

DE ROL VAN FLUORIDEN EN DIFOSFONATEN BIJ HET ONTSTAAN EN DE REMINERALISATIE VAN 'SUBSURFACE' CARIËSLAESIES – IN VITRO

J. M. TEN CATE

*Uit de vakgroep Tandheelkundige Materiaalwetenschappen
van de Universiteit van Amsterdam.*

Trefwoorden: Cariologie – Remineralisatie – Fluoriden – Difosfonaten

Inleiding

In juni 1982 heeft een historisch congres plaatsgevonden: 'the First International Conference on the Declining Prevalence of Dental Caries'. Hier bleek dat in diverse landen gedurende het afgelopen decennium een 50% reductie in de cariësincentie had plaatsgevonden.¹⁻³ Als één van de oorzaken hiervoor wordt algemeen het toegenomen fluoridegebruik, vooral in de vorm van fluoridetandpasta's, genoemd. Een belangrijk voordeel van fluoridehoudende pasta's is waarschijnlijk dat het gebruik hiervan geen extra inspanning of aandacht vraagt zoals andere preventieve middelen. Het is dan ook niet verwonderlijk dat er nog steeds veel onderzoek gaande is om te komen tot verbetering van de tandpasta's, waardoor een nog versterkt preventief effect zou kunnen worden verkregen. Binnen Nederland heeft dergelijk werk de afgelopen jaren geresulteerd in het op de markt komen van o.m. Zendium® en Prodent Plus®. Een betrekkelijk recente ontwikkeling op het gebied van de tandpasta's is de uitgebreide research naar nieuwe actieve stoffen die, toegevoegd aan tandpasta's, ook parodontale aandoeningen kunnen voorkomen.

In dit artikel staat de werking van twee typen verbindingen in hun interacties met tandglazuur centraal. Enerzijds worden fluoriden besproken, doel hierbij is een indruk te geven van meer recente onderzoeken ten aanzien van het werkingsmechanisme. Anderzijds wordt ingegaan op difosfonaten, waarvan een beïnvloeding wordt gerapporteerd van de tandsteenvorming.

Tot slot wordt een onderzoek besproken waarin de invloed van deze stoffen, ook indien gecombineerd, op de de- en remineralisatie van glazuur is bestudeerd.

Het dynamische karakter van glazuur

Glazuur wordt meestal voorgesteld met de chemische structuurformule van hydroxylapatiet: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Toch is uit onderzoek bekend dat er vele verontreinigingen in dit gecalificeerde weefsel zijn ingebouwd of daaraan zijn geadsorbeerd. Met name zijn dit natrium-, magnesium-, carbonaat-, chloride- en fluoride-ionen. Juist deze toevoegingen die, omdat de apatietstructuur daarvoor vele mogelijkheden bezit, doorgaans gesubstitueerd zitten op de calcium-, fosfaat- of hydroxylposities in

het apatietrooster, bepalen hoe een tand zich gedraagt in haar natuurlijke milieu. Over de rol van deze verontreiniging in het tandglazuur is de laatste jaren veel gepubliceerd.⁴ De concentratieprofielen in het glazuur zijn voor alle verschillend en worden bepaald door processen tijdens de initiële glazuurvorming en pre-eruptieve maturatie. Daarnaast vinden belangrijke wijzigingen plaats als gevolg van posteruptieve reacties.

