

UNIVERSITATEA “OVIDIUS” DIN CONSTANȚA
FACULTATEA DE MEDICINĂ DENTARĂ

REZUMAT
TEZĂ DE DOCTORAT
EFFECTUL LOCAL AL FLUORULUI ȘI AL
PRODUSULUI ROMÂNESC FLUOROSTOM
ASUPRA SMALȚULUI DENTAR

Coordonator științific:
Prof.Univ.Dr. CORNELIU AMARIEI

Doctorand:
As.Univ.Drd. CRISTINA NICOLAE

Constanța
2012

CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

I. CONTEXTUL GENERAL AL UTILIZĂRII FLUORULUI ÎN MEDICINA DENTARĂ

I.1. INTRODUCERE – GENERALITĂȚI

- 1.1 Istoric
- 1.2 Fabricare și utilizare
- 1.3 Scurt istoric al utilizării fluorului în medicina dentară

I.2. PREZENȚA ÎN MEDIUL ÎNCONJURĂTOR, GEOCHIMIE ȘI EXPUNERE

- 2.1 Distribuția fluorului în apa potabilă din Județul Constanța
- 2.2 Expunerea la fluor

I.3 EFECTELE FLUORULUI ASUPRA SĂNĂTĂȚII UMANE

- 3.1 Metabolismul fluorului - aport, distribuție, eliminare
- 3.2 Efectele fluorului asupra sistemelor in vitro și a animalelor de laborator
- 3.3 Efectele fluorului asupra organismului uman

II. NOȚIUNI FUNDAMENTALE DESPRE SMALȚUL DENTAR

II.1. ODONTOGENEZA

- 1.1 Considerații generale
- 1.2 Etapele procesului de dezvoltare a dintelui

II.2. FORMAREA ȘI DEZVOLTAREA SMALȚULUI. STRUCTURA NORMALĂ A SMALȚULUI

- 2.1 Amelogeneza
- 2.2. Structura normală a smalțului

II.3 ASPECTE FIZICE SI FIZIOLOGICE ALE SMALȚULUI DE SUPRAFAȚĂ

- 3.1 Structurile caracteristice smalțului de suprafață

III. CONCEPTUL ACTUAL PRIVIND MECANISMELE DE ACȚIUNE ALE FLUORULUI

III.1. EFECTUL FLUORULUI ASUPRA MORFOLOGIEI ȘI SOLUBILITĂȚII STRUCTURILOR DENTARE

- 1.1 Rolul hidroxiapatitei
- 1.2 Constituirea fluorapatitei (FA) și a straturilor de fluorură de calciu (CaF_2)
- 1.3 Fenomenul de demineralizare și remineralizare
- 1.4 Mecanismul cariostatic al fluorului

III.2 FACTORII CARE INFLUENȚEAZĂ PROCESUL DE INCORPORARE A FLUORULUI ÎN SMALȚ DUPĂ APLICAREA LOCALĂ A PREPARATELOR FLUORURATE

- 2.1. Starea țesuturilor dentare dure
- 2.2 Proprietățile preparatelor fluorurate aplicate topic
- 2.3 Influența metodei de aplicare locală asupra eficienței lor cariopreventive

III.3 CLĂTIRILE ORALE CU FLUOR

III.4 RECOMMENDĂRI PRIVIND UTILIZAREA FLUORULUI ÎN VIITOR

IV. EFECTELE EXCESULUI DE FLUOR ASUPRA STRUCTURILOR DURE DENTARE

IV.1. FLUROZA DENTARĂ

- 1.1 Aspecte generale
- 1.2 Mecanisme de producere și caracteristici patognomonice pentru fluoroza smaltului
- 1.2 Criterii de clasificare
- 1.3 Aspecte contradictorii privitoare la fluoroza dentară
- 1.4 Factori de risc

IV.2. FLUROZA ENDEMICĂ

- 2.1 Fluoroza la nivel global
- 2.2 Fluoroza în România
- 2.3 Cuantificarea toxicității fluorului asupra sănătății umane
- 2.4 Factorii care influențează debutul bolii (Factorii determinanți ai fluorozei)

V. TEHNICI MODERNE DE INVESTIGARE A STRUCTURII ȚESUTURILOR DURE DENTARE

V.1 INTERACȚIUNEA STRUCTURILOR DENTARE CU UN FASCICUL LUMINOS **Error! Bookmark not defined.**

- 1.1 Aspectele fundamentale ale interacțiunii dintre țesuturi și lumină
- 1.2 Proprietățile optice ale țesuturilor dure dentare

V.2 TEHNICI MODERNE DE INVESTIGARE A STRUCTURII ȚESUTURILOR DURE DENTARE

- 2.1 Microscopia optică sau fonică
- 2.2 Microscopul electronic
- 2.3 Microscopul electronic cu scanare prevăzut cu sistem de analiză elementară calitativă și cantitativă - EDAX.
- 2.4 Testul de microduritate Vickers
- 2.5 Testul de microcristalizare salivară (IMK)

VI. MOTIVAȚIA CERCETĂRIILOR. METODE STATISTICE DE EVALUARE UTILIZATE

VI.1 MOTIVAȚIA CERCETĂRIILOR

- 1.2 Scopul cercetărilor
- 1.3 Obiectivele cercetărilor

VI.5. CULEGEREA ȘI PRELUCRAREA STATISTICĂ A DATELOR

- 5.1 Metodologia de realizare a studiilor
- 5.2 Prezentarea conceptelor și a testelor statistice folosite

VII. STUDIU CLINIC DE EVALUARE A EFICACITĂȚII DE REMINERALIZARE A LEZIUNILOR CARIOASE INCIPIENTE ALE SMALȚULUI, ÎN URMA APLICĂRII TOPICE A UNOR COMPUȘI FLUORURAȚI

VII.1 INTRODUCERE
VII.2 SCOPUL STUDIULUI
VII.3 MATERIAL ȘI METODE
VII.4 REZULTATE
VII.5 DISCUȚII
VII.6 CONCLUZII

VIII. ASPECTELE STRUCTURALE ALE ACȚIUNII FLUORULUI ASUPRA MICRODURITĂȚII SMALȚULUI SUPUS TRATAMENTULUI DE ALBIRE - *IN VITRO*

VIII.1 INTRODUCERE
VIII.2 SCOPUL STUDIULUI
VIII.3 MATERIAL ȘI METODĂ
VIII.4 REZULTATE
VIII.5 DISCUȚII
VIII.6 CONCLUZII

IX. STUDIU *IN VITRO* DE STABILIRE A CORELAȚIILOR DINTRE INDICELE DE MICROCRISTALIZARE SALIVARĂ (IMK) ȘI SEVERITATEA FLUOROZEI DENTARE

IX.1 INTRODUCERE
IX.2 SCOPURILE STUDIULUI
IX.3 MATERIAL ȘI METODĂ
IX.4 REZULTATE
IX.5 DISCUȚII
IX.6 CONCLUZII

X. STUDIU *IN VITRO* AL ACȚIUNII FLUORULUI DIN COMPUSUL CPP-ACP (CAZEIN-FOSFO-PEPTIDĂ ȘI FOSFAT DE CALCIU AMORF) ASUPRA SMALȚULUI DENTAR UTILIZÂND (SEM) ȘI MICROANALIZĂ ELEMENTARĂ CU SISTEMUL EDX

X.1. INTRODUCERE
X.2 SCOPURILE STUDIULUI
X.3 MATERIAL ȘI METODĂ
X.4 REZULTATE
X.5 DISCUȚII
X.6 CONCLUZII

XI. STUDIU *IN VITRO* PRIVIND MODIFICĂRILE MORFOLOGICE ALE SMALȚULUI PRODUSE PRIN ACȚIUNEA A 3 PRODUSE FLUORURATE: EVALUARE SEM/EDAX

XI.1 INTRODUCERE

XI.2 SCOPUL STUDIULUI
XI.3 MATERIAL ȘI METODĂ
XI-4 REZULTATE
XI-5 DISCUȚII
XI-6 CONCLUZII

XII. CONCLUZII GENERALE, CONTRIBUȚII PERSONALE ȘI CONSECINȚE PENTRU ACTIVITATEA PRACTICĂ

XII.1. CONCLUZII GENERALE
XII.2. CONTRIBUȚII PERSONALE
XII.3. CONSECINȚE PENTRU ACTIVITATEA PRACTICĂ

BIBLIOGRAFIE

CUVINTE CHEIE: fluor, smalț, demineralizare, remineralizare, prevenție, fluorizare locală, SEM/EDX

Introducere

Îmbunătățirile remarcabile din domeniul sănătății orale dobândite în ultima jumătate de secol se datorează unei baze științifice solide, privind prevenirea afecțiunilor orodentare, care au fost dezvoltate și aplicate la nivel de comunitate, în practica clinică și în educația pentru sănătatea orodentară. Prevenirea afecțiunilor orodentare se definește ca fiind “strategia de reducere a factorilor de risc specifici unei boli sau de consolidare a factorilor ce pot influența susceptibilitatea de apariție a acesteia, precum și activitățile menite terapiei sau reducerii manifestarilor determinate de afecțiuni deja instalate”(Cuculescu M. 2010 și Dănilă I. 2005).

Programele de sănătate adresate comunității se concentrează atât pe prevenția primară - eliminarea sau reducerea riscurilor sau furnizarea de protecție împotriva bolilor înainte de producerea acestora cât și pe prevenția secundară - screeningul și depistarea precoce și intervenția de oprire a evoluției bolilor după producerea acestora. Fluorizarea locală reprezintă modalitatea cea mai răspândită în lume de prevenție primară a cariei dentare, devenită, în țările civilizate, o practică de rutină, fiind modul ideal de menținere a unei concentrații scăzute, dar constante de fluor în contact cu structurile dure dentare.

