

UTICAJ AMINFLUORIDA NA MORFOGENZU SUBGINGIVNOG PLAKA KOD MLADIH OSOBA

Jovan Vojinović, Emil Tatić, Jasna Pintarić

Institut za stomatologiju, Medicinski fakultet Novi Sad

Primljeno: 14. 2. 1986.

Sažetak

U radu je ispitivan uticaj rastvora Aminfluorida^R (Podravka—Belupo) na morfogenezu subgingivalnog plaka. Kao eksperimentalni model su korišćeni zubi mladih osoba indikovani za ekstrakciju iz ortodontskih ili endodontskih razloga. Pre ekstrakcije u pojedine predele sulkusa ubrizgavan je rastvor organskog fluorida i tu zadržavan 24 časa i 7 dana. Vađenje i priprema materijala za SEM analizu je vršena specijalnom metodom kako bi se očuvala morfologija mikroorganizama i ekstraćelijskog matriksa. Dobijeni rezultati ukazuju na značajni uticaj aminfluorida na proces sazrevanja plaka i posebno na razvoj filamentoznih formi mikroorganizama čija se pojava povezuje s egzacerbacijom gingivita.

Cljučne reči: Aminfluorid, zubni plak, gingivitis,

UVOD

Dosadašnja saznanja upućuju na postojanje različitih struktura, a samim tim i drugačiju aktivnost zubnog plaka na različitim površinama zuba (1, 2). Ta razlika je od posebnog značaja u tumačenju patološkog dejstva subgingivalnog plaka. Klinička i patohistološka ispitivanja su pokazala direktnu zavisnost razvoja zapaljenskih promjena u marginalnom parodonticijumu od sazrevanja bakterijskih akumulacija (2, 3, 4, 5). Mikrobiološka ispitivanja su ukazala da je za razliku od karijes aktivnih naslaga u supragingivalnim predelima kod napredovanja parodontalnih lezija neophodno i prisustvo specifične mikrobne flore. To se pre svega odnosi na gram negativne, anaerobne, spiralne i često pokretne forme (2, 6, 7). Za njihovu organizaciju neophodno je prethodno prisustvo supragingivalnog plaka u kome dominiraju gram pozitivni koki, ali isto tako i formiranje specifičnih uslova u gingivalnom sulkusu. (2)

Klinička ispitivanja su jasno potvrdila da redovno uklanjanje akumulacija zubnog plaka s gingivalnog ruba može da održava marginalni parodonticijum u stanju kliničkog zdravlja ili da ga u takvo stanje vrati posle faze ma-

nifestne inflamacije (4, 8, 9). Eksperimenti na psima, gdje je veoma precizno i redovno vršena kontrola zubnog plaka (10) uvodili su marginalnu gingivu u stanje »histološkog zdravlja« (11). Kod čoveka ono se retko sreće jer je određeni stepen subkličičke inflamacije ispod pripojnog i sulkusnog epitela prisutan i u slučajevima klinički zdrave gingive kao znak nedovoljno efikasne epitelne barijere prema prodoru imunogenih materija (12). Savremena shvatanja tumače postojanje i izraženost gingivalnog sulkusa kao direktnu posledicu razvoja plakom izazvanih zapaljenskih reakcija (11).

U poslednje vreme se pored mehaničkog uklanjanja plaka s površine zuba i iz interdentalnih prostora sve više ispituje i mogućnost hemijskog delovanja na njegov razvoj i metabolizam. Ispitivane su mnogobrojne substance od kojih su širu primenu stekle dve grupe: 1) površinski aktivni antiseptici (hlorhexidin) i 2) neorganski preparati fluora (NaF, SnF₂ i sl.) (9). Uvođenjem organskih fluorida donekle se spajaju aktivni principi ovih dveju grupa (13, 14). Evidentni su rezultati dejstva organskih fluorida u redukciji karijesa (15). Novija istraživanja ukazuju i na mogućnost smanjenja paradontalne reakcije na dejstvo zubnog plaka (16). Zanimljive su naše kliničke studije u kojima je tokom trogodišnjeg provođenja preventivnog programa s Aminofluorid želeom (Podravka Belupo) dobiveno signifikantno smanjenje gingivalnih oboljenja pri čemu je indeks oralne higijene čak i pogoršan. U kontrolnim grupama gde nisu kontrolisano i redovno korišćeni organski fluoridi, uporedo s pogoršanjem indeksa oralne higijene povećana je i prevalenca i težina gingivalne inflamacije (17, 18). Cilj našeg istraživanja u ovome radu je da na osnovu in vivo praćenja morfogeneze sub i supragingivalnog plaka pokušamo da objasnimo gore navedene paradoksalne rezultate kod korišćenja organskih preparata fluora.