De mondvloeistof en de plaquevloeistof zijn media die alle bovengenoemde ionen bevatten, alleen in, voor verschillende individuen, wisselende concentraties. De aard van de uitwisselingsreacties tussen glazuur en de omringende vloeistof is mede afhankelijk van de zuurgraad, die door de regelmatige productie van zuren in de plaque, schommelt tussen ongeveer pH 4 en 7.⁵ Dit impliceert dat in de mond perioden van over- en onderverzadiging elkaar aflossen, waardoor het glazuur bloot staat aan een voortdurend oplossen en opnieuw neerslaan. Omdat de plaats waar ontcalciuming optreedt en ook de samenstelling van de hierbij opgeloste stof niet dezelfde zullen zijn als die tijdens de neerslagfase, leidt één en ander tot een langzame ombouw van het glazuur. In concreto betekent dit dat het gehalte aan verontreinigingen verandert. Zo neemt het carbonaatgehalte aan het anatomische oppervlak langzaam af en, behalve op plaatsen met overmatige attritie, de fluorideconcentratie juist toe. Ook vindt er aan het oppervlak door de voortdurende rekristallisatie een langzame toename van de kristallietafmetingen plaats.⁶ De processen van chemische en morfologische ombouw, die een onderdeel vormen van de posteruptieve maturatie, zorgen er in principe voor dat de zuurresistentie van glazuur met toenemende posteruptieve leeftijd langzaam toeneemt. Een tweede gevolg is dat wanneer een ernstiger of langduriger zuuraanval plaatsvindt de ontcalciuming voornamelijk onder het oppervlak aangrijpt. Dit resulteert in de welbekende glazuurlaesie of witte vlek, die wordt gekarakteriseerd door een relatief intacte oppervlaktelaag en een ten opzichte van gezond glazuur verlaagd mineraalgehalte vanaf ongeveer 30 micron onder het oppervlak.

Fluoriden

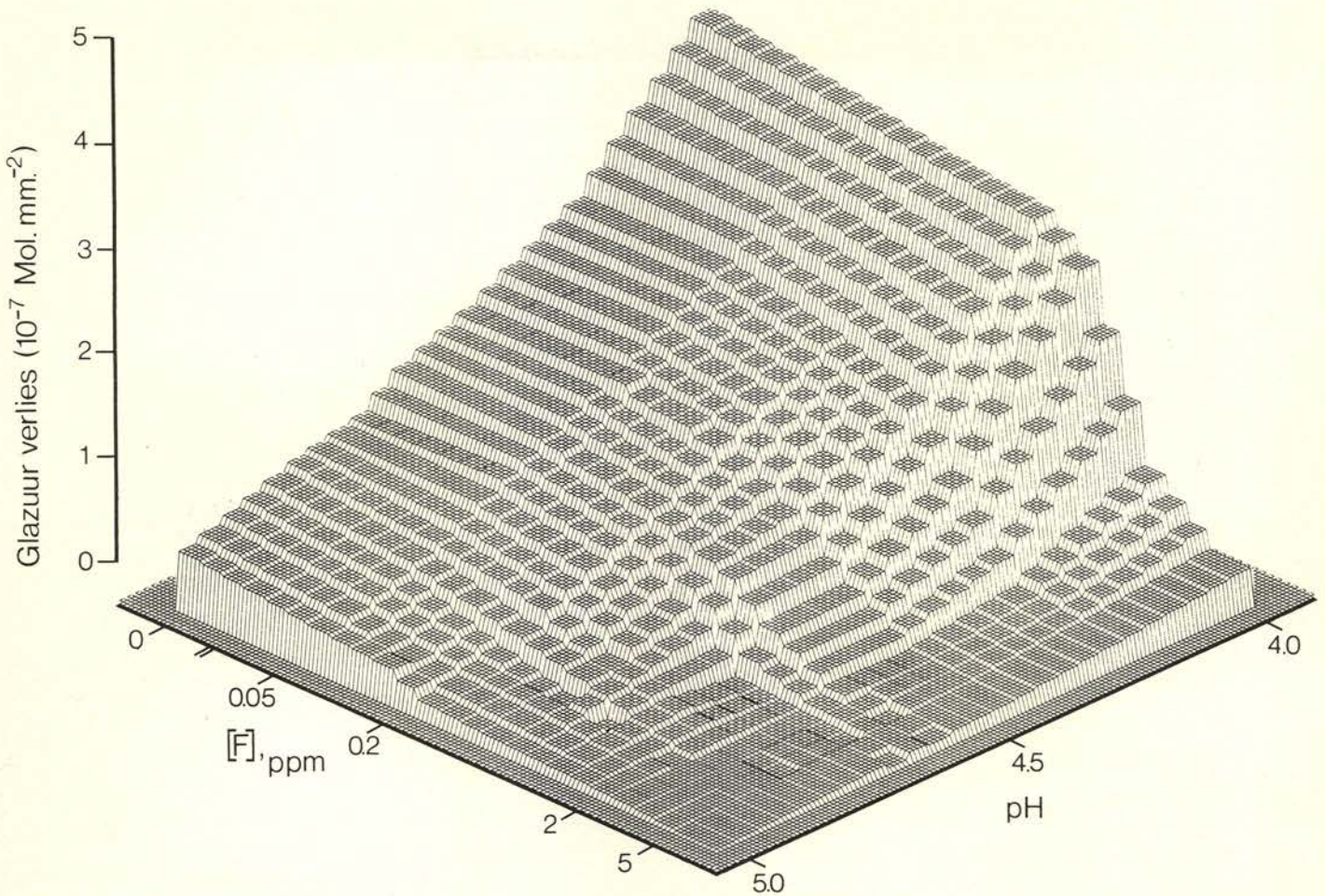
Hoewel de cariostatische werking van fluoride al lang vaststaat is er nog steeds