De asemenea, în cadrul principalelor strategii de prevenire primară a afecțiunilor orodentare identificate de OMS, un capitol important este reprezentat de fluorizarea aplicată la diferite nivele: comunitar (fluorizarea apei potabile, programe școlare de fluorizare cu suplimente fluorurate – tablete sau clatiri orale), profesional (suplimente fluorurate – tablete sau clatiri orale, aplicarea locală de geluri și soluții cu concentrație crescută de fluor, utilizarea unor material de restaurare ce eliberează fluor) și individual (utilizarea pastelor de dinți și a apelor de gură ce conțin fluor).

La baza conceperii studiilor efectuate în cadrul acestei teze de doctorat au stat tendințele practicii medicale actuale de reorientare spre conceptul preventiv și spre cel de terapie minim invazivă, cu implicarea produselor pe bază de fluor, bazate pe rezultatele numeroaselor studii de cercetare din domeniu, cât și direcțiile prioritare ale OMS privind sănătatea orodentară.

Datorită acestui context și în condițiile în care în literatură, problemele ce țin de acțiunea fluorului asupra țesuturilor dure dentare sunt fie controversate, fie minimalizate, intenția de a sistematiza și decanta cât mai multe informații referitoare la acest subiect și de a încerca posibile corelații ale acestora cu unele observații personale reprezintă un fapt necesar.

Aspectele pe care mi-am propus să le urmăresc în cadrul lucrării de față sunt următoarele: selectarea și sistematizarea unui material documentar în care să se regăsească datele din literatura de specialitate privind sursele de fluor, metabolismul acestuia, efectele fluorului asupra organismului uman și asupra țesuturilor dentare, etiopatogenia cariei dentare și a fluorozei cât și a fenomenelor asociate acestora, precum și importanța fluorului asupra proceselor de de- și remineralizare, precum și modificările ultrastructurale determinate de acțiunea fluorului asupra suprafeței smalțului.

Partea generală – structurată în cinci capitole, prezintă stadiul actual al cunoașterii prin selectarea și sistematizarea unui material documentar în care se regăsesc datele din literatura de specialitate.

Capitolul I Contextul general al utilizării fluorului în medicina dentară este structurat în trei subcapitole. Primul reprezintă o trecere în revistă a datelor referitoare la istoricul, fabricarea și utilizarea fluorului precum și un scurt istoric al utilizării fluorului în medicina dentară. Al doilea subcapitol ilustrează prezența fluorului în mediul înconjurător, distribuția acestuia în apa potabilă și expunerea la fluor. Cel de-al treilea subcapitol prezintă efectele fluorului asupra sănătății umane: metabolismul fluorului - aport, distribuție, eliminare, efectele fluorului asupra sistemelor in vitro și a animalelor de laborator, efectele fluorului asupra organismului uman.

Capitolul II Noțiuni fundamentale despre smalțul dentar este structurat în trei subcapitole ce prezintă considerații generale despre odontogeneză, formarea și dezvoltarea smalțului, structura normală a smalțului precum și aspecte fizice și fiziologice ale smalțului de suprafață.

Capitolul III Conceptul actual privind mecanismele de acțiune ale fluorului, pe parcursul a patru subcapitole prezintă: efectul fluorului asupra morfologiei și solubilității structurilor dentare, factorii care influențează procesul de incorporare a fluorului în smalț după aplicarea locală a preparatelor fluorurate, clătirile orale cu fluor și recomandări privind utilizarea fluorului în viitor.

Capitolul IV Efectele excesului de fluor asupra structurilor dure dentare sintetizează atât principalele aspecte legate de fluoroza dentară: aspecte generale, mecanisme de producere și caracteristici patognomonice pentru fluoroza smalțului, factori de risc cât și aspecte legate de fluoroza endemică.

Capitolul V Tehnici moderne de investigare a structurii țesuturilor dure dentare prezintă aspectele fundamentale ale interacțiunii dintre lumină și țesuturile dure dentare și proprietățile optice ale acestora. A doua parte a acestui capitol cuprinde descrierea tehnicilor utilizate în realizarea studiilor cuprinse în cercetare: microscopia optică sau fotonică –stereomicroscopul,

microscopul electronic, microscopul electronic cu scanare prevăzut cu sistem de analiză elementară calitativă și cantitativă – EDX, testul de microduritate Vickers și indicele de microcristalizare salivară (IMK)

Partea de contribuții personale a fost structurată în cinci capitole distincte, care prezintă motivația cercetării și studiile cercetării personale, cu respectarea structurii impuse de cercetarea științifică: obiectiv, material și metodă, rezultate, discuții și concluzii. Ultimul capitol al părții personale este reprezentat de concluziile finale ale cercetării.

Capitolul VI Motivația studiului. Metode statistice de evaluare utilizate

Abordarea temei intitulate “Efectul local al fluorului și al produsului românesc Fluorostom asupra smalțului dentar”, a fost determinată de nevoia unei cât mai corecte înțelegeri și a evidențierii acțiunii produsului românesc Fluorostom, utilizat în cadrul Programului Național de Prevenire a Cariei Dentare I.5 care s-a desfășurat începând cu anul 2001 în întreg județul Constanța.

Cercetările referitoare la subiectul ales pentru prezenta lucrare de doctorat au avut ca scop:

- ✓ evaluarea capacității de remineralizare a fluorului asupra unor efecte nedorite, ce apar la nivelul țesuturilor dure dentare: demineralizări asociate tratamentelor ortodontice fixe precum și fenomene de hipersensibilitate dentinară ca urmare a tratamentelor de albire dentară.
- ✓ evidențierea caracteristicilor structurale salivare ale aportului în exces de fluor pe cale generală
- ✓ evidențierea modificărilor ultrastructurale determinate de acțiunea de remineralizare a fluorului asupra suprafeței smalțului supus acțiunii unor factori de demineralizare.

Pentru atingerea scopurilor, cercetările efectuate în cadrul acestei lucrări au fost orientate pe următoarele direcții :

- ✓ Evaluarea și pe cât posibil ierarhizarea în funcție de eficacitate și de situațiile clinice particulare a subiecților luați în studiu, a posibilităților, mijloacelor și metodelor terapeutice, atât a celor clasice, tradiționale, cât și a celor moderne din cadrul terapiei de remineralizare cu preparate pe bază de fluor;
- ✓ Efectuarea unor teste de estimare *in vivo* a evoluției profunzimii și suprafeței focarelor de demineralizare a leziunilor carioase incipiente prin metoda Borovschii-Axamit, pe parcursul tratamentelor de remineralizare aplicate din cadrul cercetării;
- ✓ Analizarea acțiunii fluorului în cazul unui aport în exces prin testarea indicelui de microcristalizare (IMK) la pacienții cu fluoroză;
- ✓ Realizarea unei cercetări prin studiu *in vitro* pe dinți extrași a microdurității țesuturilor dure dentare (smalț și dentină) în vederea testării unor eventuale modificări ale caracteristicilor structurale ale acestora, modificări ce pot apărea pe țesuturile dure dentare post-albire;
- ✓ Realizarea unei cercetări prin studiu *in vitro* a procesului de demineralizare/remineralizare și a mecanismelor ce intervin în timpul inițierii și evoluției unui proces carios incipient;

✓ Realizarea a două cercetări *in vitro* pentru evidențierea efectului de remineralizare a fluorului aplicat local prin microscopie electronică EDX și SEM.

Toate demersurile aferente activității de cercetare s-au desfășurat în conformitate cu legislația în vigoare, precum și cu respectarea normelor deontologice privind cercetarea. Examinările clinice, realizate în cadrul studiului *in vivo*, s-au desfășurat în conformitate cu prevederile Legii nr. 46 din 21 ianuarie 2003 privitoare la drepturile pacientului, după ce s-a obținut acordul de participare la cercetarea științifică. A fost respectată confidențialitatea datelor personale ale pacienților. Fiecărui pacient participant la studiu i-au fost explicate scopul și modalitatea de derulare a studiului după care s-a obținut consimțământul informat al acestuia.

Datele obținute în urma studiilor *in vitro* au fost analizate utilizând diferite tehnici de microscopie. Pentru observarea modificărilor ultrastructurale ale suprafeței smalțului precum și evaluarea compoziției sale elementale determinate de acțiunea locală a fluorului, examinarea suprafețelor s-a realizat cu ajutorul: stereomicroscopului și microscopului electronic cu scanare SEM, cuplat cu un detector EDX ce a permis maparea suprafețelor examinate, stabilind compoziția chimică calitativă și cantitativă.

Analiza statistică și managementul datelor au fost realizate folosind programele SPSS 17 (SSPS Inc., Chicago, USA) iar pentru generarea graficelor s-a folosit și modulul specializat din Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, SUA).

Capitolul VII Studiu clinic de evaluare a eficacității de remineralizare a leziunilor carioase incipiente ale smalțului, în urma aplicării topice a unor compuși fluorurați

Scopul studiului

- ✓ Evaluarea comparativă a eficienței de remineralizare a leziunilor carioase incipiente asociate tratamentelor ortodontice fixe, a trei tipuri de preparate cu aplicație topică, ce au compuși activi diferiți;
- ✓ Analiza efectului antiplacă prin evaluarea indicilor de igienă orală;
- ✓ Evaluarea capacității de remineralizare a leziunilor carioase incipiente a compușilor de remineralizare prin analiza suprafeței și întinderii proceselor.

Material și metodă

În studiu au fost incluși 40 pacienți cu vârste cuprinse între 14 și 25 ani, clinic sănătoși, care prezentau procese de demineralizare a smalțului (de tip *white-spot*), cărora li s-au aplicat tratamente locale de remineralizare. Participanții la studiu au fost evaluați inițial și apoi monitorizați pe o perioadă de 12 luni, reevaluându-se evoluția leziunilor la 6 și la 12 luni. Pe parcursul perioadei de cercetare au fost evaluați următorii parametri:

1. Analiza efectului antiplacă prin evaluarea stării de igienă orală utilizând indicele de placă bacteriană Quigley-Hein (OH).
2. Profunzimea focarului de demineralizare;
3. Suprafața focarului de demineralizare.

Cei 40 de pacienți au prezentat **58 de dinți cu procese de demineralizare** ce au fost împărțite, aleator, în 4 loturi (*Tabel 1*).

