama	2. Uygulama
Grup 1 (Kontrol)	380.89 ± 21.28	374.76 ± 56.26	379.88 ± 21.52
Grup 2 (%35 HP)	376.50 ± 47.20	371.93 ± 68.80	367.10 ± 38.16
Grup 3 (%35 HP+CPP-ACP)	378.57 ± 17.08	381.04 ± 46.20	394.20 ± 85.26
Grup 4 (%35 HP+APF)	373.35 ± 56.02	383.36 ± 59.28	385.78 ± 57.30

Grup-ici (yatay) ve gruplar-arası (dikey) karşılaştırmaların hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0.05$).

BULGULAR

Grupların mikrosertlik ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 2'de verilmiştir. Gruplar-arası değerlendirilmede, numunelerin başlangıç mikrosertlik değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0.886$). Birinci uygulama sonrasında elde edilen veriler karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülürken ($p=0.848$), en yüksek mikrosertlik değerinin ağartma ajanı uygulaması sonrasında APF uygulanan Grup 4'te (383.36 VHN), en düşük mikrosertlik değerinin ise yalnızca ağartma ajanı uygulanan Grup 2'de (371.93 VHN) elde edildiği gözlemlendi. İkinci uygulama sonrasında elde edilen veriler karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülürken ($p=0.284$), en yüksek mikrosertlik değerinin ağartma ajanı uygulaması sonrasında CPP-ACP uygulanan Grup 3'te (394.20 VHN), en düşük sertlik değerinin ise yalnızca ağartma ajanının kullanıldığı Grup 2'de (367.10 VHN) elde edildiği gözlemlendi.

Grupların mikrosertlik değişim yüzdeleri ve standart sapma değerleri Tablo 3'te verilmiştir. Başlangıç ve birinci uygulama arasındaki sertlik değişim yüzdeleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı görülürken ($p=0.844$), en yüksek mikrosertlik değişim yüzdesinin ağartma ajanı uygulaması sonrasında APF uygulanan Grup 4'te (%3.54), en düşük mikrosertlik değişim yüzdesinin yalnızca ağartma ajanı uygulanan Grup 2'de (%0.54) olduğu gözlemlendi. Başlangıç ve ikinci uygulama arasındaki sertlik değişim yüzdeleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı görülürken ($p=0.517$), en yüksek mikrosertlik değişim yüzdesinin ağartma ajanı uygulaması sonrasında CPP-ACP uygulanan Grup 3'te (%4.29), en düşük mikrosertlik değişim yüzdesinin herhangi bir uygulama yapılmayan Grup 1'de (%0.18) olduğu görüldü. Birinci ve ikinci uygulamalar arasındaki sertlik değişim yüzdeleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı görülürken ($p=0.884$), en yüksek mikrosertlik değişim yüzdesinin ağartma ajanı uygulaması sonrasında CPP-ACP uygulanan Grup 3'te (%3.68), en düşük mikrosertlik değişim yüzdesinin yalnızca ağartma ajanı uygulanan Grup 2'de (%0.46) olduğu görüldü.

Tablo 3. Çalışma gruplarının uygulamalar sonrası mikrosertlik değerlerindeki yüzdelik değişim ve standart sapmaları

Gruplar	Başlangıç - 1. Uygulamaya	1. Uygulama - 2. Uygulama	Başlangıç - 2. Uygulama
Grup 1 (Kontrol)	1.47 ± 8.93	1.80 ± 7.40	0.18 ± 4.33
Grup 2 (%35 HP)	0.54 ± 14.09	0.46 ± 11.75	2.05 ± 9.24
Grup 3 (%35 HP+CPP-ACP)	0.75 ± 7.43	3.68 ± 11.48	4.29 ± 12.84
Grup 4 (%35 HP+APF)	3.54 ± 14.98	1.12 ± 10.54	3.83 ± 11.20

Grup-İçi (yatay) ve gruplar-arası (dikey) karşılaştırmaların hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0.05$).

Bağımlı değişkenler t-testi sonuçlarına göre, grup-İçi karşılaştırmalarda başlangıç, 1. uygulama ve 2. uygulama sonrası elde edilen mikrosertlik değerleri ve mikrosertlik değişim yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$).