Samenvatting:

Een belangrijk deel van de afname van het voorkomen van cariës wordt algemeen toegeschreven aan fluoride. Uit recent onderzoek blijkt dat vooral ook het fluoride dat aanwezig is in het mondmilieu tijdens zowel de periode van de- als van remineralisatie een aanzienlijke bijdrage levert aan de cariostatische werking. Waarschijnlijk is het stimuleren van de mineraalafzetting, het veroorzaken van laesie-'arrestment', en de beïnvloeding van demineralisatie zelfs belangrijker dan de rol van het fluoride dat reeds in het glazuur is geïncorporeerd. Difosfonaten zijn potentiële remmers van tandsteenvorming, daar zij ingrijpen in het mineralisatieproces. Als nevenwerking kan echter een inhibitie van maturatie en remineralisatie optreden. Uit beschreven onderzoek blijkt dat bij voldoende lage concentratie EHDP, in combinatie met fluoride, hiervan geen sprake hoeft te zijn.

discussie over het precieze werkingsmechanisme ervan. Dit betreft niet zozeer de validiteit van verschillende hypothesen als wel de grootte van de bijdragen die deze specifieke effecten hebben. Aanvankelijk werd de cariësremming voornamelijk toegeschreven aan de verlaging van de oplosbaarheid van apatiet wanneer dit partieel wordt gefluorideerd. In theorie zal deze factor er inderdaad voor verantwoordelijk zijn dat gefluorideerd glazuur pas bij een lagere zuurgraad (enkele tienden pH-eenheden) in oplossing gaat.

Het is echter de vraag in hoeverre dit fenomeen zelf verantwoordelijk is voor een verminderde cariësgevoeligheid. Hoewel er gegevens in de literatuur bekend zijn die een relatie aangeven tussen het fluoridegehalte in glazuur en de oplosbaarheid in zuur, zijn er ook verschillende gegevens die het tegendeel laten zien.⁷ In artificiële cariëssystemen kon geen verschil worden gemeten tussen de ontcalciumingsnelheden van elementen met een verschillend fluoridegehalte, komend uit wel of niet gefluorideerde gebieden. De laatste tijd wordt daarom door steeds meer onderzoekers aangenomen dat niet het reeds geïncorporeerde fluoride primair de zuurresistentie van de tand bepaalt, doch vooral de aanwezigheid en de concentratie van fluoride in de plaque- en de mondvloeistof tijdens zowel de ontcalciumings- als de herstelperiode. Afbeelding 1 is een illustratie van de invloed van fluoride en zuurgraad op de snelheid van glazuurontcalciuming.⁸ Hieruit blijkt dat de demineralisatie bijna volledig kan worden onderdrukt door de aanwezigheid van fluoride. In het voor de plaquevloeistof relevante pH-gebied (tussen 4 en 7) ge-



Afb. 1. Glazuurverlies als functie van de zuurgraad en de fluorideconcentratie in het demineralisatiemilieu. In het pH-gebied tussen 4 en 5 kan demineralisatie worden voorkomen of vertraagd door aanwezigheid van fluoride in oplossing.