Tabelul 1. Structura loturilor de pacienți și procesele de demineralizare

<i>Lot</i>	<i>Nr. pacienți</i>	<i>Nr. procese de demineralizare</i>
I.	10 pacienți	16 dinți
II.	12 pacienți	16 dinți
III.	10 pacienți	14 dinți
IV.	8 pacienți	12 dinți
Total	40	58

Loturilor I, II, III li s-au aplicat tratamente locale de remineralizare iar lotul IV a fost grupul control aplicându-se soluție fără potențial de remineralizare (apă distilată). Preparatele ce au fost utilizate în studiu, au fost aplicate după cum urmează:

Lotul I: Fluorostom (compus activ fluorura de sodiu NaF),

Lotul II: GC Tooth Mousse (RecaldentTM/ o formulă CPP-ACP)

Lotul III: Reminal Ca/P-F (componente active calciu, fosfat și fluor) (Tabelul 2).

Tabelul 2. Preparatele utilizate în acest studiu

<i>Lot</i>	<i>Produs</i>	<i>Compus activ</i>	<i>Origine</i>	<i>Metoda de utilizare în studiu</i>
I.	Fluorostom	fluorura de sodiu	ICCF, București, România	Aplicații locale timp de 25-30 de minute
II.	GC Tooth Mousse	RecaldentTM/ formulă CPP-ACP	GC Europe N.V., Leuven, Belgia	
III.	Reminal Ca/P-F	glicerofosfatul de calciu, fluorura de sodiu	Celit LTD, Rusia	

Rezultate

Funcție de distribuția procentuală, pe loturi, se constată că cele 58 de focare de demineralizare se împart astfel : lotul 1 (F) 10 pacienți – 25%; lotul 2 (CaP) 12 pacienți – 30%; lotul 3 (CaPF) 10 pacienți – 25%; iar lotul 4 (martor) 8 pacienți – 20% din totalul de 40 pacienți.

1. Analiza efectului antiplacă prin evaluarea stării de igienă orală, utilizând indicele de placă bacteriană Quigley-Hein(OH).

Valoarea medie a indicilor de igienă orală a variat astfel: pentru lotul 1 - 1.75, pentru lotul 2 - 2.12, pentru lotul 3 - 1.73 iar pentru lotul 4 -1.99. Valoarea medie a indicelui de igienă orală pentru întreg lotul a fost de 1.9; domeniul de variație al acestuia fiind, însă, destul de larg – între 0.00 și 3.84, iar deviația și eroarea standard a mediei atestă faptul că, lotul este heterogen, indicii individuali fiind destul de dispersați comparativ cu valoarea medie pe lot. Analizând indicii de igienă orală comparativ pe loturi, conform elementelor de statistică descriptivă, valorile medii au fost 1.75, 1.12, 1. 72 și 1.98. În cazul primelor 3 loturi, domeniul de valori a fost destul de larg iar în cazul celui de al 4-lea mai strâns (între 1.02 minim și 2.80 maxim).

2. Profunzimea focarelor de demineralizare (funcție de intensitatea culorii)

Tabelul 3. Profunzimea focarelor de demineralizare (intensitatea culorii) pentru Lot 1: remineralizare cu fluor

Dinți	Nivel de intensitate a culorii				
	inițial	după prima aplicare	după 2 săptămâni	după 6 luni	după 12 luni
Media	5.94	4.94	4.69	3.63	1.75
	scădere:	1	1.25	2.31	4.19
	%	16.83	21.1	38.89	70.53

În Tabelul 3, în care este prezentată analiza statistică descriptivă, se observă scăderea constantă a valorilor individuale ale intensității culorii (IC) de la un moment de timp la altul.

În urma analizei domeniului de valori s-a putut observa că inițial, după prima aplicare, după 2 săptămâni și după 6 luni acesta s-a menținut larg – ceea ce atestă o variație mare a intensității culorii de la caz la caz, dar s-a îngustat semnificativ la sfârșitul perioadei de tratament (val. min. = 1.00, val. max. = 4.00). Diferențele dintre medii sunt semnificative statistic la fiecare moment de timp, deci variațiile intensității de culoare sunt semnificative, ceea ce evidențiază faptul că tratamentul a fost eficient.

Tabelul 4. Profunzimea focarelor de demineralizare (intensitatea culorii) pentru Lot 2: remineralizare cu CaP

Dinți	Nivel de intensitate a culorii				
	inițial	după prima aplicare	după 2 săptămâni	după 6 luni	după 12 luni
Media	5.69	2.69	3.13	3.56	1.50
	scădere:	3	2.56	2.13	4.19
	%	52.72	45	37.43	73.63

Din tabelul cu parametri statistici descriptivi pentru nivelul de intensitate a culorii la cele 5 momente în timp pentru lotul 2 (Tabelul 4), se constată următoarele: scăderea foarte pronunțată a valorii medii după 2 săptămâni; chiar dacă ulterior se înregistrează o creștere, la finalul perioadei de tratament media intensității de culoare a rămas oricum mult mai mică decât inițial. Acest lucru se reflectă și la nivelul valorilor individuale – fapt demonstrat de evoluția domeniului de valori, inițial valorile erau min.=2.00 – max.= 9.00, pentru ca la final să fie min.=1.00 – max.=3.00. Testul *t* pentru eșantioane dependente a evidențiat faptul că diferențele între medii sunt semnificative statistic doar la prima aplicare – momentul inițial și în intervalul 6-12 luni.

Tabelul 5. Profunzimea focarelor de demineralizare (intensitatea culorii) Lot 3: remineralizare cu CaPF

Dinți	Nivel de intensitate a culorii				
	inițial	dupa prima aplicare	dupa 2 săptămâni	după 6 luni	după 12 luni
Media	5.93	4.43	1.21	3.00	2.36
	scădere:	1.5	4.72	2.93	2.64
	%	25.3	79.6	50.6	39.73

Din analiza descriptivă (Tabelul 5), se constată următoarele: scăderea accentuată a valorilor medii după prima aplicare, urmată de variații mici la 2 săptămâni și 6 luni, urmată iarăși de o scădere drastică la 12 luni.

Testând nivelul de semnificație al variațiilor prin aplicarea testul *t*, la fel ca și în cazurile anterioare, observăm de asemenea o scădere semnificativă statistic de la momentul inițial la prima aplicare, apoi scăderi nesemnificative statistic și în final o altă scădere semnificativă

statistic de la 6 luni la 12 luni. Diferențele între medii fiind semnificative statistic la fiecare moment de timp, variațiile intensității de culoare sunt semnificative, tratamentul fiind eficient.

Tabelul.6. Profunzimea focarelor de demineralizare (intensitatea culorii) pentru Lot 4 martor

Dinți	Nivel de intensitate a culorii			
	inițial	după 2 săptămâni	după 6 luni	după 12 luni
Media	7.08	7.08	7.33	8.17
	creștere	0	0.25	1.09
	%	0	3.53	15.39

Spre deosebire de cazurile anterioare, în cazul lotului martor se constată o creștere a valorilor medii și individuale ale intensității culorii, constantă în timp și pentru fiecare pacient în parte. Folosind testul t la fel ca în cazurile anterioare, putem concluziona că aceste creșteri sunt semnificative doar de la 6 la 12 luni.

Valorile sunt, oricum, mai mari decât în cazul celorlalte loturi; mărimea intervalului de valori și deviația standard atestă de asemenea că valorile individuale sunt mai eterogen distribuite în jurul valorii medii pe lot, și prin urmare și evoluția lor va fi mai aleatorie, spre deosebire de celelalte situații, în care această evoluție era în mod clar controlată de tratamentul de remineralizare aplicat.

Tabelul 7. Evoluția intensității de colorare în cele 4 loturi

Nivel de intensitate a culorii	LOT 1 F	LOT 2 CaFP	LOT 3 CaP	LOT 4 martor
	(val. medii)	(val. medii)	(val. medii)	(val. medii)
inițial	5.94	5,69	5.93	7.08
după prima aplicare	4,94	2,69	4.43	
	↓16,83%	↓52.72%	↓25.3%	
după 2 săptămâni	4.69	3.13	1.21	7.08
	↓ 21,1%	↓45%	↓79.6%	↑ 3.53%
după 6 luni	3,63	3,56	3	7.33
	↓ 38,89%	↓ 37.43%	↓ 50.6%	↓ 3,92%
după 12 luni	1,75	1.5	2.36	8.17
	↓ 70,53%	↓ 73.63%	↓ 39.73%	↑ 15.39%

3. Suprafața totală a focarelor de demineralizare

Tabelul 8 Suprafața totală a focarelor de demineralizare pentru Lot 1 (F)

Suprafața focarelor de demineralizare (mm ²)			
	inițial	6 luni	12 luni
Suma totală:	46.5	39.5	35.4
Scădere:		7	11.1
	%	15.05	23.87

Aplicând testul t pentru testarea nivelului de semnificație al variațiilor suprafețelor de demineralizare pentru Lot 1 (F), s-au evidențiat diferențe semnificative statistic, atât între valorile de la momentul inițial la prima aplicare, cât și între valorile înregistrate la 6 luni și la 12 luni.

Tabelul 9 Suprafața totală a focarelor de demineralizare pentru Lot 2 (CaP)

Suprafața focarelor de demineralizare (mm ²)			
	inițial	6 luni	12 luni
Suma totală:	48.80	46.2	41
Scădere:		2.6	7.8
	%	5.33	15.98

Aplicând testul *t* pentru testarea nivelului de semnificație al variațiilor suprafețelor de demineralizare pentru Lotul 2 (CaP), s-au evidențiat diferențe semnificative statistic, atât între valorile de la momentul inițial la prima aplicare, cât și între valorile înregistrate la 6 luni și la 12 luni.

Tabelul 10 Suprafața totală a focarelor de demineralizare pentru Lot 3 (CaPF)

Suprafața focarelor de demineralizare (mm ²)			
	inițial	6 luni	12 luni
Suma totală:	45.60	39.5	35.7
Scădere:		6.1	9.9
	%	13.38	21.71

Pentru Lotul 3 (CaPF), s-au evidențiat diferențe semnificative statistic, atât între valorile de la momentul inițial la prima aplicare, cât și între valorile înregistrate la 6 luni și la 12 luni (Tabelul 10).

