

# بررسی اثر افزودن کازئین فسفوپتید-آمورفوس کلسیم فسفات به یک خمیر دندان ایرانی بر میزان رمینرالیزاسیون ضایعات مینایی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۶

## خلاصه

**مقدمه:** هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر افزودن کازئین فسفوپتید-آمورفوس کلسیم فسفات (CPP-ACP) ساخته شده در مرکز تحقیقات مواد دندان‌دانی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به یک خمیر دندان ایرانی بر رمینرالیزاسیون ضایعات مینایی می‌باشد.

**روش کار:** تعداد ۲۰ بلوک مینایی از تاج تعدادی دندان انسیزور گاوی برش زده شدند. یک سوم هر بلوک مینایی لاک زده شد تا آن ناحیه به عنوان ناحیه سالم باشد و دو ناحیه باقی مانده هر دو وارد پروسه دمینرالیزاسیون شدند. پس از فرآیند دمینرالیزاسیون نصف باقی مانده سطح بلوک مینایی لاک زده شد تا فقط ناحیه سوم وارد پروسه رمینرالیزاسیون شود. ۲۰ بلوک مینایی به ۲ گروه تقسیم شدند: گروه اول خمیر دندان مریدنت Complete7 و گروه دوم خمیر دندان مریدنت Complete7 حاوی ۱ درصد وزنی CPP-ACP. در هر گروه خمیر دندان مورد نظر به مدت ۳ دقیقه بر روی ناحیه سوم قرار داده شده و پس از آن با استفاده از آب مقطر شسته و در محلول بزاق مصنوعی قرار گرفت. این عمل به مدت ۷ روز تکرار شد. با استفاده از روش ویکرز میکروهاردنس سنجش رمینرالیزاسیون در سه ناحیه از سطح به عمق در عمق‌های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومتر انجام شد.

**نتایج:** نتایج نشان داد که افزودن CPP-ACP به خمیر دندان مریدنت موجب افزایش توان رمینرالیزاسیون در دو عمق ۲۰ میکرومتر ( $p=0,028$ ) و ۵۰ میکرومتر ( $p=0,033$ ) شده است. در سایر عمق‌ها، افزودن CPP-ACP تفاوت معناداری در تأثیر خمیر دندان بر رمینرالیزاسیون ایجاد نکرده است.

**نتیجه گیری:** به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن CPP-ACP به خمیر دندان ایرانی مریدنت باعث بهبود قابلیت آن در رمینرالیزاسیون ضایعات مینایی در لایه سطحی مینای دندان شود.

**کلمات کلیدی:** خمیر دندان، پوسیدگی‌های دندان‌دانی، رمینرالیزاسیون، CPP-ACP

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

شقایق رفیعی<sup>۱</sup>

حسین باقری<sup>۲</sup>

محسن قلی زاده<sup>۳</sup>

علی فرامرزی گرمودی<sup>۴</sup>

علی اکبر حجت پناه منتظری<sup>۴</sup>

عبدالرسول رنگ رزی<sup>۵\*</sup>

<sup>۱</sup> دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات مواد دندان‌دانی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

<sup>۳</sup> دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آلبرتا، ادمونتون، آلبرتا، کانادا

<sup>۴</sup> مشهد، ایران

<sup>۵</sup> مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران (نویسنده مسئول)