MATERIJAL I METODA

Kao eksperimentalni model za praćenje morfogeneze supra i subgingivalnog plaka odabrani su premolari i molari mlađih osoba (10—16 godina) indikovani za ekstrakciju iz ortodontskih ili endodontskih razloga. Pri tome se vodilo računa da budu očuvane najmanje tri površine i da je gingiva bez patoloških promena izuzimajući hronični kataralni gingivitis. Ukoliko su zbog prisutnog oboljenja pulpe ili parodontcijuma postojali akutni klinički simptomi prethodno je ukazivana prva pomoć. Parodontalni status je ispitivan na osnovu CPITN indeksa (8, 15, 21) i to na 6 tačaka: meziovestibularno, distovestibularno, mezijalno, distalno, meziooralno i distooralno. U slučajevima gde je otkriveno prisustvo kalkulusa na vestibularnoj površini pažljivo je vršena subgingivalna kiretaža samo jedne polovine te površine. Sulkus je ispiran fiziološkim rastvorom. Po prestanku krvavljenja na vestibularnu površinu je putem brizgalice unošena mala količina rastvora Aminofluorida R (Podravka-Belupo). Ostaie površine su služile kao kontrolne. Ekstrakcija je zakazivana 24 časa i 7 dana po unošenju organskog fluorida u sulkus. Pre vađenja zuba ponovo je ispitivan klinički status marginalnog

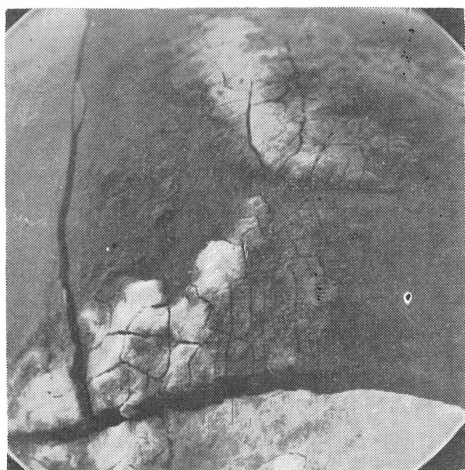
parodontcijuma. Samo vađenje je vršeno specijalnom tehnikom Vojinović i saradnici (19) kako bi se očuvala marginalna gingiva i subgingivni predeo. Fiksacija je vršena u 10% neutralnom formalinu u trajanju od nekoliko nedelja. Priprema za SEM analizu je obuhvatala specijalni postupak sa ciljem da se pored osnovne morfologije mikroorganizama očuva i struktura ekstraćelijskog polisaharidnog matriksa (19, 20). Dehidratacija je mesto u alkoholima vršena s tečnim azotom u vakumu. Potom je sa površine zuba uklanjan marginalni parodontcijum i sve površine presvlačene zlatnim prahom u vakuum neparivaču. Analiza je vršena u mikroskopu marke JEOL SM 35 na uvećanjima od 30 do 10.000 puta. Ukupno je analizirano po 10 površina za svaki observacioni period.

REZULTATI

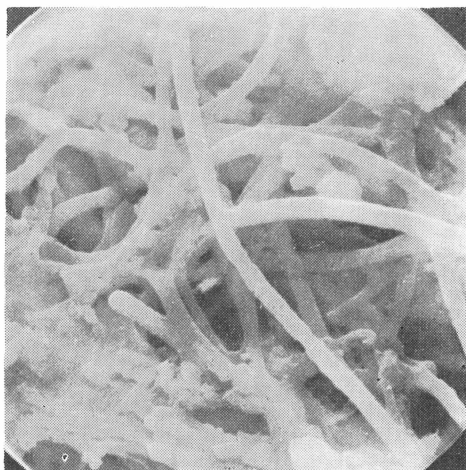
Prilikom registrovanja vrednosti CPITN indeksa pomoću specijalne parodontalne sonde (21, 15, 8) na svim ispitivanim površinama zabeleženo je izraženo zapaljenje marginalne gingive manifestovano obilnim krvavljenjem. Na određenom broju površina, i to pretežno vestibularnim registrovano je i prisustvo subgingivalnih kalkulusa. Ni u jednom slučaju nisu postojale vidljive supragingivalne naslage, mada je registrovano obilno prisustvo plaka i materije albe. Prisustvo subgingivalnih granulacija je bilo direktno povezano sa obimom krvavljenja pri sondiranju. Ponovna provera stanja marginalnog parodontcijuma posle 24 časa i 7 dana nije pokazala prestanak krvavljenja po sondiranju, mada je intenzitet bio nešto manji u tretiranim sulkusima. Na mestima gde je registrovano prisustvo subgingivalnih kalkulusa nalaz je bio pozitivan. Na mestima gde su pre unošenja rastvora Aminofluorida R uklonjeni kalkulusi, oni se više nisu registrovali pri sondiranju sulkusa.