Tabelul 11 Suprafața totală a focarelor de demineralizare pentru Lot 4 (martor)

Suprafața focarelor de demineralizare (mm ²)		
inițial	6 luni	12 luni
Suma totală: 41.3	42.8	44.2
Crestere:	1.5	2.9
%	3.63	7.02

Pentru Lotul 4 (martor), după aplicarea testului *t* – Student pentru verificarea nivelului de semnificație al variațiilor nu s-au evidențiat diferențe semnificative statistic, atât între valorile de la momentul inițial la prima aplicare, cât și între valorile înregistrate la 6 luni și la 12 luni (Tabelul 11).

Evoluția suprafețelor totale ale focarelor de demineralizare pentru fiecare lot în parte și la fiecare determinare, este sintetizată în tabelul 12.

Tabelul 12 Evoluția suprafețelor totale ale focarelor de demineralizare

Suprafața totală a focarelor de demineralizare	Suma valorilor			
	LOT 1 – F	LOT 2 – CaP	LOT 3 – CaPF	LOT 4 –martor
inițial (mm²)	46.5	48.8	45.6	41.3
inițial – după 6 luni	39.5 ↓ 15.05%	46.2 ↓ 5.33%	39.5 ↓ 13.38%	42.8 ↑ 3.63%
inițial – după 12 luni	35.4 ↓ 23.87%	41 ↓ 15.98%	35.7 ↓ 21.71%	44.2 ↑ 7.02%

Capitolul VIII Aspectele structurale ale acțiunii fluorului asupra microdurității smalțului supus tratamentului de albire - *in vitro*

Scopul studiului:

- ✓ Evaluarea acțiunii a două preparate de albire asupra microdurității smalțului dentar;
- ✓ Evaluarea capacității unui produs de remineralizare pe bază de fluor de a influența modificările ce pot apărea în urma acțiunii preparatelor de albire.

Material și metodă

În cadrul acestui studiu a fost evaluată evoluția microdurității smalțului dentar utilizând *metoda Vickers* în urma acțiunii a două preparate de albire profesionale: A. Opalescence Xtra Boost (Ultradent Products Inc., South Jordan, Utah, SUA) - 38% peroxid de hidrogen și B. Viva Style (Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein) - 30% peroxid de carbamidă urmate de remineralizarea cu produsul fluorurat Flor-Opal Varnish (Ultradent Products Inc., South Jordan, Utah, SUA).

Probele de smalț au fost împărțite, aleator, în 3 loturi egale (n=10), după cum se poate observa în *Tabelul 13*.

Tabelul 13. Structura loturilor de studiu

Lot	Nr. probe	Modul de repartizare al probelor
I.	10	1a. fără albire și fără remineralizare
		1b. fără albire, dar cu remineralizare
II.	10	2a. cu albire și fără remineralizare
		2b. cu albire și remineralizare
III.	10	3a. cu albire și fără remineralizare
		3b. cu albire și remineralizare

În acest studiu *in vitro*, au fost folosite două tipuri de proceduri de albire, ce corespund celor două tipuri de produse utilizate. După fiecare sesiune de albire, respectiv remineralizare, substanțele de albire/remineralizare au fost îndepărtate cu grijă cu o periuță de dinți moale sub un jet de apă de la robinet și apoi probele au fost depozitate în 250 ml soluție salivă artificială care a fost reînnoită de două ori pe zi la o temperatură a termostatului de 37 °C. S-a procedat în mod identic și cu probele din lotul martor.

Rezultate

În urma acestui studiu s-a constatat că, în cazul loturilor „cu remineralizare” (1b, 2b, 3b) există o creștere a microdurității smalțului. De asemenea, s-u înregistrat valori foarte mari ale deviației standard (ale gradului de împrăștiere ale valorilor în jurul valorii medii) în cazul Lotului 3.

În cazul lotului martor valorile durității smalțului au variat între 312 și 328 Mpa pentru subgrupul 1a fără albire și fără remineralizare și între 314 și 330 Mpa în subgrupul 1b, în care s-a utilizat sistemul de remineralizare.

În cazul lotului care a cuprins dinții albiți cu sistemul Opalescence Xtra Boost valorile durității smalțului au variat între 278 și 305 Mpa în subgrupul 2a la care nu s-a utilizat sistemul de remineralizare și între 289 și 307 Mpa în subgrupul 2b, în care s-a utilizat sistemul de remineralizare.

În cazul lotului care a cuprins dinții albiți cu sistemul Viva Style valorile durității smalțului au variat între 254 și 301 Mpa în subgrupul 3a, la care nu s-a utilizat sistemul de remineralizare și între 267 și 302 Mpa în subgrupul 3b în care s-a utilizat sistemul de remineralizare.

Comparativ cu lotul martor, s-a obținut o scădere a valorilor microdurității smalțului la dinții care au fost supuși tratamentului de albire. O scădere mai mare a valorilor medii a microdurității s-a observat la lotul albit cu produsul Viva Style [2a - 7.50] față de la lotul albit cu Opalescence Xtra Boost [3a -13.50], existând diferențe semnificative din punct de vedere statistic între loturile 2a și 3a ($p = 0.023 < 0.05$)

De asemenea, s-a constatat o creștere a valorilor medii a microdurității atât la lotul martor, cât și în loturile de studiu pe dinții albiți cu ambele produse de albire și supuși terapiei de remineralizare cu Flor-Opal Varnish (Ultradent Products Inc., South Jordan, Utah, SUA). Datele au fost analizate utilizând testul statistic neparametric Mann-Whitney. Nu s-au obținut rezultate semnificative statistic atunci când s-au comparat valorile durității smalțului între lotul martor și loturile cuprinzând dinții albiți cu ambele sisteme ($p > 0,005$).

Capitolul IX Studiu *in vitro* de stabilire a corelațiilor dintre indicele de microcristalizare salivară (IMK) și severitatea fluorozii dentare

Scopurile studiului

- ✓ Evaluarea indicelui de microcristalizare salivară la pacienții ce prezintă diferite grade de severitate de fluoroză dentară.
- ✓ Stabilirea corelațiilor dintre **indicele de microcristalizare salivară și severitatea fluorozii dentare**, în vederea stabilirii unor recomandări practice în ceea ce privește managementul terapeutic al fluorozii existente.

Material și metodă

Pentru realizarea acestui studiu au fost examinați clinic 114 copii cu vârste cuprinse între 7 și 14 ani din localitatea Amzacea, județul Constanța, unde cantitatea de fluor din apa potabilă are o concentrație de 2,8 mg/l. Examinarea clinică a fost efectuată în lumină naturală iar scopul acesteia a fost de a stabili severitatea fluorozii dentare în conformitate cu indicele Thylstrup-Fejerskov (Thylstrup A și Fejerskov O, 1978).

Pentru fiecare pacient s-a colectat saliva nestimulată într-o eprubetă gradată. Recoltarea salivei s-a efectuat la ora 12 a.m. (considerându-se că la această oră compoziția minerală a salivei este cea mai stabilă). Saliva a fost recoltată cu o pipetă gradată în aceeași cantitate (0.5ml) pentru toate probele și s-a aplicat pe o plăcuță de sticlă. Preparatul astfel obținut fiind uscat timp de 30 de minute la termostat (Termostat model TC-80M2, Producător Trade House Slave, Company, Inc, Moscova, Rusia) la o temperatură de +37°C, după care a fost studiat la microscopul Nikon Eclipse E 600 (Producător Nikon Instech Co., Ltd. Kawasaki, Japonia), imaginile fiind preluate și stocate în calculator.

Rezultate

Analizând rezultatele modificărilor de microcristalizare ale salivei la pacienții examinați, s-a putut concluziona că în toate cazurile, tipurile de microcristalizare s-au încadrat în una din următoarele forme: fulg, floare de păpădie; aspect de ferigă – caracteristice unui indice de microcristalizare crescut, respectiv unei capacități de remineralizare crescute a salivei; aspect ramificat; de brăduț, acilar, ramificare regulată, densă și combinații ale aspectelor enumerate anterior - caracteristice unui indice de microcristalizare mediu, respectiv unei capacități medii de

remineralizare; aspecte punctiforme multiple, formațiuni ovalare sau cubice - caracteristice unui indice de microcristalizare scăzut, respectiv unei capacități scăzute de remineralizare. Pentru stabilirea corelației dintre valorile indicilor IMK și severitatea fluorozei datele au fost analizate statistic. În urma analizei statistice s-a putut concluziona că nu există o corelație semnificativă între indicele de microcristalizare salivară și gradul de afectare prin fluoroză dentară.

Capitolul X Studiu in vitro al acțiunii fluorului din compusul CPP-ACP (cazein-fosfo-peptidă și fosfat de calciu amorf) asupra smalțului dentar utilizând SEM și sistemul EDX pentru microanaliza elementară

Scopurile studiului

- ✓ Evidențierea prin SEM a modificărilor morfologice induse *in vitro* în structura stratului de suprafață al smalțului dentar în condițiile de simulare a fluctuațiilor zilnice de pH din cavitatea orală, în prezența unor preparate de remineralizare cu și fără fluor.
- ✓ Evaluarea rezultatelor obținute privitoare la efectul terapeutic de remineralizare cât și a capacității de inhibare a demineralizării sub acțiunea acestor produși, utilizând sistemul EDX pentru stabilire compoziției chimice atât calitativ cât și cantitativ.