Email: rangrazir@mums.ac.ir

## مقدمه

ثابت شده است که مراقبت از دندان‌ها، حداقل دو بار در روز، برای پیشگیری از پوسیدگی دندان و بیماری پریدنتال بسیار مهم است. این موارد شایع‌ترین بیماری‌های جهان هستند که عمدتاً به دلیل وجود بیوفیلم‌های میکروبی (پلاک) ایجاد می‌شوند (۱). خمیردندان مهم‌ترین محصول شیمیایی است که برای تمیز نگه داشتن دندان‌ها استفاده می‌شود (۲). استفاده گسترده از خمیردندان حاوی فلوراید به عنوان یک عامل رایج در کاهش پوسیدگی دندان طی ده‌های گذشته در نظر گرفته شده است. فلئور با سطح مینای دندان پیوند برقرار کرده و تولید فلئورآپاتایت می‌کند که باعث حلالیت کمتر مینا و افزایش مقاومت آن در برابر حمله اسیدی می‌شود. هنگامی که فلوراید در دهان وجود داشته باشد، چرخه‌ی رمینرالیزاسیون برای جلوگیری از پوسیدگی به شدت فعال می‌شود. فعالیت باکتری‌های پوسیدگی‌زا نیز توسط فلوراید مهار می‌شود (۳، ۴). میزان متداول فلوراید در خمیر دندان معمولی حدود ۱۰۰۰ تا ۱۵۰۰ فلوراید است و حداقل غلظت فلوراید وجود ندارد، اما حداکثر غلظت مجاز فلوراید برای خمیردندان بسته به سن و کشور متفاوت است. خمیر دندان‌های حاوی فلوراید بیشتر ممکن است محافظت بیشتری در برابر پوسیدگی داشته باشند، اما خطر فلوروزیس را در دندان‌های در حال رشد افزایش می‌دهد (۵). محدودیت‌های استفاده از فلوراید باعث گردیده تحقیقات متعددی بر روی مواد با خاصیت رمینرالیزه کننده قابل توجه انجام گیرد. یکی از مواد رمینرالیزاسیون کننده که در سال‌های اخیر مورد توجه پژوهشگران در دندانپزشکی قرار گرفته است، کازئین فسفوپتید-آمورفوس کلسیم فسفات (CPP-ACP) است. کازئین فسفوپتید (CPP) یکی از پپتیدهای مهم مشتق شده از کازئین شیر است که می‌تواند باعث کاهش رشد و چسبندگی باکتری‌های پوسیدگی‌زا نظیر استرپتوکوک موتانس، تغلیظ کلسیم و فسفات در پلاک و به دنبال آن کاهش دمینرالیزاسیون و افزایش رمینرالیزاسیون دندان شود (۶، ۷). این پپتید از طریق هیدرولیز آنزیمی کازئین پروتئین شیر و انجام عمل خالص‌سازی و فراپالایش تولید می‌شود. یکی از ویژگی‌های CPP،

پایدارسازی کلسیم فسفات در حالت آمورف بوده که منجر به شکل‌گیری کمپلکس کازئین فسفوپتید آمورفوس کلسیم فسفات می‌شود. CPP-ACP می‌تواند به عنوان یک منبع کلسیم فسفات به سطح دندان و پلاک متصل شود و در چالش‌های اسیدی باعث آزادسازی کلسیم فسفات شده و یک سطح فوق اشباع از آن را ایجاد می‌نماید که این امر منجر به افزایش رمینرالیزاسیون و کاهش دمینرالیزاسیون دندان‌ها می‌شود (۸، ۹). CPP-ACP به شکل‌های متفاوت نظیر کرم‌ها و خمیرهای دندان، دهانشویه‌ها و آدامس به کار برده می‌شود. تاکنون در مطالعه‌های زیادی اثر ضدپوسیدگی CPP-ACP نشان داده شده است (۱۰، ۱۱). ضمن آنکه CPP-ACP برخلاف فلوراید، فاقد عوارض مسمومیت در دوزهای بالا برای انسان به‌ویژه کودکان است (۱۰). مجموعه ویژگی‌های ذکر شده باعث گردیده که CPP-ACP به عنوان یک ماده مهم و استراتژیک در کاهش پوسیدگی‌ها و افزایش رمینرالیزاسیون دندان‌ها مطرح شود. یکی از جنبه‌های مهمی که در مورد این ماده موثر می‌توان بررسی نمود اثر افزودن آن به خمیردندان‌های رایج مصرفی است که روزانه توسط مردم مورد استفاده قرار می‌گیرد. لذا هدف این مطالعه بررسی این سوال است که آیا افزودن CPP-ACP به یک خمیردندان ایرانی بر رمینرالیزاسیون ضایعات مینایی تأثیری دارد؟

## روش کار

در این مطالعه آزمایشگاهی جنبه‌های اخلاقی از نظر اجرای مطالعه و استفاده از نمونه‌های حیوانی مورد بررسی قرار گرفته است. این پژوهش در کمیته اخلاق سازمانی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تحت عنوان "تأثیر افزودن کمپلکس "کازئین فسفوپتید-آمورفوس کلسیم فسفات" به یک خمیردندان ایرانی بر میزان رمینرالیزاسیون ضایعات مینایی؛ مطالعه آزمایشگاهی" و شماره ۹۹۱۲۷۷ مطرح و با کد IR.MUMS.DENTISTRY.REC.1399.146 مصوب گردیده است.

