

EKSPERIMENTALNO ISPITIVANJE MOGUĆEG MEHANIZMA DEJSTVA ORGANSKIH FLUORIDA U PREVENCIJI INFLAMACIJE GINGIVE

Jovan Vojinović¹, Sadahiru Yoshida², Predrag Andelić³, Jasna Pintarić¹
i Emil Tatić¹

1) Medicinski fakultet Novi Sad, Institut za stomatologiju

2) Asahi University, School of dentistry, Gifu, Japan

3) Dom zdravlja Jovan Jovanović Zmaj, Stara Pazova

Primljeno: 8. 9. 1988.

Sažetak

U radu je prikazan mogući mehanizam dejstva fluorida u sprečavanju maturacije i toksičnog delovanja supra i subgingivalnog plaka. U toku sme-
ne zuba vršeno je četkanje sa Aminfluorid želeom na eksperimentalnoj i
bez paste na kontrolnoj strani vilice kod pasa. Žljebom u gledi je određe-
na granica supra i subgingivalnog predela gledi i zatim do dubine od 60
 μm pomoću elektronske sonde ispitivan sastav Ca, P i F na udaljenost od
250 do 3000 μm . Utvrđeno je zadržavanje fluorida u površnim slojevima na
eksperimentalnoj strani i to supragingivalno i do 500 μm subgingivalno. Na
kontrolnoj strani nisu zabeleženi površni depoziti fluorida. Oslobađanje jona
fluora iz ovih akumulacija, najverovatnije u obliku CaF_2 može da bude od-
govorno za usporenu maturaciju dentalnog plaka.

Ključne reči: aminfluoridi, elektronska sonda, gingivitis

UVOD

Aminfluorid je uveden u preventivnu stomatologiju od strane Mülle-
mana i saradnika. (1) Eksperimentalna i klinička ispitivanja su pokazala
superiornost organskih fluorida u zaštiti gledi od kariogenih noksi kao
i u direktnom dejstvu na zubni plak. (2, 3, 4) Nalazi su veoma protivureč-
ni kada je reč o mogućem efektu na redukciju gingivalne inflamacije. (5,
6, 7, 8) Eksperimentalna istraživanja u in vitro uslovima jasno su pokazala
sposobnost organskih fluorida da utiču na proces maturacije zubnoga
plaka. (9, 10). Vojinović i saradnici potvrđuju ove rezultate i na humanom
modelu in vivo. (12) Prihvatajući svojstva organskih fluorida da se pro-
duženo zadržavaju na površini zuba (4) postavljen je i cilj ovoga rada:
pokušaj da se eksperimentalno dokaže sposobnost i retencija fluorida na
subgingivalnoj gledi posle četkanja zuba želeom na bazi aminfluorida.