Material și metodă

Studiul a fost efectuat pe 15 molari trei integri, la care s-a indus formarea de leziuni carioase artificiale. Examinarea suprafețelor s-a realizat cu microscopul electronic SEM VEGA II LSH, (producător firma TESCAN Cehia) cuplat cu un detector EDX QUANTAX QX2, (producător firma Bruker/Roentec Germania). Utilizarea sistemului EDX tip QUANTAX QX2 a permis maparea suprafețelor examinate, stabilind compoziția chimică calitativă și cantitativă. S-au simulat condițiile dinamice, ciclice de pH ce apar zilnic în cavitatea orală, timp de 14 zile. Modelul pH-ului ciclic a fost initial descris de Featherstone *et al.* (1986) și apoi a fost modificat în urma mai multor experimente, până la stabilirea unui set de condiții de conservare suprafeței smalț și producerea de leziuni carioase anticipate. Probele au fost păstrate separat într-o soluție de demineralizare timp de 3 ore, și într-un produs remineralizant pentru 21 de ore, zilnic. După fiecare ciclu, probele s-au întors la 100 ml de apă distilată. Acest ciclu a fost repetat zilnic, timp de 14 zile. Probele de smalț au fost împărțite, aleator, în 3 loturi egale (n = 10), după cum se poate observa în tabelul de mai jos (Tabelul 14).

Tabelul 14. Structura loturilor de studiu

<i>Lot</i>	<i>Nr. probe</i>	<i>Modul de repartizare al probelor</i>
I.	10	Martor – pH ciclic
II.	10	pH ciclic și aplicare de Recaldent GC Tooth Mousse (CPP-ACP)
III.	10	pH ciclic și aplicare de Recaldent GC MI Paste Plus (CPP-ACP și 900 ppm fluor)

Probele prelucrate au fost examinate la microscopul electronic SEM VEGA II LSH, (producător firma TESCAN Cehia). Un avantaj substanțial în cadrul cercetării, l-a constituit posibilitatea utilizării sistemului EDX QUANTAX QX2 (producător firma Bruker/Roentec Germania) cuplat la SEM, care a permis maparea suprafețelor examinate, stabilind compoziția chimică calitativă și cantitativă. Observațiile efectuate au avut drept scop analiza modificărilor ce survin la nivelul suprafețelor dentare incluse în studiu în urma tratamentelor aplicate.

Rezultate În figurile ce urmează sunt exemplificate imagini ale smalțului integru (*Figura 1 a*) și imagini ale leziunilor artificiale create înainte (*Figura 1 b, c și d*) și după aplicarea regimului de pH ciclic (*Figura 2*). După cum se poate observa, suprafețele cu smalț integru se caracterizează printr-o structură ordonată, uniformă, continuă, cu spații intercristaline egale și de dimensiuni reduse (*Figura 1 a*). De asemenea, demineralizarea smalțului suprafață a fost mai pronunțată înainte de simularea fluctuațiilor zilnice de pH din cavitatea bucală (*Figura 1 b, c și d*) decât după aplicarea regimului de pH ciclic (*Figura 2*).

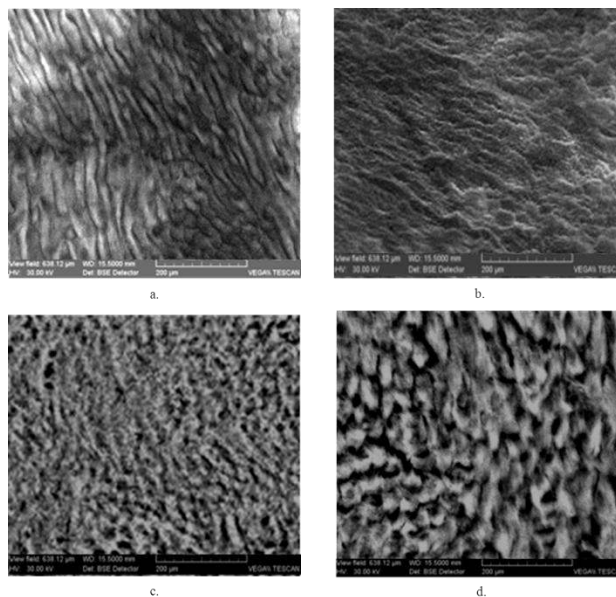


Figura 1 a) Imagine smalț integru. b), c) și d) Imagine smalț cu leziune carioasă artificial creată, după etapa de demineralizare. (SEM X 1000)

În urma dizolvării parțiale a cristalelor prin inducerea leziunii artificiale, structura superficială a smalțului devine poroasă, cu spații intercristaline mai largi, așa cum se poate vedea în figura de mai jos, ce exemplifică proba cu numărul 1 (*Figura 2 a,b,c*).

În cazul Lotului 1 RECALDENT™ GC Tooth Mousse, pe suprafața smalțului probei cu numărul 1, au fost observate neregularități microscopice sub formă de granule sau globule aderente (*Figura 3 a, b și c*). Acestea reprezintă fracțiunea minerală redepozitată, ca urmare a mobilizării calciului și fosfatului din CPP-ACP.

În cazul Lotului 3 RECALDENT™ GC MI Paste Plus, s-a putut observa, constituirea unui strat de reacție pe suprafața smalțului. Modificările morfologice ale suprafeței smalțului, după aplicarea CPP-ACPF, analizate la SEM au evidențiat prezența precipitatului globular în toate probele.

După cum se poate observa din Figura 3 a, b și c, ce exemplifică proba cu numărul 1, pe suprafața smalțului au fost observate structuri cristaline, amorfă, globulare având diferite dimensiuni și grade de aglomerare. Aceste depozite globulare nu acoperă în totalitate suprafața smalțului la nici una dintre probele observate la microscopul electronic (SEM).

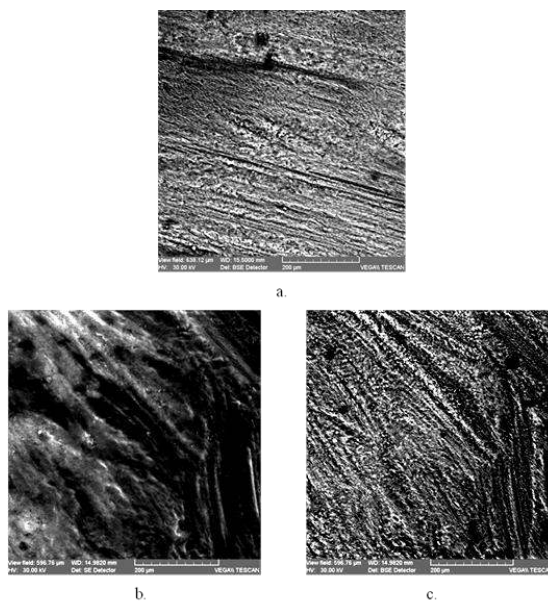


Figura 2 a) Imagine smalț Lot 1 Martor – Proba numărul 1- după aplicarea regimului de pH ciclic, b) și c) mărire (SEM X 1000)

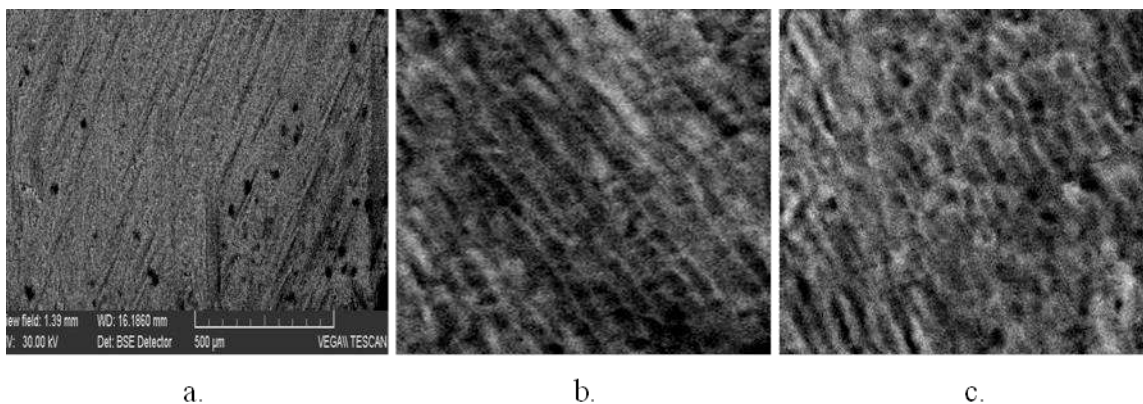


Figura 3 a) Imagine smalț Lot 2 RECALDENT™ GC Tooth Mousse - Proba numărul 1- (SEM X 500); b) și c) mărire (SEM X 1000) (reprezintă fracțiunea minerală redepozitată, ca urmare a mobilizării calciului și fosfatului din CPP-ACP)

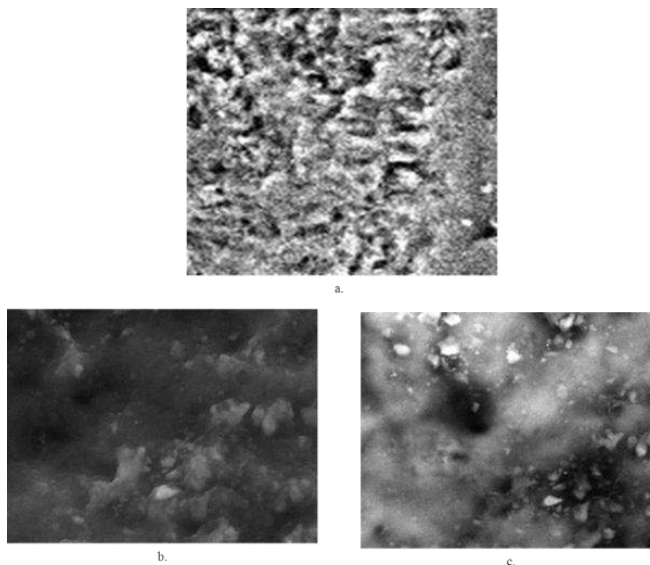


Figura 4 a) Imagine smalț Lot 3 RECALDENT™ GC MI Paste Plus - Proba numărul 1- (SEM X 500); b) și c) mărire (SEM X 1000) și evidențierea fluorului prin apariția precipitatului de formă globulară

Analiza EDX a evidențiat prezența de ioni de calciu și fosfor în toate secțiunile analizate. Fluorul a fost detectat în cantități reduse în cazul Lotului 1 Martor - Probele numărul 2 și 8, în cazul Lotului 2 RECALDENT™ GC Tooth Mousse - Proba numărul 1, 2, 6 și 9. În cazul Lotului 3 RECALDENT™ GC MI Paste Plus - analiza EDX a evidențiat prezența de ioni de fluor, în toate secțiunile analizate.