با انتخاب آلفا ۰/۰۵ و بتا ۰/۲۰ (قدرت ۸۰ درصد)، و اندازه اثر ۵۰٪ و انحراف معیار ۱۰ با استفاده از فرمول حجم نمونه، تعداد ۶ نمونه

میکرون استفاده شد و میزان میکروهاردنس در سه ناحیه به دست آمد. با استفاده از داده‌های به دست آمده ۲ پارامتر دمینرالیزاسیون نسبی (rDEM) و رمینرالیزاسیون نسبی (rREM) محاسبه شد:

VHN: سختی ویکرز

DEM: ناحیه دمینرالیزه شده

REM: ناحیه رمینرالیزه شده

Sound: ناحیه سالم

$$rDEM = \frac{VHN(dem) - VHN(Sound)}{VHN(Sound)} \times 100$$

$$rREM = \frac{VHN(rem) - VHN(Sound)}{VHN(Sound)} \times 100$$

با استفاده از این دو پارامتر، پارامتر نهایی توان رمینرالیزاسیون برای هر گروه محاسبه شد:

Remin Power= rREM-rDEM



شکل ۱. نمونه‌های آماده شده برای رمینرالیزاسیون

### نتایج

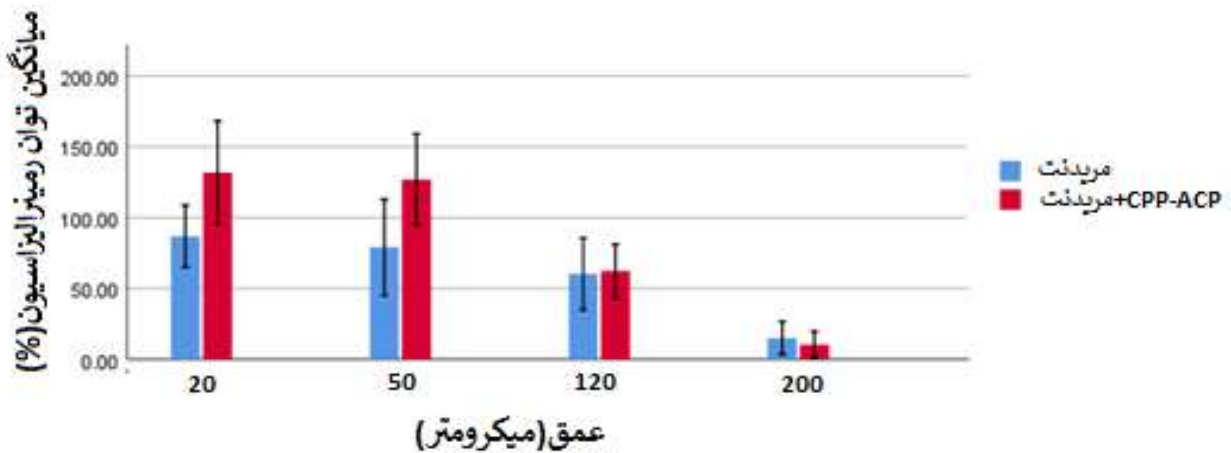
شکل ۲ مقادیر میکرو سختی مینا را در چهار عمق مختلف در مینای سالم، پس از دمینرالیزاسیون و پس از رمینرالیزاسیون در ۲ گروه نشان می‌دهد. چنانکه مشاهده می‌شود الگو و شدت دمینرالیزاسیون در دو گروه مشابه است و عمق دمینرالیزاسیون در دو گروه در عمق بین ۱۲۰ تا ۲۰۰ میکرون است.

برای هر گروه محاسبه شد که به منظور اطمینان تعداد ۱۰ نمونه در نظر گرفته شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون واریانس یک عاملی و آنالیز تعقیبی LSD استفاده شد.