Skening mikroskopska analiza kontrolnih površina, na kojima nije preduziman nikakav tretman niti je nanošen rastvor Aminofluorida R, pokazuje obilne akumulacije zubnoga plaka. One se javljaju u vidu nepravilnih plaža sa predelima gledi prekrivenim tanjim slojem koka zarobljenih u polisaharidni matriks između njih. (Slika 1) Na većim uvećanjima u ovome plaku dominiraju filamentozne forme (Slika 2.) s bogatim sluznim matriksom i kokama ispod i između njih. Opisana slika je naročito izražena u subgingivalnim predelima aproksimalnih površina, koji su i odgovarali zonama sa najizraženijim krvavljenjem prilikom sondiranja.

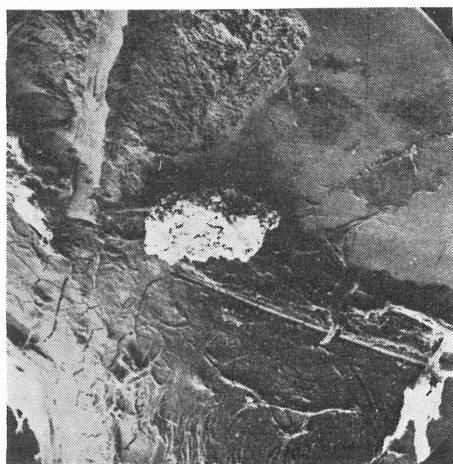
Na kontrolnim površinama gde je prilikom sondiranja klinički registrovano postojanje subgingivalnih kalkulusa, ono je potvrđeno i na elektromikrofotografijama. Proces pripreme materijala za SEM analizu mogao je dovesti do odlamanja delova kalkulusa ali otisci na površini kao i manji fragmenti potvrđuju njihovo prisustvo (Slika 3a). Površina ovakvih kalkulusa je prekrivena slojem aktivnog nemineralizovanog plaka. Primećuju se pretežno koki, veće sferične forme koje bi mogle da odgovaraju i pojedinim gljivicama, ali i obilje eritrocita zapletenih u pakovani matriks. (Slika 3b).



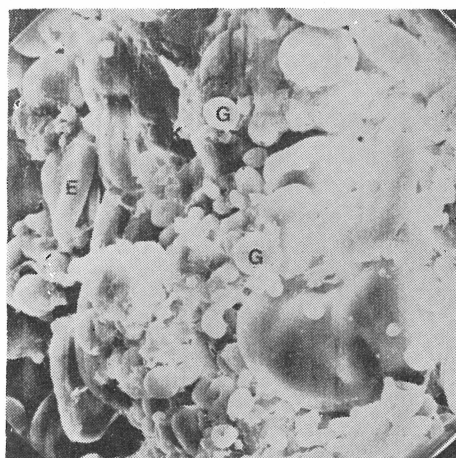
Slika 1. Plak na aproksimalnoj površini molara netretiranoj Aminfluoridom^R 30 X