TARTIŞMA

Ağırtma tedavilerinden sonra meydana gelen demineralizasyon ile mine mikrosertliğinde değişiklikler meydana gelebilmektedir.²¹ Diş sert dokularında ağırtma ajanlarının etkisini değerlendirmek için yüzey sertlik ölçümü sıklıkla kullanılmaktadır.²² Mikrosertlik testleri hassastır ve kısa demineralizasyon periyodu sırasında oluşan küçük değişiklikleri ortaya çıkarma yeteneğine sahiptir. Böylece, minenin yüzey mikrosertliğindeki azalmanın hafif demineralizasyon durumlarındaki mineral kaybı ile direkt olarak ilişkili olduğu görülmektedir.²³ Bu çalışmada ağırtma ajanı uygulamasının ve sonrasında CPP-ACP veya APF uygulamasının mine mikrosertliğinde meydana getirdiği değişikliklerin Vickers mikrosertlik testi kullanılarak değerlendirilmesi amaçlandı.

Ofis tipi ağırtmada genellikle diş yüzeyine %35 HP uygulanmaktadır.²⁴ Ağırtma tedavisinin yan etkileri, uygulanan peroksitlerin birleşimine, pH'sine ve konsantrasyonuna bağlıdır. Bu çalışmada %35 HP içeren ağırtma ajanı 30 dk mine yüzeyine uygulandı¹⁷ ve örneklerin 1 hafta süreyle yapay tükürükte bekletilmesinin ardından tekrar 30 dakikalık uygulama yapıldı.^{16,17} Ağırtma ajanı olarak yüksek konsantrasyonda (%35) HP kullanılmış olmasına karşın mine sertliğinde anlamlı bir fark bulunmadı. Buna göre %35 HP uygulamasının mine mikrosertliğinde herhangi bir değişiklik meydana getirmeyeceği hipotezi kabul edilmiştir. Bu çalışmaya benzer şekilde ağırtma ajanı uygulamaları sonrasında mine mikrosertliği incelendiğinde anlamlı fark bulunmayan çalışmalar mevcuttur.⁴ Yapılan bir meta-analizde beyazlatma sonrası mine mikrosertliğinin değerlendirildiği 166 ağırtma tedavisinin 82'sinde (%49) mine mikrosertliğinde herhangi bir azalma görülmediği bildirilmektedir.²⁵

Ağırtma seansları arasındaki saklama ortamı, mine remineralizasyonuna neden olabilir. Tükürüğün remineralizasyon potansiyelinin kalsiyum ve fosfat ile doyunlaştırılmış içerikleri ile ilişkili olduğu açıktır.²¹ Birçok

çalışmada *in vivo* olarak tükürüğün ve *in vitro* olarak yapay tükürüğün yumuşamış mine yüzeylerinin mikrosertliğini tekrar arttırdığı rapor edilmiştir.^{26,27} Bu çalışmada da, %35 HP uygulanmış mine yüzeyleri ağız ortamını daha iyi taklit edebilmek için deney süresince yapay tükürük içerisinde bekletildi. Uygulamalar sonunda mine mikrosertliğinde bir miktar düşüş olmasına karşın bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir ve bu yapay tükürüğün remineralize edici etkisine bağlanabilir. %35 HP'nin etkisini tam anlayabilmek için numunelerin distile su içerisinde bekletildiği çalışmalara da ihtiyaç vardır.

Topikal florid uygulamalarının remineralizasyonu uyardığı ve dental sert dokulardaki demineralizasyonu önlediği bilinen bir gerçektir.²⁸ Florid mine yüzeyinde kalsiyum florid tabakası oluşturarak remineralizasyon ajanı olarak görev yapar. Bu birikim, sonradan çözünür, mineye diffüze olur, remineralizasyonu destekler ve mikrosertlik değerlerinde artışa neden olur.^{22,29} Floridden farklı olarak, CPP-ACP ACP'yi lokalize ederek fonksiyon görür. Bu sayede diş yüzeyindeki serbest kalsiyum ve fosfat iyonları tamponlanır ve süpersatürasyon safhası oluştuğunda ise demineralizasyon işlemi baskılanır ve remineralizasyon başlar.³⁰ Bu çalışmada, mine yüzeyine beyazlatma ajanı uygulandıktan sonra APF ve CPP-ACP uygulaması sonrası mine mikrosertlik değerlerinde istatistik olarak anlamlı bir fark görülmedi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın mine mikrosertliğinde bir artış gözlemlendi. Bu artışın, kullanılan bu materyallerin remineralizasyon özelliğinden kaynaklanabileceği söylenebilir. Bu durumda %35 HP uygulaması sonrasında yüzeye uygulanacak olan remineralize edici ajanların mine mikrosertliği üzerinde etkisi olmayacağı hipotezi kısmen kabul edilmiştir.