În cazul nivelului de Ca^{2+} de la nivelul zonelor de smalț analizate, s-a înregistrat o scădere semnificativă în cazul lotului Martor cu o creștere pentru lotul Tooth Mousse și creșterea accentuată în cazul lotului MI Paste. Aceeași tendință se poate observa și în cazul ionilor de P.

Pentru testarea omogenității varianței acestor valori a fost aplicat *testul Levene*. Scorul obținut a fost pentru Ca 1.319 la $\text{sig} = .284 > .05$ și pentru F 1.975 la $\text{sig} = .178 > .05$ ceea ce indică o diferență nesemnificativă, din punct de vedere statistic a acestuia (valabil pentru Ca^{2+} și F^-) conduce la concluzia că dispersiile în interiorul celor două grupuri sunt omogene.

În urma analizei ANOVA, s-a putut observa că valorile parametrului F au fost 16,279 pentru Ca^{2+} și 21,686 pentru F^- pentru un prag $p = 0.0001$, ceea ce permite respingerea ipotezei de nul și acceptarea ipotezei de cercetare conform căreia nivelul de calciu (Ca^{2+}) și fluor (F^-) variază semnificativ la nivelul smalțului în cazul celor 3 loturi. Pentru fosfor (P), ipoteza de cercetare fiind respinsă.

Capitolul XI Studiu *in vitro* privind modificările morfologice ale smalțului produse prin acțiunea a trei produse fluorurate: evaluare SEM/EDAX

Scopul studiului

- ✓ Evaluarea comparativă a morfologiei suprafeței smalțului și evaluarea analitică a ionilor de calciu și fluor după aplicarea topică a trei soluții de fluorura de sodiu: A, B, având aceeași concentrație (0,05%) și C, cu concentrație mai ridicată (0,1%).
- ✓ Evaluarea capacității de remineralizare de soluției A care nu a mai fost studiată anterior.

Material și metodă

- ✓ Evaluarea profunzimii de remineralizare s-a realizat cu ajutorul tehnicilor de stereomicroscopie corelate cu datele sistemului EDAX.
- ✓ Analizarea posibilelor modificări morfologice ale suprafeței smalțului s-a realizat cu ajutorul tehnicilor de microscopie electronică prin scanare (SEM), iar analiza cantitativă a compoziției elementale a depozitelor de pe suprafață s-a realizat cu ajutorul sistemului EDAX spectrometru cu dispersie după energie.
- ✓ Evaluarea rezultatelor obținute în ceea ce privește efectul terapeutic de remineralizare cât și a capacității de inhibare a demineralizării sub acțiunea acestor produși și compararea acestora cu datele din literatură, utilizând teste statistice corespunzătoare.

În acest studiu s-au utilizat doisprezece premolari indemni ce au fost extrași în scop ortodontic de la pacienți în vârstă de 12-15 ani. Fiecare grup a fost expus la altă soluție, după cum urmează: Grup A - Fluorostom - 0,05% fluorura de sodiu (220 ppm F), Grup B - Colgate Total Protection - 0,05% fluorura de sodiu (220 ppm F), Grup C - Sensodyne® Pronamel™ - 0,1% fluorura de sodiu (450 ppm F) și Grup M – apă distilată, grup martor.

Secțiunile subțiri de smalț demineralizat au fost introduse în 100 ml soluție conținând fluorura de sodiu în concentrații diferite, de două ori pe zi, timp de 30 de zile, astfel:

Tabelul 15. Produsele de remineralizare utilizate în studiu.

Nr. Crt.	Produsul aplicat	Cantitate	Conținutul de fluor	Frecvența aplicării	Modul aplicării
1.	Soluția A Fluorostom	100 ml	0,275g fluorura de sodiu (220 ppm F)	2 aplicări pe zi timp de 30 zile	Introducere a probei în soluție
2.	Soluția B Colgate total Protection	100 ml	0,05% fluorura de sodiu (220 ppm F)		
3.	Soluția C Sensodyne Pro Namel	100 ml	0,1% fluorura de sodiu (450 ppm F)		
4.	Soluția M apă distilată	100 ml	0%		

O secțiune din fiecare dinte a fost introdusă în soluția M și a fost considerată din grupul de control. După fiecare introducere în soluția fluorurată, secțiunile au fost clătite cu apă și au fost păstrate, în intervalul de timp dintre aplicări, în 100 ml apă distilată. Soluția fluorurată a fost reînnoită zilnic. Toate aceste proceduri au fost realizate la temperatura de 26°C. Examinarea suprafeței a fost efectuată cu ajutorul unui microscop electronic cu scanare (Olympus SZX7). Concentrațiile ionilor de calciu și fluor de pe suprafața smalțului au fost evaluate cu ajutorul

sistemului EDX (Inspect S. Compania FEI) care a permis maparea suprafețelor examinate, stabilind compoziția chimică calitativă și cantitativă.

Rezultate

Probele prelucrate au fost examinate la microscopul electronic iar imaginile reprezentative ale demineralizării inițiale (etapa de demineralizare) a fiecărei secțiuni și ale remineralizării (etapa de remineralizare) s-au obținut la o mărire de $\times 2000$ (Figura 5a, b și c). Pe aceste imagini s-au realizat măsurători (exprimate în μm) ale demineralizării inițiale în 3 puncte și ale remineralizării (etapa de remineralizare) în alte 3 puncte. Valorile medii ale adâncimii de remineralizare au fost: pentru A 5,73 microni [2.4-12 microni], pentru B 5,63 microni [2,5 - 12,7 microni] și [8,28 microni 2,91-15,54 microni] pentru C, la un interval de încredere de 95% (Tabelul 16).

Tabelul 16 Valorile medii ale adâncimii de demineralizare, demineralizare reziduală și remineralizare pe fiecare grup de studiu:

Grup	Demineralizare inițială (μm)	Demineralizare reziduală (μm)	Remineralizare (μm)
GRUP A Fluorostom	21.15 [13.6 - 37.30]	15.53 [10.8 - 27.8]	5.73* [2.4.-12]
GRUP B Colgate total Protection	19.33 [10.4 - 33]	13.79 [4.2 - 29.8]	5.63* [2.5 - 12.7]
GRUP C Sensodyne Pro Namel	31.25 [13.5 – 51.9]	21.87 [8.7 - 38.9]	8.28* [2.91.-15.54]

*Paired difference t-test; $p < 0.05$

95% Confidence Interval

Testul t -Student, aplicat pentru valorile medii, a arătat diferențe semnificative statistic între A față de C ($p = 0,0006$) și B față de C ($p = 0,003$) și fără diferențe semnificative statistic între A și B ($p = 0,83$) (Tabelul 17).

Tabelul 17 Analiză comparativă a valorilor medii între grupurile de studiu

Grup	Diferențe între valorile medii (μm)	t statistic	Semnificație statistică
GRUP A versus GRUP B	21.15 versus 15.53	0.20	0.88*
GRUP A versus GRUP C	19.33 versus 13.79	-3.76	0.0006*
GRUP B versus GRUP C	31.25 versus 21.87	-3.09	0.003*

*Paired difference t-test; $p < 0.05$

95% Confidence Interval

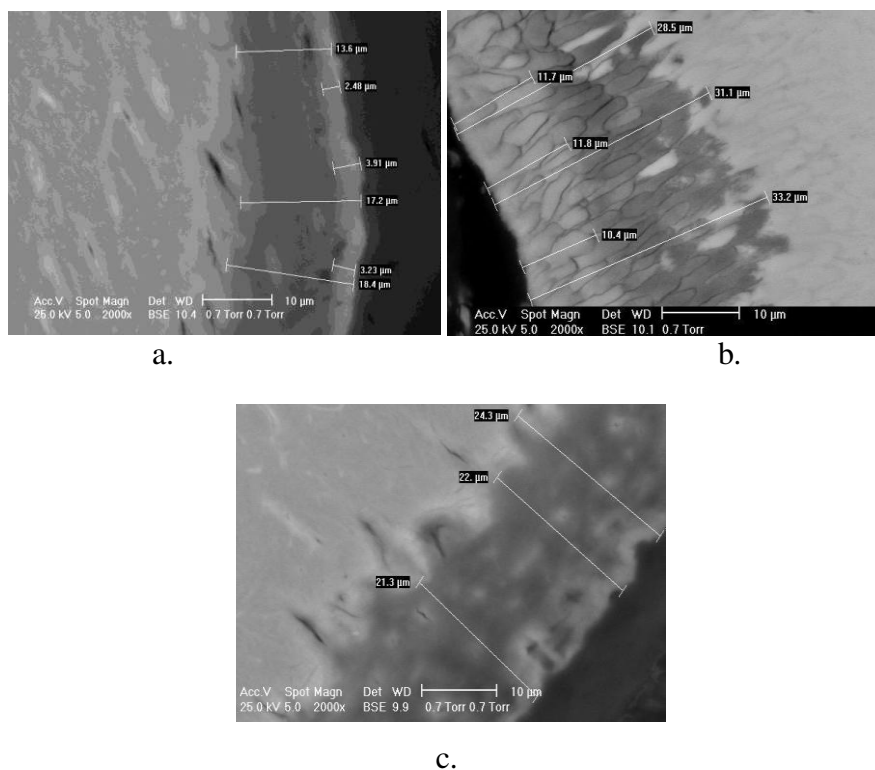


Figure 5 a, b, c Măsuratori ale adâncimii de pătrundere a florului:
a) soluția A, b) soluția B, c) soluția C SEM 25.0kV, mărire x2000

În imaginile ce urmează am exemplificat suprafața de smalț integru (*Figura 6*), imaginea smalțului demineralizat (*Figura 7*).