Slika 2. Filamentozni mikroorganizmi na površini plaka (predeo sa Sl. 1. 7200 X

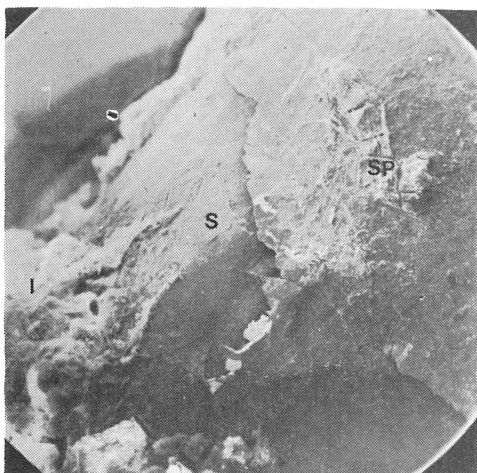


Slika 3a. Kalkulus u subgingivnom predelu 30 X

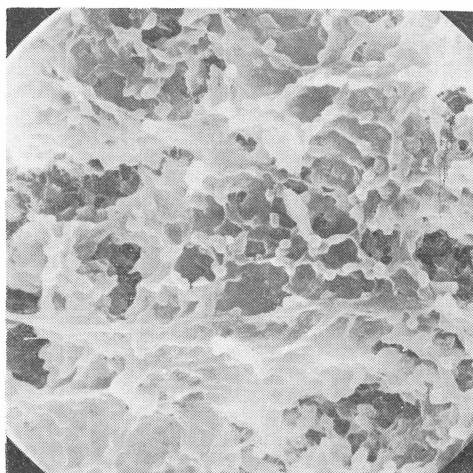


Slika 3b. Površina kalkulusa: E-eritrociti, K-koki, G-gljivice (?) 1000 X

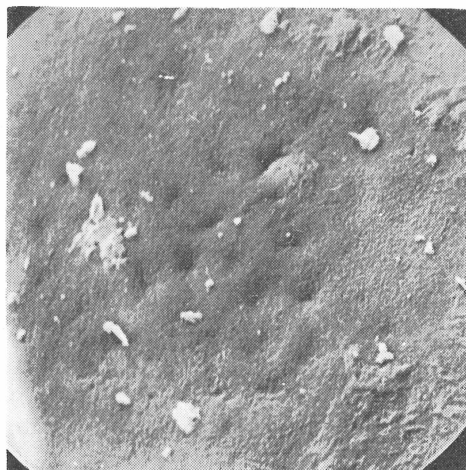
Subgingivalne površine tretirane aminfluoridom pokazuju odsustvo većih plakovnih akumulacija. Uglavnom se radi o manjim plazama sa pojed-



Slika 4. Predeo zuba tretiran Aminfluoridom^R posle 7 dana (vestibularna površina): I-epitelna insercija, S-subgingivalni plak, 20 X



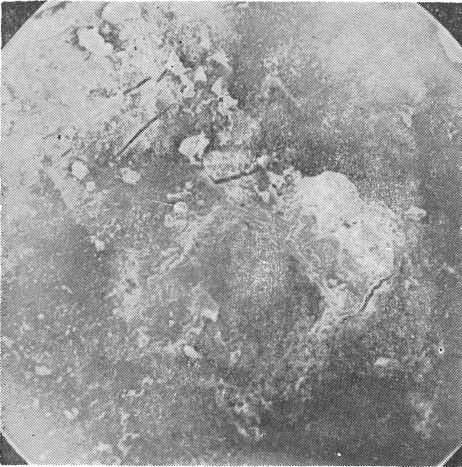
Slika 5. Supragingivni predeo tretiran Aminofluoridom^R posle 24 časa, 4000 X



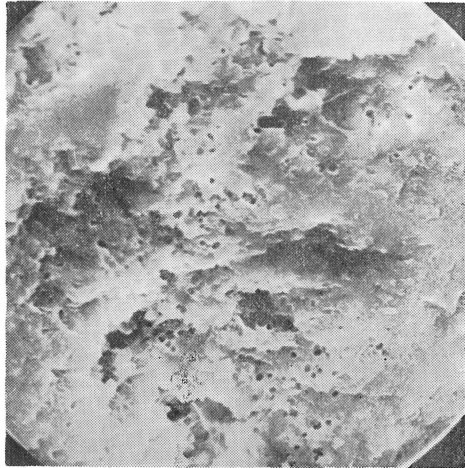
Slika 6. Subgingivni predeo ispod površine sa s 1.5., 1800 X

načnim kokima posle 24 časa ili nešto bogatijem matriksu bez prisustva filamentoznih mikroorganizama posle 7 dana. Za razliku od supragingivalnih površina gde dominiraju veće akumulacije koka (Slika 4 i Slika 5.) subgingivalni predeli su uglavnom čisti s jasno naznačenim anatomskim strukturama površine gleđi kao što su perikimata (Slika 6.)