CPP-ACP mine yüzeyine daha uzun zaman aralığında uygulandığında remineralizasyon açısından daha başarılı sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir. Bayrak ve ark.²² yaptıkları *in vitro* bir çalışmada ağırtma tedavisinden sonra CPP-ACP uygulaması sonrası mine mikrosertliğinde anlamlı bir artış bulmuşlardır. Bu çalışmadan farklı sonuçlar elde etmiş olmaları, CPP-ACP'yi ağırtma ajanı uygulama seansları arasında günlük olarak ve daha uzun süreli kullanmaları ile ilişkili olabilir. Bu çalışmaya benzer olarak Yeşilyurt ve ark.³¹ ağırtma ajanı ile muamele edilen mine yüzeylerine remineralizasyon ajanları uygulayarak mikrosertlik değişimini değerlendirdikleri çalışmalarında bu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak ağırtmadan sonra APF ve CPP-ACP uygulanan grupların mikrosertliği arasında anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Mine yüzeyinde oluşturulan mikroabrazyondan sonra uygulanan florid ve ACP-CPP'nin mikrosertlik üzerine etkisini değerlendiren başka bir çalışmada florid ve ACP-CPP uygulanan gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir.¹⁸ Wegehaupt ve ark.³² alkolsüz bir içecek kullanımından sonra mine yüzeyindeki erozyonu değerlendirmiş ve oluşan erozyonun ardından kullanılan remineralizasyon ajanları ACP-CPP ve florid içeren gargaranın mikrosertlik üzerine etkisini karşılaştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda ACP-CPP ile floridli gargara

uygulanen grupların mikrosertliği arasında anlamlı farklılık bulamadıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmalarda materyaller üretici talimatlarına göre kullanılabilirlikleri gibi deneysel olarak farklı sürelerde kullanılabilirler. APF preparatlarının 4 dk süre ile uygulanmaları önerilmesine karşın,⁹ 1 dk¹⁹ ve 5 dk³³ gibi farklı sürelerde uygulayan çalışmalar da mevcuttur. CPP-ACP için üretici talimatları materyalin en az 3 dk kullanılması yönündedir.³⁴ Ancak pek çok farklı çalışmada 4 dk ve 5 dk gibi farklı sürelerde de uygulanmıştır.^{35,36} Bu çalışmada 4 dk uygulanması önerilen APF jeli ile uygulama süresi açısından standardizasyonu sağlamak amacıyla CPP-ACP patı 4 dk süre ile uygulandı.

Son yıllarda kullanımı giderek yaygınlaşan CPP-ACP'nin, pat dışında, solüsyon, gargara, sakız, pastil gibi farklı formları ve florid ile kombine edildiği farklı preparatları da mevcuttur.³⁷ Aynı şekilde pek çok farklı formda (vernik, gargara, macun, solüsyon) florid preparatı çürük önleme amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır.³⁸ Bu çalışmada profesyonel olarak uygulanabildiği gibi hasta tarafından da uygulanabilen CPP-ACP patı, asidik yapısı nedeniyle, daha kısa süre uygulanmalarına ve daha az florid içermelerine karşın verniklere eşdeğer miktarda kalsiyum florid (CaF₂) oluşturabilen³⁹ ve sadece profesyonel olarak uygulanabilen APF jeli ile karşılaştırıldı. Bu çalışmanın sınırları dahilinde remineralize edici ajanlar arasında mine mikrosertliği yönünden farklılık bulunmadı. CPP-ACP'in diğer formlarının ve farklı florid preparatlarının, ağartma ajanı uygulanmış mine mikrosertliği üzerindeki etkileri ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇ

Bu çalışmanın koşulları altında, CPP-ACP ve APF uygulamasının ağartma ajanı uygulanmış mine yüzeyinin mikro sertliğini hafif oranda arttırmakla birlikte bu artışın belirgin olmadığı söylenebilir. Farklı konsantrasyonlardaki ağartma ajanı uygulamalarının ve farklı konsantrasyonlardaki remineralizasyon sağlayan ajanların etkilerinin incelendiği daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çıkar çatışması: Yazarlar bu çalışmayla ilgili herhangi bir çıkar çatışmalarının bulunmadığını bildirmişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Bizhang M, Seemann R, Duve G, Römhild G, Altenburger MJ, Jahn KR, et al. Demineralization effects of 2 bleaching procedures on enamel surfaces with and without post-treatment fluoride application. *Oper Dent* 2006;31:705-9.
2. Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *Br Dent J* 2001;190:309-16.
3. Rajesh AG, Ranganath LM, Kumar KS, Rao BS. Surface morphological changes in human enamel following bleaching: an *in vitro* scanning electron microscopic study. *J Contemp Dent Pract* 2012;13:405-15.
4. Murchison DF, Charlton DG, Moore BK. Carbamide peroxide bleaching: effects on enamel surface hardness and bonding. *Oper Dent* 1992;17:181-5.
5. Burgmaier GM, Schulze IM, Attin T. Fluoride uptake and develop-

ment of artificial erosions in bleached and fluoridated enamel *in vitro*. *J Oral Rehabil* 2002;29:799-804.

6. Kamath U, Sheth H, Mullur D, Soubhagya M. The effect of Remin Pro on bleached enamel hardness: an in-vitro study. *Indian J Dent Res* 2013;24:690-3.
7. Moi GP, Tenuta LM, Cury JA. Anticaries potential of a fluoride monthrinse evaluated *in vitro* by validated protocols. *Braz Dent J* 2008;19:91-6
8. Groeneveld A, Van Eck AA, Backer Dirks O. Fluoride in caries prevention: is the effect pre- or post-eruptive? *J Dent Res* 1990;69 Spec No:751-5; discussion 820-3.
9. Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A. Topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels or varnishes) for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;4:CD002782.
10. Jiang H, Bian Z, Tai BJ, Du MQ, Peng B. The effect of a bi-annual professional application of APF foam on dental caries increment in primary teeth: 24-month clinical trial. *J Dent Res* 2005;84:265-8.
11. von der Fehr Fr, Larsen MJ, Bragelien J. Dental fluorosis in children on a fluoride program [abstract]. *Caries Res* 1989;23:455-6.
12. Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 1997;76:1587-95.
13. Rose RK. Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. *Arch Oral Biol* 2000;45:569-75.
14. Ardu S, Castioni NV, Benbachir N, Krejci I. Minimally invasive treatment of white spot enamel lesions. *Quintessence Int* 2007;38:633-6.
15. Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist* 1998;18:8-16.
16. Lima DA, Aguiar FH, Liporoni PC, Munin E, Ambrosano GM, Lovadino JR. *In vitro* evaluation of the effectiveness of bleaching agents activated by different light sources. *J Prosthodont* 2009;18:249-54.
17. DE Abreu DR, Sasaki RT, Amaral FL, Florio FM, Basting RT. Effect of home-use and in-office bleaching agents containing hydrogen peroxide associated with amorphous calcium phosphate on enamel microhardness and surface roughness. *J Esthet Restor Dent* 2011;23:158-68.
18. Ahmadi Zenouz G, Ezoji F, Enderami SA, Khafri S. Effect of fluoride, casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate fluoride on enamel surface microhardness after microabrasion: An *in vitro* study. *J Dent (Tehran)* 2015;12:705-11.
19. Calvo AF, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, da Silva WJ, Cury JA. Effect of acidulated phosphate fluoride gel application time on enamel demineralization of deciduous and permanent teeth. *Caries Res* 2012;46:31-7.
20. Morjaria Y, Irwin WJ, Barnett PX, Chan RS, Conway BR. *In vitro* release of nicotine from chewing gum formulations. *Dissolute Technol* 2004;11:12-5.
21. Shannon H, Spencer P, Gross K, Tira D. Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Quintessence Int* 1993;24:39-44.
22. Bayrak S, Tunc ES, Sonmez IS, Egilmez T, Ozmen B. Effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) application on enamel microhardness after bleaching. *Am J Dent* 2009;22:393-6.
23. Feagin F, Koulourides T, Pigman W. The characterization of enamel surface demineralization, remineralization, and associated hardness changes in human and bovine material. *Arch Oral Biol* 1969;14:1407-17.
24. Luk K, Tam L, Hubert M. Effect of light energy on peroxide tooth bleaching. *J Am Dent Assoc* 2004;135:194-201.
25. Attin T, Schmidlin PR, Wegehaupt F, Wiegand A. Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: a review. *Dent Mater* 2009;25:143-57.