در این مطالعه آزمایشگاهی تعداد ۲۰ دندان اینسایزور گاوی از دبری و بقایای بافتی تمیز کرده و زیر استرنومیکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰ از نظر ترک، پوسیدگی، فلوروزیس، هایپومینرالیزاسیون و... ارزیابی شدند. پس از بررسی‌های اولیه تعداد ۲۰ بلوک مینایی از تاج دندان‌های اینسایزور گاوی با استفاده از دستگاه برش، برش زده شدند. بلوک‌ها در رزین آکریلی مانت شده و به ترتیب با سمباده‌های شماره ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۵۰۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ سمباده زنی شدند. سپس یک سوم هر بلوک مینایی لاک زده شد تا آن ناحیه به عنوان ناحیه سالم باشد و دو ناحیه باقی مانده هر دو وارد پروسه دمینرالیزاسیون شوند. سپس نمونه‌ها در محلول دمینرالیزاسیون (حاوی ۲،۲ mM کلرید کلسیم، ۲،۲ mM سدیم دی هیدروژن فسفات و ۰،۰۵ mM سدیم فلوراید) (۱۲) با pH=4.5 غوطه ور شده و به مدت ۶ روز که هر ۳ روز محلول تعویض شده و در آنکوباتور نگهداری شدند. پس از پروسه دمینرالیزاسیون نصف باقی مانده سطح بلوک مینایی لاک زده شد تا فقط ناحیه سوم (شکل ۱) وارد پروسه رمینرالیزاسیون شود. ۲۰ بلوک مینایی به ۲ گروه تقسیم شدند: گروه اول خمیر دندان تجاری مریدنت، گروه دوم خمیردندان مریدنت Complete7 که به آن نیم درصد وزنی CPP-ACP اضافه شده است.

در هر گروه خمیر مورد نظر به مدت ۳ دقیقه بر روی ناحیه سوم قرار داده شده و پس از آن با استفاده از آب مقطر شسته شد. سپس نمونه در محلول بزاق مصنوعی (حاوی ۱ mM یون کلسیم، ۳ mM یون فسفات و ۱۰۰ mM سدیم فلوراید) با pH=۶/۵ قرار داده شد. این عمل به مدت ۷ روز تکرار شد. پس از اتمام چرخه رمینرالیزاسیون، نمونه‌ها در آکریل مانت شده و در جهت طولی برش داده شدند؛ به طوری که سطح مقطع هر سه ناحیه سالم، دمینرالیزه و رمینرالیزه در دسترس باشند. برای سنجش میزان رمینرالیزاسیون از دستگاه سختی سنج ویکرز میکروهاردنس (کوپاپژوهش، ایران) با سختی سنجی از سطح به عمق در عمق‌های ۲۰، ۵۰، ۱۲۰ و ۲۰۰





شکل ۳. میانگین توان remineralization سیون را برای هر دو دسته خمیردندان تجاری در عمق‌های مختلف

مصرف ترکیبی با خمیردندان حاوی فلوراید این اثر را تقویت می‌کند (۱۳). مطالعه آزمایشگاهی Somasundaram نیز بیان کرد که سطوح مینایی که در معرض خمیر CPP-ACP قرار گرفته بودند در مقایسه با خمیر دندان‌های حاوی فلوراید و گروه کنترل موثرتر واقع شدند (۱۴). این در حالی است که مطالعه مرور نظام مند و متاآنالیز Saying Tao و همکارانش (۱۵) نشان داد که در ده مطالعه شامل ۵۵۹ بیمار فلوراید به همراه CPP-ACP در مقابل فلوراید به تنهایی کارایی یکسانی داشتند؛ همچنین ترکیب درمان‌های ذکر شده نشان دادند کارایی بسیار بهتری در سطوح اکلوزال خواهند داشت. مطالعه‌ای دیگر هم راستا با مطالعه‌ی حاضر توسط Ogata و همکارانش انجام شد و نتایج نشان داد که در حضور CPP-ACP و فلوراید با هم، نسبت به حالتی که هر ماده جداگانه بکار رود، فرآیند remineralization بهتر صورت می‌گیرد (۱۶).