U predelima gde su subgingivalni kalkulusi uklonjeni njihovo prisustvo nije potvrđeno na SEM-u. Subgingivalne površine tretirane rastvorom Aminfluorida na kojima su zadržani kalkulusi pokazuju veoma zanimljivu sliku (Slika 7a). Njihove površine ne poseduju sloj aktivnog nemineralizovanog plaka posle 24 časa tako i posle 7 dana (Slika 7b.)



Slika 7a. Subgingivalni kalkulus na površini tretiranom Aminfluoridom^R posle 7 dana, 78 X



Slika 7b. Površina kalkulusa sa Sl. 7a. 2600 X

Poređenje morfologije supra i subgingivalnog plaka na eksperimentalnim površinama od 24 časa i 7 dana ne pokazuje bitne razlike u strukturi mikrobnih akumulacija. Na osnovu ovakvih grubih posmatranja može se jedino utvrditi postojanje nešto obimnijih nezrelih oblika plaka supragingivalno kod starijih površina.

Na svim ispitivanim površinama registrovano je obilno prisustvo eritrocita zapletenih u matriks plaka. Oni su mnogo ređi na čistim površinama. U subgingivalnom predelu su takođe registrovani i limfociti i polimorfonukleari.

DISKUSIJA

Dosadašnja ispitivanja subtilnih biohemijskih i biofizičkih fenomena odgovornih za formiranje i sazrevanje zubnoga plaka upućuju na interakciju mikroorganizama iz grupe koka sa površinom gleđi prekrivene zaštitnim filmom pelikule (22). Istraživanja raznih faza morfogeneze plaka uglavnom su se ograničavala na in vitro uslove ili sintetske modele (22, 23). Sticanjem osnovnih saznanja bilo je moguće preorijentisati se na in vivo model (19) u kome deluje mnogo složenija sprega predisponirajućih faktora. Poznavanjem različitih aspekata razvoja subgingivalnog plaka (biohemijski, mikrobiološki, TEM i SEM aspekti) može se pratiti uticaj pojedinih agenasa na proces sazrevanja.

Iako je CPITN indeks prvenstveno namenjen za globalna epidemiološka ispitivanja jer ne diferencira precizno stepene oštećenja parodontijuma u uznapredovalim fazama parodontopatija, mi smo ga odabrali za naša istraživanja zbog objektivnosti na osnovu koje se mogu registrovati početne kliničke reakcije marginalnog parodontijuma. To se posebno odnosi na test krvavljenja i registrovanje subgingivalnih kalkulusa (18).

Od tri postojeća oblika preparata organskog fluorida (rastvor, žele i pasta) odlučili smo se za rastvor. Unošenjem rastvora u sulkus putem brizgalice ograničeno je njegovo dejstvo što je više moguće na subgingivalni predeo. Kako nam je u ovome radu isključiva orijentacija bila prema čistom hemijskom efektu Aminofluorida korišćenjem rastvora izbegnuto je mehaničko dejstvo četkanja zuba neminovno kod nanošenja želea ili zubne paste. Opisani način nanošenja rastvora svakako ne isključuje mogućnost da se određene količine substance razliju i po supragingivalnom predelu, ipak najveća koncentracija, a samim tim i privremeno vezivanje za površinu gleđi postiže se u predelu sulkusa.

Poređenje kliničkog i SEM nalaza na kontrolnim površinama u skladu je sa vladajućim stavovima o patogenezi plakom izazvanog gingivitisa. Sondiranjem je zabeleženo izraženo krvavljenje. Kako se radi o zubima za duže vreme lišenih oralnohigijenskih mera, a kod postojanja oboljenja pulpe često i aktivne mastikacije na toj strani, marginalni parodontijum se nalazio u uznapredovloj fazi zapaljenja (2). U prilog toga govore i obilne granulacije prisutne tokom kiretaže gingivalnog džepa na eksperimentalnoj površini. Nalaz nije ni malo neobičan za mlade osobe, već je u skladu s epidemiološkim ispitivanjima kod kojih se uznapredovala oštećenja marginalnog parodontijuma sreću u veoma visokom procentu i kod 12 i 15-godišnjaka u našim uslovima (24). Kako su na svim površinama plaka u ovim predelima otkrivene obimne akumulacije filamentoznih mikroorganizama možemo ih smatrati veoma bitnim za faze destruktivnih egzacerbacija.