Overgenomen met toestemming van de auteurs en de uitgever (S. Karger, AG, Basel) uit referentie no.8.

schiedt dit al bij fluorideconcentraties die absoluut niet onfysiologisch zijn (0 tot 1 ppm). In dit verband dient ook de invloed vermeld te worden van fluoride op de vorm waarin de ontkalking in glazuur optreedt. Bij een onderzoek aan 'onderhuids' glazuur, wellicht overeenkomend met de situatie aan het tandoppervlak direct na eruptie, blijkt dat bij afwezigheid van fluoride in de demineralisatievloeistof glazuurlagen integraal worden geërodeerd.⁹ Alleen bij oververzadiging van het omringende milieu aan fluorapatiet vindt vorming plaats van een oppervlaktelaag zodat een 'sub-surface' laesie ontstaat.¹⁰ In het geval van glazuur waar door langdurige wisselwerking met het mondmilieu al veel fluoride-incorporatie heeft plaatsgevonden hebben we waarschijnlijk te maken met een andere situatie. Hier kan het fluoride dat nodig is voor het behoud van de oppervlaktelaag door het glazuur zelf worden geleverd. Dit betekent overigens niet dat in het onderliggende weefsel niet een sterke aantasting kan plaatsvinden.

In het bovenstaande werd reeds de beïnvloeding door fluoriden van de mineraalafzetting tijdens de herstelfase genoemd. Fluoride stimuleert inderdaad apatietafzetting, bijvoorbeeld in een witte vlek, een

mineralisatie die dan bovendien in een ge-fluorideerde vorm geschiedt.^{11 12} Hoewel de afzetting binnen een laesie hierdoor in eerste instantie wordt vergroot, blijkt een volledig herstel bij aanwezigheid van fluoride eigenlijk te worden geremd. Oorzaak hiervan is dat de precipitatie in dit geval vooral in de poriën van de oppervlaktelaag plaatsvindt, waardoor de laesiekern van het mondmilieu wordt afgesloten. Zo zal al bij lage concentraties fluoride 'arrestment' van de laesie plaatsvinden.^{13 14} De stelling dat fluoride de remineralisatie bevordert zou daarom eigenlijk moeten worden herzien. Als alternatief kan gelden: Fluoride bevordert de mineraalafzetting in het oppervlak van de laesie hetgeen kan leiden tot een afscherming van het onderliggende defect ten opzichte van zowel aantastende als herstellende invloeden.

Volledigheidshalve dient hier ook de beïnvloeding door fluoride van het bacteriometabolisme te worden gememoreerd. Deze lijkt vooral op te treden bij hogere fluorideconcentraties (1-5 ppm) en is in de mondholte waarschijnlijk van belang in de periode na een lokale fluoride-applicatie waarin vanuit een calciumfluoridedepot gedurende een lange periode fluoride wordt afgegeven.

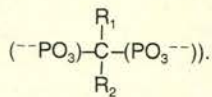
Ten aanzien van een differentiatie tussen verschillende typen fluorideverbindingen is momenteel, wat betreft de effecten op de- en remineralisatie, nog weinig bekend. Hoewel in het voorafgaande de vrij algemene term 'fluoride' werd gebruikt, heeft het merendeel van het beschreven onderzoek betrekking op vrij fluoride (dus bijvoorbeeld natriumfluoride). Het algemene werkingsmechanisme van gebonden of slecht oplosbare fluorideverbindingen (tinfluoride, monofluorofosfaat . . .) is in vele opzichten hiervan afwijkend.

Difosfonaten

In het onderzoek naar het verbeteren van de algehele mondsituatie wordt de afgelopen jaren gezocht naar stoffen die zowel cariës kunnen voorkomen of doen herstellen als (indirect) invloed uitoefenen op de toestand van de zachte weefsels. Daarbij worden behalve het proces van plaquevorming, ook de chemische en morfologische structuur en het ontstaan van tandsteen uitgebreid onderzocht. Tandsteen blijkt te bestaan uit calciumfosfaat-zouten die chemisch gezien een grote analogie vertonen met de (normale) gecalcificeerde weefsels. Het ligt daarom voor de hand dat chemi-

sche verbindingen die reageren met tandsteen ook inwerken op de dentitie, of zelfs op het bot. Bij het bestrijden van tandsteen kan gekozen worden tussen twee tactieken: het voorkomen van de mineralisatie van de tandplaque en het verwijderen van reeds gevormd tandsteen. Vooral bij de laatste aanpak, indien hij niet via mechanische (ultrasoon) doch via chemische weg geschiedt, is de kans aanwezig dat hierdoor ook het gebit (partieel) wordt 'opgelost'. De voorkeur gaat daarom uit naar de eerstgenoemde methode. In het laboratorium, en ook in vivo, werden vele chemische verbindingen beproefd op hun vermogen om mineralisatie te voorkomen of te vertragen. Een groep verbindingen die in de loop van het onderzoek steeds meer in de belangstelling kwam te staan was die der difosfonaten.¹⁵