دلیل یافته‌های مشابه در رابطه با اثر بخشی CPP-ACP به همراه فلوراید مربوط به فراهم شدن شرایط بافرینگ می‌باشد و در واقع وجود فلوراید remineralization را پیش می‌برد (۱۶). در این راستا در مطالعه‌ی Zhou و همکارانش مشخص گردید که در مینای دمینرالیزه با گذشت زمان نواحی مرکزی منشورها به وسیله‌ی remineralization سیون CPP-ACP به مرور جایگزین شد و همچنان جهت گیری فیبریل‌های کریستال‌ها باقی ماند (۱۷). این پژوهش

جدول ۱ و شکل ۳ پارامترهای دمینرالیزاسیون نسبی، remineralization سیون نسبی و توان remineralization سیون (Remin power) محاسبه شده را برای هر دو دسته خمیردندان تجاری در عمق‌های مختلف نشان می‌دهد. با توجه به اینکه توان remineralization سیون در عمق‌های مختلف مدنظر است تحلیل آماری برای هر عمق و با استفاده از آزمون تی مستقل انجام شد. تحلیل آماری نشان داد که افزودن CPP-ACP به خمیردندان میردنت موجب افزایش توان remineralization سیون در دو عمق ۲۰ ( $p=0,028$ ) و ۵۰ ( $p=0,033$ ) میکرون شده است. با این حال در سایر عمق‌ها، افزودن CPP-ACP تفاوتی در تأثیر خمیردندان ایجاد نکرده است.

### بحث

نتایج نشان داد که افزودن CPP-ACP به خمیردندان میردنت موجب افزایش توان remineralization سیون در دو عمق ۲۰ میکرومتر ( $p=0,028$ ) و ۵۰ میکرومتر ( $p=0,033$ ) شده است. در سایر عمق‌ها، افزودن CPP-ACP تفاوت معناداری در تأثیر خمیردندان بر remineralization سیون ایجاد نکرده است.

مطالعه Wu و همکارانش که به منظور ارزیابی تأثیر CPP-ACP tooth mousse بر remineralization سیون دندان‌های انسیزور گاوی انجام شد، نشان داد که CPP-ACP tooth mousse اندازه و میانگین سطح خاکستری ناحیه دمینرالیزه شده را کاهش می‌دهد و remineralization سیون مینای دندان گاوی را تقویت می‌کند. همچنین

ممکن است شاهدی باشد براینکه ماده CPP-ACP باعث افزایش سختی سطح شده و خواص فیزیکی به دنبال رمینرالیزاسیون را بهبود می‌بخشد.

در مقابل Wegehaupt و همکارانش که اثر فلوراید و CPP-ACP را در مطالعه آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار دادند اذعان داشتند که سایش‌های آروزیو ابریزیو دندان تحت شرایط استفاده روزانه از ژل‌های فلوراید (صرف نظر از نوع آن) می‌تواند باعث کاهش معنی‌دار سایش دندان شود. همچنین خمیردندان‌های حاوی CPP-ACP کمتر موثر بودند (۱۸). دلیل این تناقض ممکن است مربوط به تفاوت سوبسترا مطالعه شده باشد چراکه در مطالعه‌ی حاضر مینا دمینرالیزه بررسی شد ولی در مطالعه‌ی Wegehaupt سایش‌های آروزیو ابریزیو مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن CPP-ACP طی چرخه رمینرالیزاسیون بر میزان سختی مینای دمینرالیزه شده موثر می‌باشد. به عبارت دیگر، به طور کلی CPP-ACP باعث بهبود ریکاوری رمینرالیزاسیون بعد از در معرض قرار گرفتن دندان بر اثر محلول دمینرالیزه کننده می‌شود. این اثرگذاری در عمق‌های مختلف قابل مشاهده بود اما در عمق ۵۰ تا ۱۵۰ بیشترین بود.