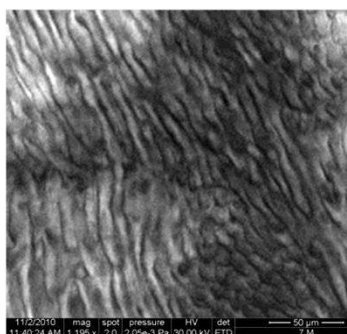
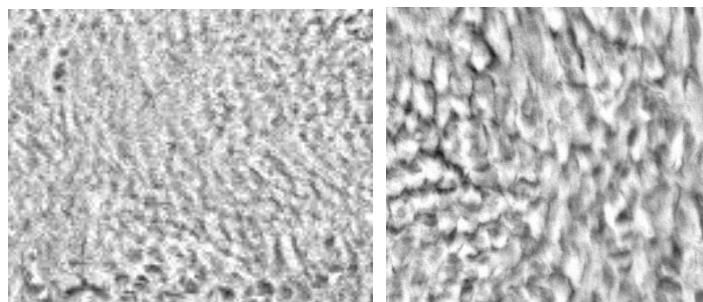


Figura 6. Imagine smalț integru – proba 7 martor (SEM, marire x1195)

În urma demineralizării cu acid fosforic 37%, timp de 60 de secunde, s-a realizat un tipar de demineralizare de tip III, cu un model neregulat de demineralizare (Legler *et al.*, 1990) structura superficială a smalțului devenind poroasă, cu spații intercristaline mai largi, așa cum se poate vedea în figura de mai jos (*Figura 6 a și b*). Deoarece lotul martor demineralizat nu a fost supus acțiunii unei soluții fluorurate, aspectul la SEM al smalțului de suprafață nu a fost modificat, imaginea arătând o situație similară cu demineralizarea.



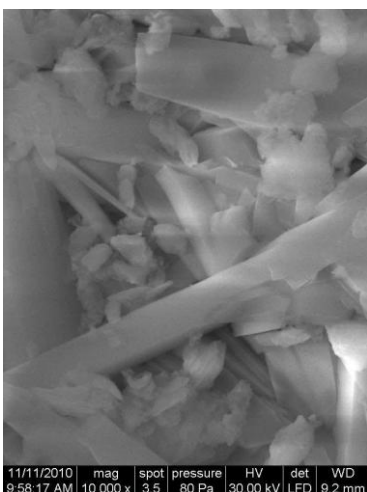
a.

b.

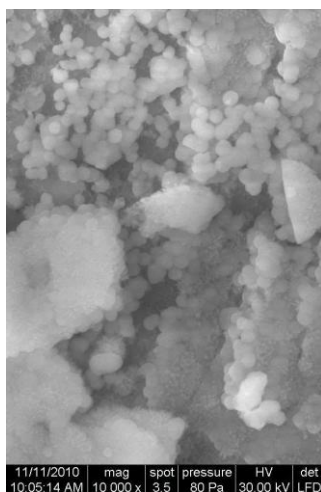
**Figura 7 a și b. Imagine smalț demineralizat - tipar de demineralizare de tip III
proba 7 martor demineralizat (SEM, mărire x1195 și x2000)**

Imaginile de microscopie electronică a evidențiat prezența unor modificări morfologice pe suprafeței smalțului, după aplicarea fluorului sub forma unor precipitate globulare la toate probele (Figura 8 a b și c). Mărimea și gradul de aglomerare al structurilor cristaline, amorse, globulare a variat în funcție de concentrația fluorului. Aceste depozite globulare nu acoperă complet suprafața smalțului la nici una dintre probele observate.

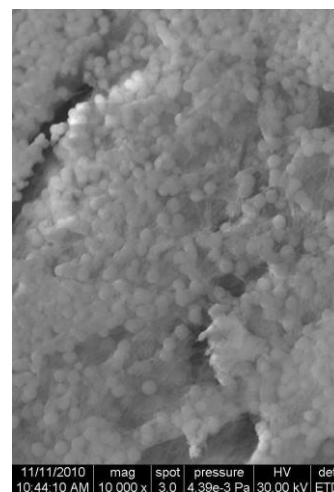
Densitatea depozitelor de pe suprafața smalțului a fost mai mare atunci când concentrația de fluor a fost mai mare, grupul C (Figura 8 c). Depozitele globulare observate pe suprafața probelor de smalț, tratate cu concentrații mai mici de fluor, au fost mai puține, dar mai mari (Figura 8 a și b). Depozitele au fost sferice, indiferent de concentrația de fluor utilizată (Figura 9).



a.



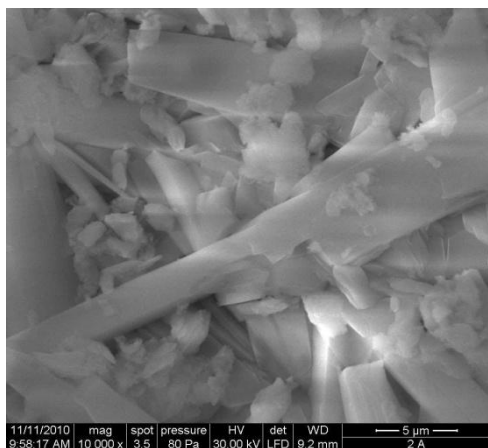
b.



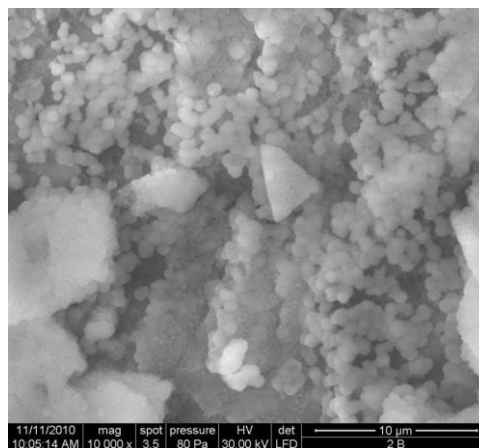
c.

Figura 8. Densitatea depozitelor de CaF_2 pe suprafața smalțului

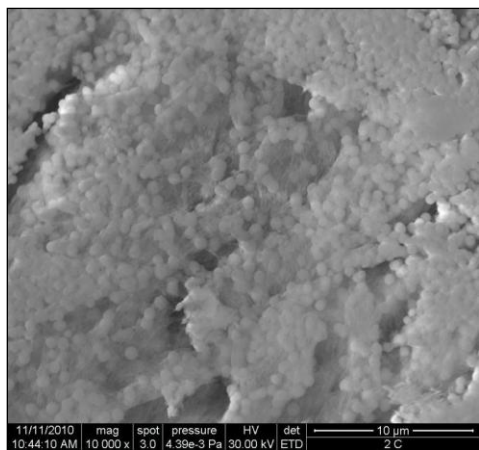
a) Grup A: Fluorostom fluorura de sodiu, 220 ppm F⁻; b) Grup B: 0,05% fluorura de sodiu, 220 ppm F⁻; c) Grup C: 0,1% fluorura de sodiu, 450 ppm F⁻ la o marire de x10000



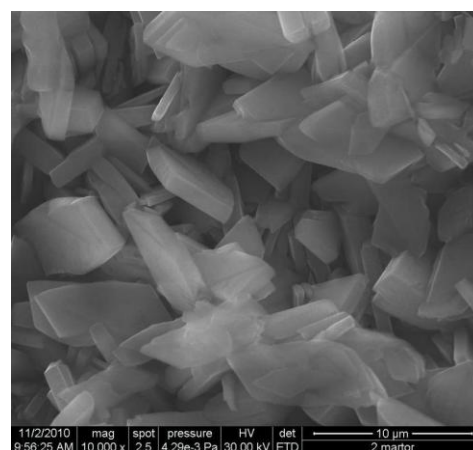
a. Dintele nr.2: 2A.



b. Dintele nr.2: 2B.



c. Dintele nr.2: 2C.



d. Dintele nr.2: 2 martor

Figura 9. Evidențierea prezenței F^- pe suprafața smalțului sub formă de precipitat globular (a, b, c) și aspectul suprafeței smalțului pe secțiunea probei martor ($\times 10\,000$)

Analiza EDAX a evidențiat prezența de ioni de Ca și F, în toate secțiunile analizate. După colectarea EDAX spectrului de frecvențe, o identificare automată a elementelor a fost efectuat, urmată de cuantificarea per / element, astfel încât litera care apare după fiecare element este nivelul energetic pe care s-a făcut colectarea. Colectare a fost făcută la trei nivele de energie: K, L și M (Wt- reprezintă procente de masă iar At- reprezintă procente atomice).

Calciul a fost elementul predominant în toate secțiunile studiate. Semnalele de fluor au arătat o tendință de creștere probele tratate cu soluții de concentrație mai mare (grupul C) și semnale pentru grupul A au fost similare cu cele din grupul B. În smalțul de grupul de control, fluor a fost sub limita de detectare. Rezultatele testului one-way ANOVA permite acceptarea ipotezei de cercetare conform căreia Ca și F vor varia în mod semnificativ în cele trei grupuri ($p = 0,0001$).

Capitolul XII Concluzii generale, contribuții personale și consecințe pentru activitatea practică

1. Analizând rezultatele primului studiu am constatat:
 - cel mai eficient, într-un timp mai scurt s-a dovedit a fi preparatul pe bază de calciu-fosfat, preparatele ierarhizându-se astfel: pe primul loc preparatul calciu-fosfat ; pe locul doi preparatul calciu-fosfat-fluor și pe locul trei preparatul cu fluor.
 - din punct de vedere al eficienței în timp (6-12 luni), capacitatea de remineralizare mai bună se observă în ordine descrescătoare astfel: la preparatul cu fluor; la preparatul calciu-fosfat-fluor și preparatul calciu-fosfat.
 - preparatul pe bază de calciu fosfat fluor se situează pe un loc intermediar ca eficacitate imediată și putere de acțiune în timp, între preparatul cu calciu fosfat și preparatul cu fluor. Acest lucru poate fi explicat prin faptul că el întrunește calitățile celorlalte două preparate la un loc.