26. Buskes JA, Christoffersen J, Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications. *Caries Res* 1985;19:490-6.
27. Meyer-Lueckel H, Umland N, Hopfenmuller W, Kielbassa AM. Effect of mucin alone and in combination with various dentifrices on *in vitro* remineralization. *Caries Res* 2004;38:478-83.
28. Ten Cate JM. *In vitro* studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res* 1990;69 Spec No:614-9; discussion 634-6.
29. White DJ, Featherstone JD. A longitudinal microhardness analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression *in vitro*. *Caries Res* 1987;21:502-12.
30. Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent* 2006;34:230-6.
31. Yesilyurt C, Sezer U, Ayar MK, Alp CK, Tasdemir T. The effect of a new calcium-based agent, Pro-Argin, on the microhardness of bleached enamel surface. *Aust Dent J*. 2013;58:207-12.
32. Wegehaupt FJ, Tauböck TT, Stillhard A, Schmidlin PR, Attin T. Influence of extra- and intra-oral application of CPP-ACP and fluoride on re-hardening of eroded enamel. *Acta Odontol Scand* 2012;70:177-83.
33. da Costa JB, Mazur RF. Effects of new formulas of bleaching gel and fluoride application on enamel microhardness: an *in vitro* study. *Oper Dent* 2007;32:589-94.
34. Pai D, Bhat SS, Taranath A, Sargod S, Pai VM. Use of laser fluorescence and scanning electron microscope to evaluate remineralization of incipient enamel lesions remineralized by topical application of casein phospho peptide amorphous calcium phosphate (CPP-aCP) containing cream. *J Clin Pediatr Dent* 2008;32:201-6.
35. Jayarayan J, Janardhanam P, Jayakumar P, Deepika. Efficacy of CPP-ACP and CPP-ACPF on enamel remineralization - an *in vitro* study using scanning electron microscope and DIAGNOdent. *Indian J Dent Res* 2011;22:77-82.
36. Rahiotis C, Vougiouklakis G. Effect of a CPP-ACP agent on the demineralization and remineralization of dentine *in vitro*. *J Dent* 2007;35:695-8.
37. Çetin B, Avşar A, Ulusoy AT. Kazein içerikli besinler ve dental ürünler. *J Dent Fac Atatürk Uni* 2011;4:24-31.
38. Civelek A, Özel E, Çıldır Kavaloğlu Ş. Diş hekimliğinde topical florür uygulamaları. *Ondokuz Mayıs Univ Diş Hekim Fak Derg* 2004;5:103-9.
39. Hayacibara MF, Paes Leme AF, Lima YB, Gonçalves NC, Queiroz CS, Gomes MJ, et al. Alkali-soluble fluoride deposition on enamel after professional application of topical fluoride *in vitro*. *J Appl Oral Sci* 2004;12:18-2.

Effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) and fluoride on the microhardness of enamel treated with a bleaching agent: *ex vivo*

ABSTRACT

OBJECTIVE: The aim of this study was to compare the effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) and 1.23% acidulated phosphate fluoride (APF; pH 3.5) on the microhardness of enamel treated with a bleaching agent.

MATERIALS AND METHOD: Enamel slices (n=32; 2x4 mm) were obtained from 8 mandibular permanent molar teeth. Specimens were embedded into acrylic resin blocks with the enamel surfaces facing upwards. Vickers microhardness (VHN) values of the specimens were recorded at baseline. The specimens were randomly divided into 4 experimental groups, and the experimental designation was as follows: Group 1: no treatment (control), Group 2: 35% hydrogen peroxide (HP), Group 3: HP + CPP-ACP, Group 4: HP + APF application. After treatments, VHN values were measured and recorded again. Specimens were stored in artificial saliva at 37 °C for 1 week. After 1 week second application was done and VHN of the specimens was registered once more. Data were statistically analyzed with ANOVA and Tukey post hoc tests. Values obtained at baseline, and first and second applications were compared using paired samples t-test ($\alpha=0.05$).

RESULTS: In inter-group comparisons, no statistically significant difference in the enamel microhardness values was found between the baseline, and first and second applications ($p>0.05$). In intra-group comparisons, again, no statistically significant difference in the enamel microhardness values was found between the baseline, and first and second applications ($p>0.05$).

CONCLUSION: According to the limitations of this study it can be concluded that neither the HP application nor the CPP-ACP or APF application after HP had any significant effect on the enamel microhardness.

KEYWORDS: Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplex; dental enamel; hardness tests; hydrogen peroxide