MATERIJAL I METOD

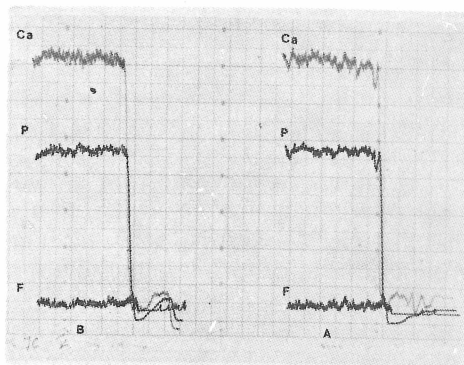
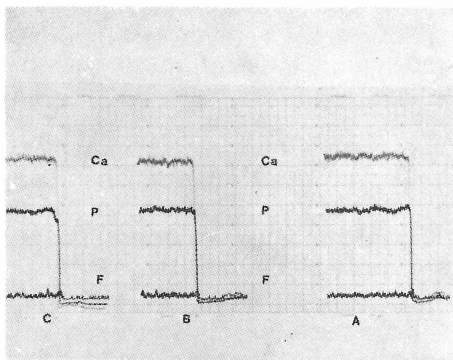
Eksperiment je sproveden na psima rase jazavčar starosti oko 4 meseca kod kojih nije izvršena smena zuba u bočnoj regiji. Svi mlečni zubi su bili već rasklaćeni sa veoma izraženim krvavljenjem pri najmanjem dotiru gingive sa WHO paradontalnom sondom. Jedanput nedeljno vršeno je četkanje svih zuba pomoću srednje tvrde zubne četkice marke »Dr Bee Young BB-122«, Japan. Jedna četkica je korišćena samo za jednu seansu. Zubi su četkani kombinovanom kliznom i vibracionom-Bassovom metodom (3) Gornja i donja vilica su podeljene a levu i desnu polovinu; jedna strana je bila kontrolna gde su zubi samo četkani, bez zubne paste, u trajanju od 3 minuta sa podjednakim zadržavanjem na svakoj površini oralno i vestibularno. Druga strana je bila eksperimentalna i na nju je uz četkanje na zube nanošen žele Aminfluorid^R (Podravka-Belupo). Za vreme seanse životinja je bila blago sedirana, posle čega nije dozvoljeno unošenje tečnosti i hrane u trajanju od 5 časova. U ostalom periodu obezbeđivana je hrana kašaste konzistencije i voda sa sadržajem od 0,1 ppm fluorida. Eksperiment se sprovodio sve dok nije izvršena kompletna smena premolara i molara i dok stalni zubi nisu dostigli okluzalnu ravan, što je iznosilo oko 5 nedelja. Životinje su žrtvovane nedelju dana posle poslednjeg četkanja s tim što je sondiranje sulkusa vršeno 24 časa pre žrtvovanja. Pre žrtvovanja, velikom dozom anestetika (Kethalar^R), na molarima u gleđi je pomoću turbo bušilice i tankog dijamantskog fisurnog svrdla urezan cirkumferencijalni žljeb u ravni slobodne ivice marginalne gingive. Posle žrtvovanja molari su odvojeni od kosti i mekog tkiva, kroz korenje je izvršena ekstirpacija pulpe i zatim su fiksirani u 4% rastvoru glutaraldehida u toku narednih 24 časa posle čega je vršeno ispiranje i dehidracija u uzlaznoj seriji alkohola. Ulaganje u bioplastičnu masu na bazi polistirena izvršeno je prema metodi Boivin i Band-a (13). Uloženi zubi su zatim sagitalno presećani na isečke koji su sadržavali supra i subgingivalnu gleđ čiju je granicu označavao urezani žljeb. Glačanje površine je vršeno pomoću serije kamenova za poliranje uz minimalno vlaženje vodom. Preparati su zatim neparivani prahom ugljenika.

Dobijeni isečki debljine oko 400 mikrona su analizirani pomoću elektronske sonde (electron probe-EMX Schimadzu, Japan) pri naponu od 20 KV i jačinom struje u uzorku od 0,05 μ A. Registrovanje je vršeno pri brzini kretanja uzorka od 20 μ m/min započinjući od površine gleđi do dubine od 60 μ m. Registrovanje je vršeno na oralnoj i vestibularnoj površini molara kako eksperimentalne tako i kontrolne strane. Na tri kanala istovremeno je određivana zastupljenost kalcijuma, fosfora i fluorida na tačkama udaljenim 250—300 μ m supra i subgingivalno od žljeba. Nalaz je beležen na milimetarskoj traci.

REZULTATI

Na slici 1. prikazan je nalaz specifične X-emisije za Ca, P i F karakterističan za sve isečke iz kontrolne grupe. Ne uočavaju se značajne

razlike u distribuciji Ca i P između supra i subgingivalnog predela, ali ni u odnosu na dubinu slojeva gleda. Zastupljenost fluorida je homogena minimalna tako da ne reprezentuje stvarni sadržaj ovoga elementa u gleda. Ne uočava se bitnija razlika između supra i subgingivalnog predela. Na Sl. 1 a ne uočava se povećanje koncentracije fluorida u površnim slojevima ni na udaljenosti od 3000 μm od marginalne ivice gingive. Nisu uočene razlike između oralne i vestibularne površine.