Algemene formule:



Dit zijn stoffen die een grote overeenkomst vertonen met het in het lichaam voorkomende pyrofosfaat. Een belangrijk verschil, en in sommige opzichten voordeel, is echter dat zij niet in het lichaam worden afgebroken. Afhankelijk van de keuze van de substituenten R_1 en R_2 ontstaan stoffen met verschillende chemische en ook fysiologische eigenschappen. De van oudsher belangrijkste vertegenwoordiger is het EHDP (ethyleenhydroxydifosfonaat), waarbij $R_1 = CH_3$ en $R_2 = OH$, dat al voor diverse toepassingen klinisch wordt gebruikt. Behalve in de tandheelkunde bestaan er voor deze stoffen veel mogelijkheden voor de bestrijding van stoornissen in de calciumstofwisseling in het algemeen. Over het werkingsmechanisme van difosfonaten is inmiddels veel bekend. We zullen ons hier beperken tot voor het glazuur relevante zaken. Aan apatiet en glazuur vindt een zeer snelle en bijna irreversibele adsorptie plaats onder uitstoot van fosfaat-ionen.¹⁵ Deze hechte interactie kan eenvoudig worden verklaard vanuit de twee bindingsmogelijkheden die deze complexvormer bezit. Kennelijk worden hiervoor de chemische zeer verwante fosfaatposities in het oppervlak van de kristallieten gekozen. Doordat het geadsorbeerde difosfonaat een hechte 'beschermlaag' vormt is de oplosbaarheid in zuur aanzienlijk verlaagd.¹⁶ In de mondholte vindt mineralisatie doorgaans plaats op reeds aanwezig gecalcificeerd weefsel. De overmaat aan ionen (oververzadiging) die nodig is om dit te kunnen doen verlopen is in dat geval namelijk lager dan wanneer bovendien nieuwe kristalkernen moeten worden gevormd. Als de gecalcificeerde weefseloppervlak-

ken bedekt zijn met kristallisatie-inhibitoren, zoals difosfonaten, dienen echter wel nieuwe 'kiemen' te worden gevormd. Zo er dus al mineralisatie plaatsvindt zal deze zeer vertraagd zijn en waarschijnlijker is dat mineraalafzetting volledig wordt verhinderd. De consequentie is dus dat niet alleen tandsteenvorming wordt geremd maar ook de maturatie van glazuur en de remineralisatie van glazuurdefecten. Een uitzondering hierop zou een witte vlek kunnen vormen omdat difosfonaten vanwege hun grote affiniteit voor glazuur niet verder penetreren in deze porositeit dan de buitenste tientallen microns.