Ako je prisustvo filamentoznih mikroorganizama jedan od bitnih morfoloških parametara patogenosti zubnoga plaka u gingivalnom predelu onda je njihovo odsustvo na eksperimentalnim površinama snažan dokaz efikasnosti ispitivanog preparata. U prilog toga govori i relativno čista po-

vršina na mestima tretiranim organskim fluoridom gde nije vršeno uklanjanje subgingivalnih kalkulusa i kiretaža gingivalnog džepa (Slika 7.). Filamentozni oblici nisu registrovani ni u supragingivalnim predelima eksperimentalnih površina ko ni na manjim plažama plaka između čistih subgingivalnih zona. To je najverojatnije posledica difuzije iz sulkusa ubrizganog rastvora Aminfluorida. Postojanje akumulacije koka i njihovo povećanje posle 7 dana upućuje da morfogeneza plaka nije u potpunosti i trajno sprečena. Svakako da se radi o ograničenom dejstvu organskog fluorida.

Prisustvom određenih količina plaka i matriksa u supragingivalnom predelu možemo tumačiti i dalje perzistiranje zapaljenja, ali u nešto blažoj formi, u marginalnom parodontijumu eksperimentalnih površina posle 7 dana. Pri tome se ne sme zaboraviti ni podatak da do restitucije oštećenja, čak i u slučajevima idealne kontrole zubnog plaka, na kliničkom nivou dolazi tek posle 3 nedelje, a histološki je potrebno i do 2 meseca, (2, 4).

Očigledni uticaj rastvora Aminfluorida R na morfogenezu subgingivalnog plaka može se objasniti na osnovu poznatih informacija o in vitro dejstvu organskih fluorida. Korišćeni rastvor aminfluorida poseduje kao aktivne principe Aminfulorid 297 i 335. Osnovne komponente organskog dela (amini) karakterišu se dugim ugljenovodičnim lancima. Molekul amina je ionskim vezama spojen sa fluorovodičnom kiselinom koja je nosilac iona fluora. Organski molekul je pozitivno naelektrisan što mu omogućava vezivanje za površinu gleđi na kojoj prevladavaju negativna naelektrisanja. Usled povećanog površinskog napona molekuli deluju na membranu bakterija uzrokujući njihovu lizu (13). Vezivanjem molekula amina otežana je absorpcija novih slojeva plaka (25), ali isto tako je izraženo i baktericidno dejstvo kako prema kariogenim subgingivalnim mikroorganizmima tako i prema bakterijama optuženim za patološko dejstvo subgingivalnog plaka (14). Neorganski fluoridi su u sličnim eksperimentima pokazivali samo bakteriostatičko dejstvo (14). Neorganska komponenta aminfluorida, joni fluora, disocira u okolinu i ispoljava poznate efekte na metabolizam plaka (1).

Dobiveni nalazi nesumnjivo govore o uplitanju rastvora Aminfluorida^R u proces organizacije subgingivalnog plaka čija je posledica njegovo ublaženo patološko dejstvo. Time možemo da delimično objasnimo smanjenje težih formi oštećenja gingive i pored sveukupnog nagomilavanja plaka u našim kliničkim nalazima (17, 18). Nova istraživanja je potrebno usmeriti u pravcu ispitivanja zrelosti samoga plaka koji se formira pod kontinuiranim prisustvom određenih količina organskih fluorida u dužem vremenskom periodu. Isto tako je od značaja i interakcija ovih preparata sa samim tkivom marginalnog parodontijuma i njihov uticaj na inicijalna oštećenja sulkusnog i pripojnog predela gingive pri pojedinim fazama sazevanja zubnoga plaka.

ZAKLJUČAK

Specijalnom pripremom humanih zuba za SEM analizu moguće je pratiti morfogenezu subgingivalnog zubnog plaka u in vivo uslovima.

Preparati organskih fluorida (aminfluoridi 297 i 335) drastično smanjuju organizaciju subgingivalnog plaka. Najvjerojatnije svojom površinskom aktivnošću uklanjaju postojeće akumulacije i dok su prisutni na površini gleđi sprečavaju stvaranje novih. Evidentno je i inhibitorno dejstvo na razvoj filamentoznih oblika mikroorganizama.