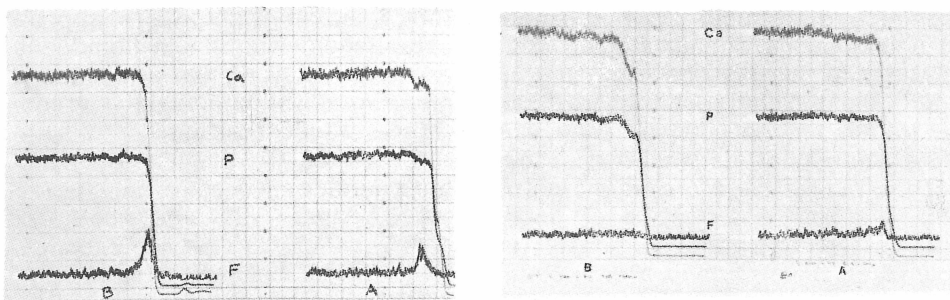
Karakterističan nalaz analize pomoću elektronske sonde za kontrolne površine. Ca-kalcijum, P-fosfor, F-fluoridi

Slika 1a) supragingivalni predeo: A-500 μm , B-1500 μm , C-3000 μm udaljenosti od slobodne ivice marginalne gingive

Slika 1b) subgingivalni predeo: A-250 μm , B-500 μm , od slobodne ivice marginalne gingive u gingivalnom sulkusu (jedan kvadratić milimetarske podele — 5 mm odgovara dubini od 60 μm)

Slika 2. označava karakterističan nalaz za sve isečke iz eksperimentalne grupe. Ne postoje razlike u distribuciji Ca i P u supragingivalnom predelu u odnosu na kontrolnu grupu kada je reč o većim udaljenostima od marginalne gingive. Na pojedinim isečcima na udaljenosti od 300 μm Ca je nešto nepravilnije zastupljen sa slabijom emisijom u prvih 10 μm gleda. Izražen je pik emisije koja odgovara fluoridima u prvih 20 μm . On se podudara sa nepravilnom zastupljenošću kalcijuma. Ovaj pik fluorida je još izraženiji kada je merenje vršeno više prema okluzalnoj površini. Na Sl. 2a ta je udaljenost od 1300 μm od marginalne gingive. Ipak, pojačana emisija X-zraka koja odgovara fluoridima brzo se posle 20 μm vraća na nivo zabeležen kod kontrolne grupe.

Slika 2b predstavlja nalaz u subgingivalnom predelu na udaljenosti od 300 μm i 1300 μm od ivice marginalne gingive. Karakteristično je da se na dubini sulkusa od oko 1000 μm ne uočavaju bitnije razlike kod distribucije Ca i P u odnosu na kontrolnu grupu. U površnim slojevima gleda na većoj dubini Ca i P joni su manje zastupljeni u prvih 20 μm . Kada je reč o fluoridima pojačana emisija je zabeležena u najpovršnijim slojevi-



Karakterističan nalaz za eksperimentalne površine

Slika 2a) supragingivalni predeo: A-300 μm , B-1300 μm udaljenost od slobodne ivice gingive

Slika 2b) subgingivalni predeo: A-300 μm , B-1300 μm u gingivalnom sulkusu

ma na udaljenosti do 500 μm . Ona ni u jednom slučaju nije dostizala vrednost zabeleženih impulsa u supragingivalnom predelu.

Potrebno je napomenuti da su sve ispitivane površine kako na kontrolnoj tako i na eksperimentalnoj strani odgovarale jedinicama zuba kod kojih pri kliničkom pregledu nije registrovano krvavljenje pri sondiranju.

DISKUSIJA

Analiza prisustva pojedinih elemenata u preparatima mineralizovanih tkiva, pomoću elektronske sonde bazirana je na registrovanju sekundarnih rendgenskih zraka specifične talasne dužine. Preparat gleda se bombarduje elektronima sa ubrzanjem od 20 KV koji izbacuju elektrone iz putanje $K \alpha$ kada je reč o Ca i P. Prazan prostor se popunjava elektronima iz višeg nivoa što je praćeno oslobađanjem energije u vidu X zraka. Pojedini kristali su u stanju da registruju specifične talasne dužine i na osnovu broja impulsa semikvantitativno prikazuju zastupljenost odgovarajućeg elementa. Kada je reč o fluoridima impulsi se registruju iz pozadine pa je i nalaz manje specifičan. (13)

U postavci našeg eksperimenta od primarnog značaja je bilo utvrđivanje postojanja razlike u zastupljenosti elemenata Ca, P i F između kontrolne i eksperimentalne strane. Dobile vrednosti su nešto manje od stvarnih koncentracija zbog samog procesa priprema mada je ispiranje vodom vršeno u najmanjoj mogućoj meri.