Caruana و همکارانش به طور مشابه توان خمیرحاوی CPP-ACP جهت بافرینگ اسیدیته پلاک دندان قبل از مصرف کربوهیدرات را بررسی کرده و نشان دادند در صورت مصرف CPP-ACP کاهش pH به دنبال مصرف سوکرز کمتر از گروه کنترل می‌باشد (۱۹). در راستای این نتایج، مطالعه‌ای توسط Tantbirojn انجام شد که نشان داد کاربرد خمیر CPP-ACP با محلول جایگزین بزاق در طول ۴۸ ساعت بطور چشمگیری سطح مینا نرم شده با نوشیدنی کولا را سخت کرد (۲۰). همراستا با نتایج مطالعه‌ی حاضر Laurent A و همکارانش در مطالعه خود نتیجه گرفتند استفاده بلند مدت از CPP-ACP در ترکیب با خمیردندان‌های معمول اثرات مثبت در بازسازی سطوح پوسیدگی در شرایط آزمایشگاهی دارند (۲۱).

دلایل متعددی برای اثر بخشی CPP-ACP ذکر شده است. مکانیسم ضد پوسیدگی CPP-ACP، لوکالیزه کردن ACP در سطح دندان است که فعالیت یونهای آزاد کلسیم و فسفات را خنثی می‌کند.

کازئین فسفوپتید نه تنها کلسیم فسفات آمورف را تثبیت میکند بلکه به ماکرو مولکول‌های بیوفیلم سطح دندان نیز باند می‌شود و به عنوان یک منبع ذخیره یون‌های کلسیم فسفات عمل می‌کند. کلسیم فسفات آمورف از لحاظ بیولوژیک فعال است و توانایی آزاد کردن یون‌های کلسیم فسفات به منظور حفظ سطح فوق اشباع را دارد؛ بنابراین پروسه دمینرالیزاسیون را کاهش و رمینرالیزاسیون را افزایش می‌دهد. CPP از طریق فسفوسرین‌های موجود در ترکیب خود به کلسیم و فسفات باند شده و اجازه تشکیل خوشه‌های کوچکی از کلسیم فسفات (ACP) را می‌دهد که به این صورت کلسیم و فسفاتی که قویا غیرمحلول هستند در حضور این پتید (CPP) به صورت محلول در دسترس قرار می‌گیرد (۲۲). CPP به سطح دندان باند شده و به عنوان یک منبع ذخیره یون‌های کلسیم و فسفات عمل می‌کند (۲۳).

یون‌های کلسیم و فسفات از فاز مایع از طریق ضایعه متخلخل انتشار پیدا می‌کنند و در کریستال‌های مینایی نسبتاً معدنی زدایی شده رسوب می‌کنند و کریستال‌های آپاتیت را دوباره شکل می‌دهند و باعث افزایش پروسه رمینرالیزاسیون می‌شوند (۲۴).

براساس مطالعات انجام شده CPP-ACP نقش در کنترل افزایش حساسیت عاج سرویکالی دارد و حساسیت را از طریق رمینرالیزاسیون کاهش می‌دهد وقتی در سطح عاج اکسپوز به کار میرود باعث می‌شود اجزاء پروتئینی با قوت باند شوند در ادامه سدی از مواد معدنی تشکیل شود که شروع به مسدود کردن توبول‌ها می‌کند. کاربرد CPP-ACP بر سطوح عاجی توانایی پیشگیری از دمینرالیزاسیون عاجی را دارد، بنابراین کاربرد آن برای پیشگیری از پوسیدگی ریشه دندان پیشنهاد می‌شود. همچنین در بیماران مبتلا به خشکی شدید دهان، نتایج مثبتی در رابطه با کازئین فسفوپتید آمورفوس کلسیم فسفات در دهانشویه جهت پیشگیری از پوسیدگی و مرطوب نگه داشتن دهان نشان داده شده است (۲۵، ۲۶). CPP-ACP را نیز می‌توان به عنوان ماده افزودنی به غذاها، نوشیدنی‌ها، آدامس، قرص، خمیردندان و دهانشویه‌ها جهت کنترل پوسیدگی اضافه کرد. لذا با توجه به مزایای بسیار این ماده در ترکیب با خمیردندان و فواید اشاره شده در مطالعه‌ی حاضر مبنی بر کاربرد آن بر مینای دمینرالیزه، این مطالعه آزمایشگاهی

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شده است و بدینوسیله از این معاونت تشکر و قدردانی می‌شود.

می‌تواند نشان دهنده اهمیت بالینی این ترکیب باشد و راه را برای سایر پژوهشگران در طراحی و اجرا مطالعات آزمایشگاهی و بالینی آینده روشن کند.