Difosfonaten en fluoriden

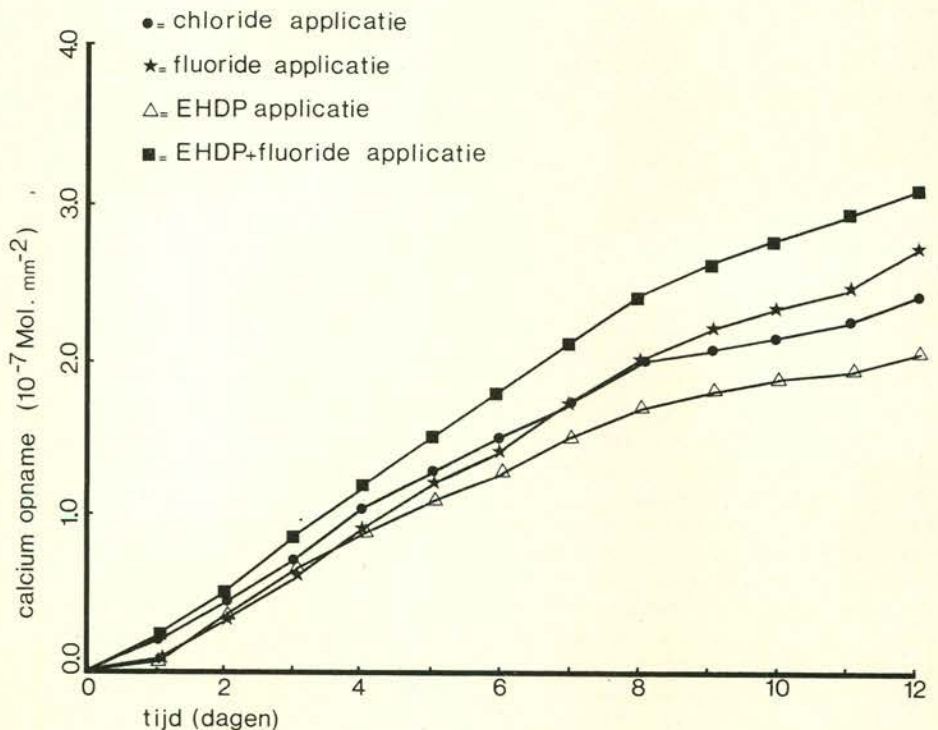
Bij het zoeken naar preventieve middelen is het noodzakelijk zoveel mogelijk processen die in de mondholte plaatsvinden in beschouwing te nemen. Zo mag in de toekomst worden verwacht dat te introduceren agentia niet alleen een heilzame werking hebben op het glazuur doch ook op het parodontium. Binnen een substraat dienen dan bovendien alle mogelijke processen individueel, maar ook in hun samenhang, te worden bestudeerd. In concreto betekent dit voor bijvoorbeeld het glazuur dat de- en remineralisatie zoveel mogelijk onder hun normale omstandigheden en in hun natuurlijke relatie worden bestudeerd. Voor de onderzoeker resulteert dit in een toename van de complexiteit van de meetmethode. Op dit gebied is in de laatste jaren al veel gebeurd: met behulp van zgn.

'kunstmond' wordt de invloed van preventieve middelen op het bacteriemetabolisme en als afgeleide daarvan op glazuur bestudeerd.

Binnen de vakgroep Materiaalwetenschappen van de Universiteit van Amsterdam is gekozen voor een iets andere opzet.¹⁴ Hier wordt het pH-dagritme in de mondholte gesimuleerd door glazuur of kunstmatig geproduceerde witte vlekken te ontwerpen aan een serie oplossingen met een samenstelling aan anorganische componenten gelijkend op die van speeksel, doch met verschillende zuurgraad. Op deze manier kunnen perioden van de- en remineralisatie elkaar op natuurlijke wijze aflossen met een door de onderzoeker zelf te kiezen periodiciteit.

De hier in kort bestek beschreven methode van 'pH cycling' is inmiddels voor diverse toepassingen gebruikt. Onder meer werd de invloed van fluoridehoudende tandpasta's bestudeerd.¹⁷ Ten einde een beeld te krijgen van de effecten van fluoride en difosfonaten op de- en remineralisatie werd een 'pH cycling'-experiment uitgevoerd waarbij witte vlekken gedurende 12 dagen éénmaal dagelijks werden geapliceerd met a. een fluorideoplossing (0,02%), b. een EHDP-oplossing (0,1%), c. een gecombineerde fluoride- + EHDP-oplossing (0,02 + 0,1%), of d. als controle een chloride-oplossing (0,02%). Een dergelijke concentratie fluoride komt overeen met door speeksel verdunde tandpasta.

De aangegeven concentratie EHDP werd gekozen omdat klinisch is aangetoond dat



Afb. 2. Netto calciumopname, als indicatie voor herstel van een glazuurlaesie, wanneer laesies worden blootgesteld aan gesimuleerde mond-pH-fluctuaties met dagelijks 22 uur remineralisatie, 2 uur demineralisatie en eenmaal daags een behandeling met de aangegeven applicatievloeistof.

bij gebruik hiervan als spoelvoestof ongeveer 50% reductie optreedt in de mineralisatiegraad van de plaque.¹⁸

Na afloop van vijf minuten applicatie werd de aanhangende voestof onder de kraan afgespoeld.