Zastupljenost Ca i P ne razlikuje se bitno na eksperimentalnoj i kontrolnoj strani u supragingivalnom predelu. Kako se radi o zubima čija marginalna gingiva nije pokazivala znake inflamacije možemo smatrati da akumulacije zubnog plaka nisu dospevale u zrelu fazu i time ometale proces egzogene maturacije gledi. Proces maturacije površnih slojeva gledi u kome se povećavaju preeruptivne koncentracije kalcijuma i fos-

fata, na humanim zubima je najintenzivniji u prvih 6 meseci po nicanju. (14) Slični podaci ne postoje za zube pasa, ali možemo smatrati da se period od 5 nedelja nalazi u tome rasponu. Potrebna su mnogo detaljnija ispitivanja da bi se doneli precizni zaključci o stvarnom uticaju lokalno nanošenih organskih fluorida na povećanje zastupljenosti Ca i P tokom posteruptivne faze maturacije gleđi.

Nalaz Driessena i saradnika (14) potvrđen je u subgingivalnom predelu na udaljenosti od ulaza u sulkus više od 1000 μm . Očigledan je niži nivo emisije koja odgovara zastupljenosti Ca i P jona u prvih 20 μm . Sličan nalaz je dobijen i kod Wöltgensa i saradnika (15). Podudarnost strukture površnih delova subgingivalne gleđi sa supragingivalnim predelom za sada može da se objasni jedino uticajem sulkusne tečnosti koja doprinosi razmeni jona, za razliku od delova gleđi prekrivanih pripojnim epitelom. Odsustvo zapaljenja može samo da pogoduje procesu maturacije. Blag pad koncentracije Ca u površnim slojevima na pojedinim isečcima u predelu neposredno uz marginalnu gingivu može da se tumači morfološkim specifičnostima. Weatherell i saradnici (16) opisuju različitu distribuciju fluorida i drugih elemenata u predelu bukalnog sulkusa na različitim zubima u istoj usnoj duplji.

I pored nižih vrednosti registrovane emisije fluorida nalaz je nedvosmislen kada je reč o zubima tretiranim aminfluorid želeom. Izraženi pik u najpovršnijim slojevima gleđi ukazuje na depozite fluorida koji su u potpunosti odsutni sa kontrolnih površina. Većina dosada objavljenih istraživanja različitim metodologijama ukazuje na posle tretmana sa aminfluoridom dolazi do stvaranja depozita CaF_2 (17, 18, 19) na površini gleđi i udubljenjima prizmi. Ovi depoziti uslovljavaju ugradnju fluorida u gleđ u koncentracijama koje su i do 6 puta veće u odnosu na tretman sa NaF, SnF_2 , ili monofluorfosfatom (4). Zabeležena je i manja rastvorljivost precipitata CaF_2 posle dejstva aminfluorida u odnosu na natrijumfluorid. (20) Depoziti CaF_2 se na površini gleđi zadržavaju u periodu od nekoliko dana do 5 nedelja. (17, 21) Gubitak fluorida je daleko manji iz predela pukotina i defekata na površini gleđi (17) koji su brojni kako u supragingivalnom tako u subgingivalnom predelu. (11, 22)

Pri tumačenju naših rezultata potrebno je imati na umu samu postavku eksperimenta, gde je analiza vršena 7 dana posle poslednje seanse četkanja. Odsustvo depozita fluorida u površnim slojevima na kontrolnim zubima ukazuje na nedovoljnost jona oslobođenih u pljuvačku po nanošenju želea da se u znatnoj meri deponuju na netretiranim zubima. Pojava fluorida samo u najpovršnijim slojevima gleđi (prvih 10 μm) govori da u in vivo uslovima penetracija u dubinu nije toliko izražena koliko bi se moglo očekivati zbog veće poroznosti gleđi tek izniklih zuba. Semikvantitativna analiza pomoću elektronske sonde ne pruža precizno registrovanje koncentracije fluorida u pojedinim slojevima čime se ne isključuje mogućnost prodora lokalno nanešenih fluorida i do većih dubina jer su koncentracije ovoga oligoelementa u hrani i vodi za piće bile minimalne.