### نتیجه گیری

به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن CPP-ACP به خمیردندان ایرانی مریدنت باعث بهبود قابلیت آن در رمینرالیزاسیون ضایعات مینایی در لایه سطحی مینای دندان شود.

### References

- Enax J, Meyer F, Schulze zur Wiesche E, Fuhrmann IC, Fabritius H-O. Toothpaste Abrasion and Abrasive Particle Content: Correlating High-Resolution Profilometric Analysis with Relative Dentin Abrasivity (RDA). *Dentistry Journal*. 2023;11(3):79.
- Kanouté A, Dieng SN, Diop M, Dieng A, Sene AK, Diouf M, et al. Chemical vs. natural toothpaste: which formulas for which properties? A scoping review. *Journal of Public Health in Africa*. 2022;13(3).
- Soi S, Vinayak V, Singhal A, Roy S. Fluorides and their role in demineralization and remineralization. *J Dent Sci Oral Rehabil*. 2013;14:19-21.
- Arifa MK, Ephraim R, Rajamani T. Recent advances in dental hard tissue remineralization: a review of literature. *International journal of clinical pediatric dentistry*. ۲۰۱۹;۱۲(۲):۱۳۹.
- Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Marinho VC, Jeroncic A. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries. *Cochrane database of systematic reviews*. 2019(3).
- Schüpbach P, Neeser J-R, Golliard M, Rouvet M, Guggenheim B. Incorporation of caseinoglycomacropptide and caseinophosphopeptide into the salivary pellicle inhibits adherence of mutans streptococci. *Journal of Dental Research*. 1996;75(10):1779-88.
- Aimutis WR. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *The Journal of nutrition*. 2004;134(4):989S-95S.
- Cardoso-Martins I, Pessanha S, Coelho A, Arantes-Oliveira S, Marques PF. Evaluation of the Efficacy of CPP-ACP Remineralizing Mousse in Molar-Incisor Hypomineralized Teeth Using Polarized Raman and Scanning Electron Microscopy—An In Vitro Study. *Biomedicines*. 2022;10(12):3086.
- Bhat DV, Awchat KL, Singh P, Jha M, Arora K, Mitra M. Evaluation of remineralizing potential of CPP-ACP, CPP-ACP+ F and  $\beta$  TCP+ F and their effect on microhardness of enamel using vickers microhardness test: An in vitro study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2022;15(Suppl 2):S221.
- Rose R. Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. *Archives of oral biology*. 2000;45(7):569-75.
- Giacamana RA, Molina CAMJ, Fernández CMVCE. Effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate Added to Milk, Chewing Gum, and Candy on Dental Caries: A Systematic Review. 2023.
- Itthagarun A, Verma S, Lalloo R, King N, Wefel J, Nair R. Effects of fluoridated milk on artificial enamel carious lesions: a pH cycling study. *Journal of dentistry*. 2011;39(12):817-24.
- Wu G, Liu X, Hou Y. Analysis of the effect of CPP-ACP tooth mousse on enamel remineralization by circularly polarized images. *The Angle Orthodontist*. 2010;80(5):933-8.
- Somasundaram P, Vimala N, Mandke LG. Protective potential of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate containing paste on enamel surfaces. *Journal of conservative dentistry: JCD*. 2013;16(2):152.