In afbeelding 2 zijn de resultaten van het experiment samengevat. Weergegeven is de netto calciumopname door witte vlekken indien deze worden blootgesteld aan een dagritme van 22 h remineralisatie en 2 h demineralisatie. Een dergelijk regiem komt overeen met ongeveer vier cariogene maaltijden per dag. De calciumopname is een maat voor de hoeveelheid afgezet hydroxylapatiet. Uit de gegevens blijkt, conform de verwachtingen, een inhibitie van de netto remineralisatie bij gebruik van EHDP en daarentegen een stimulatie bij fluoride- of fluoride- + EHDP-spoelingen. De aantekening is echter op zijn plaats dat de verschillen zeer klein zijn. De voorzichtige conclusie luidt derhalve dat bij een dergelijke 'applicatie'-frequentie, de gekozen concentraties, de gevolgde uitspoelprocedure en het gekozen dagritme het nadelig effect van difosfonaten op de netto remineralisatie kan worden omgebogen door de toevoeging van fluoride.

Summary:

Title: The role of fluorides and diphosphonates in the formation and the remineralization of subsurface lesions – in vitro.

Keywords: Cariology – Remineralization – Fluorides – Diphosphonates

The generally experienced declining prevalence of dental caries is attributed to a considerable

extent to fluoride.

In recent investigations it has been shown that especially the fluoride present in solution during the time periods of de- and remineralization influence the caries progress. The fluoride enhanced mineral deposition, the creation of arrested defects after fluoride incorporation, and the inhibition of demineralization are most likely more important in this respect than the decreased solubility caused by the fluoride already incorporated in the enamel.

Diphosphonates have been shown to inhibit calculus formation. One of the side effects, however, is that mineral deposition during maturation and remineralization is also retarded.

An experiment is described showing that this effect can be overcome by using low enough concentrations diphosphonate (EHDP), in combination with fluoride.

Literatuur:

1. Fejerskov O, Antoft P, Gadegaard E. Decrease in caries prevalence in Danish children and young adults in the 1979's. *J Dent Res* 1982; 61: 1305-1311.
2. Koch G. Evidence for declining caries prevalence in Sweden. *J Dent Res* 1982; 61: 1340-1346.
3. Kalsbeek H. Evidence of decrease in prevalence of dental caries in the Netherlands. *J Dent Res* 1982; 61: 1321-1327.
4. Driessens FCM. Mineral aspects of dentistry. 1^{ed}, Basel: Karger, 1982.
5. Jenkins GN. The physiology and biochemistry of the mouth. Oxford: Blackwell Scientific Publ., 1978.
6. Arends J, Jongebloed WL, Schuthof J. Crystallite diameters of enamel near the anatomical surface. *Caries Res* 1983; 17: 97-106.
7. Fejerskov O, Thylstrup A, Larsen MJ. Rational use of fluorides in caries prevention. *Acta Odont Scand* 1981; 39: 241-249.
8. Ten Cate JM, Duysters PPE. The influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I Chemical data. *Caries Res* 1983; 17: 193-199.
9. Theuns HM, Dijk JWE van, Driessens FCM, Groeneveld A. Artificial lesion formation at different depth in the enamel. ORCA-abstracts 1982.
10. Larsen MJ. Dissolution of enamel. *Scand J Dent Res* 1973; 81: 518-522.
11. Koulourides T, Cueto H, Pigman W. Rehardening of softened enamel surfaces of human teeth by solutions of calcium and phosphate. *Nature* 1966; 189: 226-227.
12. Ten Cate JM, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1977; 11: 277-286.
13. Pot T, Groeneveld A. Het ontstaan en gedrag van de witte vlek; overwegingen aan de hand van klinische waarnemingen. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 1976; 83: 464-471.
14. Ten Cate JM, Duysters PPE. Alternating de- and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1982; 16: 201-210.
15. Plöger W, Klüppel HJ. Chemisorption an Apatit, Pelliclebildung und Mineralisationsvorgänge in vitro und in vivo. *Kariesprophylaxe* 1982; 4: 129-137.
16. Wöltgens JHM. Influence of diphosphonate and sodium fluoride on the development of artificial caries. *Caries Res* 1975; 9: 438-444.
17. Ten Cate JM, Duijsters PPE. The effect of fluoride containing dentifrices on enamel de- and remineralization. ORCA-abstracts 1982.
18. Herforth A. Klinische Untersuchungen über die Zahnsteinhemmende Wirkung von EHDP. *Dtsch Zahnärztl Z* 1976; 31: 392.

April 1983.

Adres: Dr. J. M. ten Cate,
Louwesweg 1,
1066 EA Amsterdam.