U odnosu na osnovni cilj našeg eksperimenta može da se diskutuje dobijeni nalaz u odnosu na zabeleženu redukciju inflamiranih površina marginalnog parodonticijuma kako u ovoj tako i u drugim studijama na humanom materijalu. (12) Već duže vreme je poznato da lokalno nanošenje fluorida na gleđ usporava stvaranje zubnog plaka (23) i njegovu maturaciju (4, 12), Depoziti CaF_2 iz kojih se postepeno oslobađa jon fluora mogu značajno da menjaju mikrosredinu uz marginalnu gingivu i utiču na metaboličke procese u supragingivalnom plaku. Pik fluorida je zabeležen u subgingivalnom delu maksimalno do $500 \mu\text{m}$ prema apikalno to odgovara nalazu o dubini prodora vrha snopova četkice za zube u gingivalni sulkus (23) Ovi subgingivalni depoziti su isključivo posledica mehanički nanesenog želea, i oni mogu da predstavljaju znatnu prepreku migraciji subgingivalnog plaka u sulkus. Ipak pri tumačenju rezultata treba imati na umu da je četkanje započelo pre smene zuba i da je moglo da utiče na organizaciju mikrobne fluore i da je permanentno obnavljanje depozita CaF_2 sedmičnim nanošenjem u stanju da održava uspostavljenu ravnotežu.

Radovi Axelssona i Lindhe (24) su pokazali i da samo mehaničko uklanjanje plaka može u podjednakoj meri da redukuje gingivalnu inflamaciju bez obzira da li su korišćeni lokalni nanošeni fluoridi. Oni su u svojoj studiji koristili preparate neorganskih fluorida za koje je dokazano da se brže oslobađaju sa površine gleđi. Redukcija inflamiranih jedinica i na kontrolnoj strani u našem istraživanju potvrđuje ovaj nalaz. Prisustvo organskih fluorida potpomaže neutralizaciju dejstva plaka u onim predelima gde četkanje zuba nije bilo dovoljno efikasno, a od posebnog značaja bi bilo za lokalizacije ili osobe sa posedovanjem do sada nerazjašnjenih faktora rizika prema razvoju parodontalnih obolenja. Za ovu tvrdnju potrebni su novi eksperimentalni i klinički dokazi pre svega iz longitudinalnih studija.

ZAKLJUČCI

Ovim istraživanjem je potvrđeno da se pri sedmičnom četkanju sa Aminfluorid^R želeom na supragingivalnoj površini gleđi i subgingivalno do dubine sulkusa od oko $500 \mu\text{m}$ stvaraju depoziti fluorida koji su u stanju da ometaju maturaciju zubnoga plaka. Ovi depoziti se zadržavaju u periodu od 7 dana i dovoljni su da obezbede rezervoar za neprekidno oslobađanje jona fluora između dve seanse četkanja čime donekle i objašnjavaju najizraženiju redukciju inflamiranih gingivalnih jedinica pri korišćenju želea na bazi organskih fluorida.

Istraživanje je finansirano od strane SIZ za nauku SAP Vojvodine u sklopu teme »Biološki i socijalno-medicinski aspekti parodontalnih oboljenja kod dece i mladih osoba«

EXPERIMENTAL TESTING UPON THE EFFECTS OF ORGANIC FLUORIDES IN THE GINGIVAL INFLAMATION PREVENTION

Summary

The possible mechanism of Aminfluoride action in the inhibition of plaque maturation is presented in the paper. Experiment was performed on dogs during the eruption of permanent molars. Experimental side was brushed with Aminfluoride^R gel and control without any paste during 5 weeks. The groove in the enamel representing a border between supra and subgingival surface was prepared. The enamel was investigated by means of electron probe for elements Ca, P and F. The presence of fluoride in the surface layers was determined on the experimental side supragingivali and subgingivali till the depth of 500 in the sulcus. A release of fluorides from these deposits could be responsible for deterioration of plaque maturation and gingivitis prevention.