15. Tao S, Zhu Y, Yuan H, Tao S, Cheng Y, Li J, et al. Efficacy of fluorides and CPP-ACP vs fluorides monotherapy on early caries lesions: A systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2018;13(4):e0196660.
16. Ogata K, Warita S, Shimazu K, Kawakami T, Aoyagi K, Karibe H. Combined effect of paste containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and fluoride on enamel lesions: an in vitro pH-cycling study. *Pediatric dentistry*. 2010;32(5):433-8.
17. Zhou C, Zhang D, Bai Y, Li S. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralization of primary teeth early enamel lesions. *Journal of dentistry*. 2014;42(1):21-9.
18. Wegehaupt FJ, Attin T. The role of fluoride and casein phosphopeptide/amorphous calcium phosphate in the prevention of erosive/abrasive wear in an in vitro model using hydrochloric acid. *Caries research*. 2010;44(4):358-63.
19. Caruana PC, Al Mulaify S, Moazzez R, Bartlett D. The effect of casein and calcium containing paste on plaque pH following a subsequent carbohydrate challenge. *Journal of dentistry*. 2009;37(7):522-6.
20. Tantbirojn D, Huang A, Ericson M, Poolthong S. Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste. *Journal of dentistry*. 2008;36(1):74-9.
21. Thierens LA, Moerman S, Elst Cv, Vercruyse C, Maes P, Temmerman L, et al. The in vitro remineralizing effect of CPP-ACP and CPP-ACPF after 6 and 12 weeks on initial caries lesion. *Journal of Applied Oral Science*. 2019;27.
22. Holt C. Casein micelle substructure and calcium phosphate interactions studied by sephacryl column chromatography. *Journal of Dairy Science*. 1998;81(11):2994-3003.
23. Kumar V, Itthagarun A, King N. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Australian dental journal*. 2008;53(1):34-40.
24. Rahiotis C, Vougiouklakis G. Effect of a CPP-ACP agent on the demineralization and remineralization of dentine in vitro. *Journal of dentistry*. 2007;35(8):695-8.
25. Hay KD, Thomson WM. A clinical trial of the anticaries efficacy of casein derivatives complexed with calcium phosphate in patients with salivary gland dysfunction. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2002;93(3):271-5.
26. Hay K, Morton R. The efficacy of casein phosphoprotein-calcium phosphate complex (DC-CP)[Dentacal] as a mouth moistener in patients with severe xerostomia. *The New Zealand Dental Journal*. 2003;99(2):46-8.



## Original Article

# Effect of Incorporation of CPP-ACP into an Iranian Toothpaste on Remineralization of Enamel Lesion

Received: 16/12/2023 - Accepted: 25/02/2024

Shaghayegh Rafiei<sup>1</sup>  
Hossein Bagheri<sup>2</sup>  
Mohsen Gholizadeh<sup>3</sup>  
Ali Faramarzi Garmroodi<sup>4</sup>  
Aliakbar Hodjatpanah Montazeri<sup>4</sup>  
Abdolrasoul Rangrazi<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

<sup>2</sup>Dental Materials Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

<sup>3</sup>Graduate student, School of Dentistry, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada

<sup>4</sup>Private Office, Mashhad, Iran

<sup>5</sup>Dental Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. (Corresponding author)

Email: rangrazi@ums.ac.ir

### Abstract

#### Introduction

The aim of this study is to examine the impact of incorporating Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP), produced at the Dental Materials Research Center of Mashhad University of Medical Sciences, into an Iranian toothpaste on the remineralization of enamel lesions.

#### Material and Method

Twenty enamel blocks were obtained by cutting sections from the crowns of cow incisor teeth. Each enamel block was divided into thirds; one-third was varnished to serve as the healthy control, while the remaining two-thirds underwent a demineralization process.

Following demineralization, the remaining half of the enamel block surface was varnished, leaving only the third area exposed to the remineralization process. The 20 enamel blocks were then divided into two groups: the first group received Merident Complete7 toothpaste, and the second group received Merident Complete7 toothpaste containing 1% CPP-ACP by weight. In each group, the designated toothpaste was applied to the exposed third area for 3 minutes, followed by washing with distilled water and placement in an artificial saliva solution. This procedure was repeated daily for seven days. Remineralization was assessed using the Vickers microhardness method, measuring at depths of 20, 50, 100, and 150 micrometers in the three designated areas, from the surface to the depth.

#### Results

The results indicated that the incorporation of CPP-ACP into Merident toothpaste significantly enhanced remineralization at depths of 20 micrometers ( $p=0.028$ ) and 50 micrometers ( $p=0.033$ ). However, at other depths, the addition of CPP-ACP did not yield a statistically significant difference in the toothpaste's impact on remineralization.

#### Conclusion

In conclusion, the findings of this study demonstrate that the incorporation of CPP-ACP into Merident Iranian toothpaste enhances its efficacy in remineralizing enamel lesions, particularly in the surface layer of tooth enamel.

#### Key words

Toothpaste, Remineralization, CPP-ACP, Enamel Lesion

**Acknowledgement:** There is no conflict of interest