Literatura

1. ANĐIĆ J. Osnovi oralne fiziologije i biohemije, Naučna knjiga, Beograd, 1981.
2. SCHROEDER H. Pathologie oraler Strukturen, Karger, Basel, 1983.
3. LOE H, THEILADE E, JANSEN S B. Experimental gingivitis in man. J Periodontol 1965 36:177.
4. LOE H. The specific etiology of periodontal disease and its application to prevention iz Carranza, Kenney (urednici): Prevention of periodontal disease, Quintessence Publishing Co. Chicago-Berlin, 1981.
5. PAGE R C, SCHROEDER H E. Periodontitis in man and other animals. Karger, Basel, 1982.
6. LISTGARTEN M A. Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. J Periodontol 1976; 47:1.
7. WILLIAMS B C, i sar Subgingival microflora and periodontitis. J Periodontal Res 1976; 11:1.
8. WHO Epidemiology, etiology and prevention of periodontal disease, Technical Report Series No. 621, Geneva 1976.
9. FID I. The prevention of dental caries and periodontal disease, FDI Technical Report No. 20, London, 1984.
10. LINDHE J, i sar. Clinical and structural alterations characterizing healing gingiva. J Periodontal Res 1978; 13:410.
11. GOLDMAN H, COHEN D W. Periodontal Therapy (6th edition), C. V. Mosby Co. St. Louis, 1980.
12. SCHROEDER H. Orale Strukturbiologie, Thieme, Stuttgart, 1982.
13. GEHRING F. Wirkung von Aminfluorid und Natriumfluorid auf Keime der Plaqueflora. Dtsch zahnärztl Z Sonderheft 1, 1983; 38:36.
14. SCHMID H. Chemie und Oberflächenwirkung der Aminfluoride, Dtsch.zahnärztl. Sonderheft 1, 1983; 38:9.
15. RAJIĆ Z i sar. Dečja i preventivna stomatologija, JUMENA, Zagreb, 1985.
16. RENGGLI H H. Plaquehemmung durch Aminfluorid. Dtsch zahnärztl Z. Sonderheft 1. 1983; 38:45.
17. TATIĆ I saradnici. The effects of the 3 year oral health education with small groups upon the reduction of caries and gingival disease. 10th Congress of JADC, San Jose, 1985.
18. PINTARIĆ J, VOJINOVIĆ J. Effects of the systematic application of organic aminfluorid upon the condition of the periodontium in school children 73. Annual World Dental Congress of the FDI, Beograd, 1985.
19. VOJINOVIĆ J, TATIĆ E, GANTAR M. Mogućnost registrovanja morfologije supra i subgingivalnog plaka kod mladih osoba putem skeniranja elektronske mikroskopije u in vivo uslovima, SGS, 1976. (u štampi).
20. GANTAR M. Uticaj različitih priprema za SEM na izgled mikrobne sluzi. Zbornik radova sa IV Jugoslovenskog simpozijuma za elektronsku mikroskopiju. Krañnska Gora, 1983.
21. TATIĆ E, MILUTINOVIC M, VOJINOVIC J. Preventivna stomatologija u praksi. Naučna knjiga, Beograd, 1985.
22. TINANOFF N. Dental plaque on the carious process iz Stewart, Barber, Troutman i Wei (urednici): Pediatric Dentistry. C. V. Mosby St. Louis, 1982.
23. LIE T. Early dental plaque morphogenesis. J Periodontal Res 1977; 12:73.
24. RAJIĆ Z, TATIĆ E, VOJINOVIĆ J. Procjena oralnog zdravlja i potreba kod

djece u dobi od 12 i 15 godina u Za- 25. SHERN R i saradnici. Prevention of grebu i N. Sadu. Acta stom Croat 1985; plaque formation by organic fluorides. 19:143. J Oral Med 1970; 25:93.

THE EFFECT OF AMINFLUORIDE ON THE MORPHOGENESIS OF SUBGINGIVAL PLAQUE IN ADOLESCENTS

Summary

The effect of the Aminfluoride^R mixture solution (Podravka-Belupo) on the morphogenesis of subgingival plaque was studied. Teeth of young persons indicated for extraction for either orthodontic or endodontic reasons, were used as experimental models. Prior to extraction, an organic fluoride mixture solution was injected into particular areas of the sulcus and kept there for 24 h and 7 days. Extraction and preparation of the material for SEM analysis were carried out by a special method, to preserve thus the morphology of microorganisms and extracellular matrix. The results obtained point out to a significant effect a aminfluoride on the process of plaque maturation, particularly on the development of filamentous forms of microorganisms, the occurrence of which is associated with exacerbation of gingivitis.

Key words: aminfluoride, dental plaque, gingivitis