Key words: aminfluoride, electron probe, gingivitis

Literatura

- MÜHLEMAN HR, SCHMID H, KÖNIG KG. Enamel solubility reduction studies with inorganic and organic fluorides. *Helv Odont Acta* 1957; 1:23—33.
- RAJIĆ Z. i saradnici: Dječja i preventivna stomatologija, JUMENA, Zagreb, 1985.
- TATIĆ E, MILUTINOVIĆ M, VOJINOVIĆ J. Preventivna stomatologija u praksi, Naučna knjiga, Beograd, 1985.
- SCHMID R, BURLEKOW F, MÜHLEMAN HR, VESCHI PD. Amin fluoride and monofluorophosphate, I i III, *J Dent Child* 1984; 51:107—115.
- PERRY DA. Fluorides and periodontal disease: A review of literature. *J West Soc Periodontol* 1982; 30:92.
- RINGLELBERG ML i saradnici: Results of gingival plaque and stain assessments after 30 months use of Aminfluoride and their inorganic counterparts, *Pharmacology and Therapeutics in Dentistry* 1979; 4:27—31.
- HEFTI AF, HUBER B. The effect on early plaque formation, gingivitis and salivary bacterial counts on mouthwashes containing hexetidin/zin, aminfluoride/tin or chlorhexidine. *J Clin Periodontol* 1987; 14:515—518.
- VOJINOVIĆ J i saradnici: Organski fluoridi u profilaksi gingivitisa kod djece u pubertetu, *Acta stomatol Croat* 1987; 21:303—311.
- KAVANAGH BJ i saradnici: In vitro plaque prevention with fluorides. *J Periodontol* 1974; 45:314—315.
- TURESHY BJ i saradnici: In vitro chemical inhibition of plaque formation. *J Periodontol* 1972; 43:263—269.
- VOJINOVIĆ O i saradnici: Biologija zuba, Naučna knjiga, Beograd, 1986.
- VOJINOVIĆ J, TATIĆ E, PINTARIĆ J. Uticaj aminfluorida na morfogenezu subgingivalnog plaka kod mladih osoba, *Acta stomatol Croat* 1987; 21:15—24.
- BOIVIN G, BAND CA. Microradiographic methods for calcified tissues, iz Dickson (urednik): *Methods of calcified tissue preparation*. Elsevier, Amsterdam 1984.
- DRIESSEN FCM, HEIJLIGERS HJM, WÖLFGENS JHM. Post-eruptive maturation of tooth enamel studied with the electron probe. *Caries Res* 1985; 19:390—395.
- WÖLFGENS JHM i saradnici: Changes in the composition of human premolar teeth shortly after eruption. *Arch Oral Biol* 1981; 26:717—719.
- WEATHERELL JA, STRENG JP, ROBINSON C. Availability of fluoride at different sites in buccal sulcus. *Caries Res* 1988; 22:129—133.

17. NELSON DGA, JONGEBLOED WL, ARENDS J. Morphology of enamel surface treated with topical fluoride agents: SEM consideration. *J Dent Res* 1983; 62:120—128.
18. NELSON DGA i saradnici: Crystallographic structure of enamel surface treated with topical fluoride agents: TEM and XRD consideration. *J Dent Res* 1984; 63:6—12.
19. DUSHCHER H, UCHTMANN H. Effect of sodiumfluoride, SnF_2 , amin hydrofluoride and sodium monofluorophosphate on the formation of precipitates adhering to bovin enamel. *Caries Res* 1988; 22:65—71.
20. MÜHLEMANN HR. Aminfluoride und ihre Anwendung. *Dt zahnärztl Z* 1983; 38:3—5.
21. MELLBERG JR, LAAKSA PV, NICHOLSON CR. The acquisition and loss of fluorides by topically fluoridated human tooth enamel. *Arch Oral Biol* 1956; 11: 1213—1220.
22. VOJINOVIĆ J, TATIĆ E, GANTAR M. Ispitivanje morfologije supra i subgingivalnog dentalnog plaka SEM-om, *Stomatol glas* Srb 1986; 33:35—44.
23. HARRIS NO, CHRISTEN AG. Primary preventive dentistry, Appleton & Lange, Norwalk, 1987.
24. AXELLSON P, LINDHE J. Effect of fluoride on gingivitis and dental caries in a preventive program based in plaque control. *Commun Dent Oral Epidemiol* 1975; 3:156—160.