În concluzie, eficacitatea, respectiv concentrația fluorului și durata sa de acțiune în mediul oral sunt corelate cu natura preparatului fluorurat (structura sa chimică) și modul de administrare a acestuia (doza și concentrația, durata și frecvența aplicării).

2. Analizând rezultatele studiului de determinare *in vitro* a acțiunii fluorului aplicat local asupra microdurității smalțului dinților albiți cu diferite sisteme profesionale de albire au demonstrat o scădere a microdurității smalțului sub acțiunea ambelor produse de albire incluse în studiu și o îmbunătățire a valorilor microdurității post-albire după aplicarea agentului de remineralizare. Astfel se dovedește necesitatea includerii în cadrul protocolului clinic de albire a unei etape de remineralizare, pentru a contracara efectele secundare ce pot apărea la unii pacienți în special în cazul utilizării unor concentrații crescute de peroxid de carbamidă.

În concluzie, se poate afirma faptul că preparatele pe bază de fluor reprezintă o soluție optimă ce poate fi utilizată în terapia de albire. Ele fiind extrem de benefice atât în prevenirea cât și în contracararea unor fenomene de hipersensibilitate dentară ce pot să apară după ședințele de albire.

3. În studiul paraclinic de evaluare a acțiunii fluorului asupra capacității de remineralizare a salivei cuantificată prin indicii de microcristalizare salivară (IMK) la pacienții cu fluoroză și carie nu s-a putut stabili o corelație semnificativă între valorile indicelui de microcristalizare salivară și gradul de afectare prin fluoroză.

Cu toate acestea:

- Cercetările efectuate au evidențiat faptul că acest indice poate constitui un instrument util în evaluarea cariosusceptibilității pacienților cu fluoroză, contribuind la stabilirea riscului cariogen și consecutiv, la alegerea protocolului profilactic și terapeutic personalizat al pacientului.
- Posibilitatea testării capacității de remineralizare a salivei, pentru fiecare pacient în parte, reprezintă un real ajutor în predicția tipului de carioactivitate individuală a pacientului.
- Indicele IMK, indicator al capacității de remineralizare al salivei, poate fi evaluat printr-o metodologie relativ simplă, accesibilă și necostisitoare.

4. În urma evaluării comparative a observațiilor SEM asupra probelor tratate cu produsele remineralizante Tooth Mousse și MI Paste Recaldent în regim de pH ciclic alternativ se poate remarca o contribuție semnificativă a calciului, fosfaților și în special a fluorului în modificarea structurii morfologice a leziunii de smalț.

În urma rezultatelor obținute putem concluziona că preparatele pe bază de CPP-ACPF: Caseină Fosfopeptidă -Fluor Fosfat Amorf de Calciu) și în special cele în combinație cu fluor au efecte benefice de remineralizare asupra leziunilor carioase incipiente cât și asupra contracarării efectelor de demineralizare consecutiv simulării fluctuațiilor zilnice de pH din cavitate orală într-un interval de 14 zile, constatate în special la Lotul Martor.

5. În urma celui de-al doilea studiu în care am utilizat tehnicile de microscopie electronică prin scanare SEM și microanaliza elementelor componente prin EDX pentru evidențierea modificărilor induse in vitro în structura stratului superficial al smalțului dentar in vitro studiu se pot desprinde următoarele concluzii:

Adâncimea de remineralizare, determinată de soluțiile care conțin fluorură de sodiu, depinde de concentrația de fluor și nu au fost diferențe semnificative din punct de vedere statistic între probele tratate cu aceeași concentrație de fluorură de sodiu. S-a obținut o diferență semnificativă din punct de vedere statistic atunci când o concentrare mai mare de fluorură de sodiu a fost utilizată.

După acțiunea Fluorostomului, pe suprafața smalțului s-au format structuri amorfe globulare de CaF_2 similare celor observate în probele tratate cu Colgate Total, care conține aceeași cantitate de fluorură de sodiu. Prin urmare ambele produse pot fi recomandate, deoarece produc structuri globulare de CaF_2 , ce pot servi ca rezervoare de fluor.

Analiza calitativă EDAX a evidențiat prezența semnalelor date de ionii de fluor în toate probele tratate cu soluții de fluorură de sodiu.

Rezultatele acestui studiu sugerează faptul că, produsul românesc Fluorostom, este eficient pentru menținerea unor niveluri constante de fluor pe suprafața smalțului și produce efecte benefice asupra reducerii solubilității și promovării remineralizării smalțului. Acest lucru era de așteptat, deoarece conține aceeași concentrație de fluorură de sodiu, potențialul de remineralizare al Fluorostom fiind același cu cel produs de către Colgate Total.

Consecințe pentru activitatea practică

Finalizarea tezei de doctorat, prin concluziile punctate la fiecare din capitolele din partea personală, implică o serie de consecințe practice. Parte din acestea susțin sau completează concluziile studiilor din literatura de specialitate consultată, iar o altă parte, cea care stă la baza acestei cercetări:

- ✓ conturează în mod clar mai multe aspecte ale efectelor pe care le are fluorul din produsul românesc Fluorostom asupra țesutului dentar dur: efectele sale benefice de remineralizare

și

- ✓ subliniază efectele patologice ale aportului crescut de fluor din județul Constanța, precum și caracteristicile structurale și morfologice ale dinților în aceste situații. Deoarece trăim într-o perioadă în care progresul științific și viteza informațională sunt într-o dezvoltare continuă, persistă necesitatea de a decanta și selecta informația obținută în vederea aplicării în practică a posibilităților celor mai noi și mai eficiente, adaptate la specificul fiecărui caz în parte.

În această teză se pune un accent deosebit pe importanța înțelegerii mecanismelor ce se desfășoară în interiorul structurilor dure dentare sub acțiunea fluorului, cât și a efectelor acestuia în condiții diferite, de aport favorabil, de exemplu în terapia de remineralizare aplicată în situații patologice diferite, cât și în cazul unui aport extrem, în cazul fluoroziei dentare.

Confirmând rezultatele obținute în urma derularii Programului National de Prevenire a Cariei Dentare I.5, program ce a constat în clătiri săptămânale, timp de un minut cu soluție „Fluorostom”, ce s-a adresat copiilor cu vârste între 6 și 11 ani (clasele I-IV) din întreg județul (Amariei C. și colab., 2005, 2009), consider că aceste date vor fi utile atât medicilor dentiști cât și medicilor pediatri din județul Constanța în vederea prescrierii corecte a produselor fluorurate.

Bibliografie selectivă

1. Amariei C, Nuca C, Arendt C, Jipa IT, Bartok FF. The National Prevention Programme in Constanta: results between 2001-2007. OHDMBSC. 2009; VIII(3).
2. Andreescu C, Iliescu A. Compoziția și structura țesuturilor dure dentare. Editura Cerma SRL, București. 1995.
3. Chow LC, Takagi S, Frukhtbeyn S, Sieck BA, Parry EE, Liao NS, et al. Remineralization effect of a low-concentration fluoride rinse in an intraoral model. Caries Res. 2002; 36:136-41.
4. Cirano F.R., Romito G.A., Todescan J.H. (59. 2003). Determination of enamel and coronal dentin microhardness. Braz J Oral Sci. 2(6):258-263.
5. Cruz RA, Rölla G. The importance of calcium fluoride as fluoride reservoir on enamel surfaces. Rev Odont USP 1991;5:134-139
6. Cuculescu M. Prevenție primară în carie și parodontopatii. Ed. Didactică și Pedagogică R.A., București, 2010
7. Dănilă I. Dentistica preventivă. Ed. Didactică și Pedagogică București, 2005
8. De Freitas PM, Turssi CP, Hara AT, Serra MC. Monitoring of demineralized dentin microhardness throughout and after bleaching. Am J Dent 2004; 17: 342-6.
9. Duschner H., H. Götz, and B. Ögaard, Fluoride Induced Precipitates on Enamel Surface and Subsurface Areas Visualized by Electron Microscopy and Confocal Laser Scanning Microscopy, Eur. J. Oral. Sci. 1997; 105, 466-472
10. Gerould CH. Electron microscope study of the mechanism of a fluorine deposition in teeth. J Dent Res 1945; 24:223-233.
11. Grobler SR, Majeed A, Moola MH. Effect of various tooth-whitening products on enamel microhardness. SADJ. 2009 Nov;64(10):474-9.

12. Hegde MN, Moany A. Remineralization of enamel subsurface lesions with casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: A quantitative energy dispersive X-ray analysis using scanning electron microscopy: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2012; 15:61-7.
13. Legler LR, Retief DH. Bradley EL: Effects of phosphoric acid concentration and etch duration on enamel depth of etch: An in vitro study. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1990; 98: 154-160.
14. Marisol NAVARRO, Luciane Almeida MONTE ALTO, Roberval Almeida CRUZ, Juliana PRAZERES , Calcium Fluoride Uptake by Human Enamel after Use of Fluoridated Mouthrinses, *Braz Dent J* (2001) 12(3): 178-182 ISSN 0103-6440
15. Nucă C, Amariei C, Totolici I. Fluorul in medicina oro-dentara, Ed. Muntenia Constanta 2005:77-88, 96-101.
16. Ten Cate JM. In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res* 1990; 69:614-619.
17. ten Cate JM, Exterkate RA, Buijs MJ: The relative efficacy of fluoride toothpastes assessed with pH cycling. *Caries Res* 2006, 40(2):136-141.
18. Thylstrup A, Fejerskov O. Clinical appearance of dental fluorosis in permanent teeth in relation to histological changes. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1978; 6, 315-328.
19. Victorova T. Image processing in research of saliva. 2011 International Siberian Conference on Control and Communications (SIBCON), Conference Publications, 2011, 279 - 284
20. Rølla G, Saxegaard E. Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition. *J Dent Res.* 1990;69 (Spec Iss):780-5.
21. Yengopal V, Mickenautsch S. Caries preventive effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP): a meta-analysis. *Acta Odontol Scand.* 2009; 67:321-32.