

**Model farmacològic per a
valorar substàncies carióstàtiques**

JORDI MARTÍNEZ I GOMIS

Facultat d'Odontologia. Universitat de Barcelona

UNIVERSITAT DE BARCELONA
FACULTAT D'ODONTOLOGIA

Model farmacològic per a valorar substàncies cariostàtiques

Tesi presentada per a optar al grau de doctor en
Odontologia per JORDI MARTÍNEZ I GOMIS,
licenciat en Odontologia



UNIVERSITAT DE BARCELONA

Directores: Sílvia Sánchez González
M. Eulàlia Planas Domingo

Biblioteca
Àrea de Ciències de l'Odontologia
CAMPUS DE BELLERÚS

Programa de Doctorat: Tècniques Clíniques en Odontoestomatologia
Unitat Departamental d'Odontoestomatologia
Bienni 1991-1993
Tutor: Cosme Gay Escoda

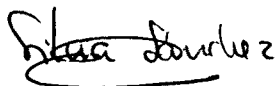
TD248

L'Hospitalet de Llobregat, juliol 1994

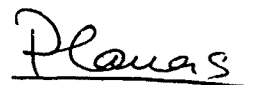
La Dra. Sílvia Sánchez González, professora titular de Farmacologia de la Facultat d'Odontologia de la Universitat de Barcelona, i la Dra. M. Eulàlia Planas Domingo, professora titular de Farmacologia de la Facultat d'Odontologia de la Universitat de Barcelona,

CERTIFIQUEN: Que la present tesi doctoral, presentada per Jordi Martínez i Gomis amb el títol "Model farmacològic per a valorar substàncies cariostàtiques" ha estat realitzada sota la nostra direcció.

I perquè consti als efectes oportuns firmem el present certificat a L'Hospitalet de Llobregat, a vuit de juliol de mil nou-cents noranta-quatre.



SÍLVIA SÀNCHEZ GONZÀLEZ



M. EULÀLIA PLANAS DOMINGO

A la Salut

Vull expressar el meu agraïment a tothom qui ha fet possible que aquesta tesi sigui una realitat:

En primer lloc a les Dres. Sílvia Sànchez i M Eulàlia Planas per la direcció d'aquest treball, per haver-me animat a iniciar-me en el camp de la recerca i per fer-me costat en tot moment durant els darrers cinc anys.

A la Salut Sànchez, i a en Carles Ortuño per la inestimable col·laboració tècnica de la part experimental i d'ordinador i per resoldre tots els problemes els quals en molts moments jo no trobava solució.

Als meus companys Pere Guillén, Àlex Fernàndez i Xavier Planelles pel seu ajut en la tasca experimental i per la seva amistat.

A la secció d'Odontologia Preventiva i Comunitària de la Facultat D'Odontologia de la Universitat de Barcelona per l'assessorament en el camp del fluor.

A Jaume Canela per donar-me un cop de mà en l'anàlisi estadística.



UNIVERSITAT DE BARCELONA

Biblioteca
Àrea de Ciències de la Salut
CAMPUS DE BELLVITGE

A Leocadio Rodríguez per ensenyar-me a extreure el màxim de suc en els resultats, sobretot en la part d'interpretació i d'estadística.

Al Dr. Verdaguer per a la preparació dels cultius d'estreptococs.

Als meus amics dels laboratoris de bàsiques de la Facultat d'Odontologia pel suport moral que em donaven dia a dia.

I finalment als meus pares i al meu germà pel seu esforç, patiment, però en el fons il·lusió, durant tots aquests anys de vida universitària.

ÍNDIX

1. INTRODUCCIÓ	3
<u>1.1. Relació xerostomia-càries dental en humans</u>	3
1.1.1. Càries dental en humans	3
1.1.1.1. Epidemiologia. Prevalença i incidència.	3
1.1.1.2. Etiologia i patogènia de la càries	4
1.1.1.3. Factors etiològics	5
1.1.1.3.1. Factors microbiològics	5
1.1.1.3.2. Factors dietètics	6
1.1.1.3.3. Factors individuals	8
1.1.2. Xerostomia en humans	10
1.1.2.1. Epidemiologia. Prevalença i incidència.	10
1.1.2.2. Repercussió oral de la xerostomia	13
1.1.3. Fàrmacs xerostòmics. Psicofàrmacs	14
1.1.3.1. Fàrmacs xerostòmics.	15
1.1.3.2. Relació psicofàrmacs-xerostomia.	17
1.1.3.3. Antidepressius. Clomipramina	20
1.1.4. Mesures preventives de la càries dental.	22
1.1.4.1. Factors bacterians	23
1.1.4.2. Factors dietètics	24
1.1.4.3. Factors del subjecte	24
1.1.4.3.1. Saliva: Estimulants i substituïts de	
saliva	25

A Leocadio Rodríguez per ensenyar-me a extreure el màxim de suc en els resultats, sobretot en la part d'interpretació i d'estadística.

Al Dr. Verdaguer per a la preparació dels cultius d'estreptococs.

Als meus amics dels laboratoris de bàsiques de la Facultat d'Odontologia pel suport moral que em donaven dia a dia.

I finalment als meus pares i al meu germà pel seu esforç, patiment, però en el fons il·lusió, durant tots aquests anys de vida universitària.

ÍNDEX

1. INTRODUCCIÓ	3
<u>1.1. Relació xerostomia-càries dental en humans</u>	3
1.1.1. Càries dental en humans	3
1.1.1.1. Epidemiologia. Prevalença i incidència.	3
1.1.1.2. Etiologia i patogènia de la càries	4
1.1.1.3. Factors etiològics	5
1.1.1.3.1. Factors microbiològics	5
1.1.1.3.2. Factors dietètics	6
1.1.1.3.3. Factors individuals	8
1.1.2. Xerostomia en humans	10
1.1.2.1. Epidemiologia. Prevalença i incidència.	10
1.1.2.2. Repercussió oral de la xerostomia	13
1.1.3. Fàrmacs xerostòmics. Psicofàrmacs	14
1.1.3.1. Fàrmacs xerostòmics.	15
1.1.3.2. Relació psicofàrmacs-xerostomia.	17
1.1.3.3. Antidepressius. Clomipramina	20
1.1.4. Mesures preventives de la càries dental.	22
1.1.4.1. Factors bacterians	23
1.1.4.2. Factors dietètics	24
1.1.4.3. Factors del subjecte	24
1.1.4.3.1. Saliva: Estimulants i substituïts de saliva	25

1.1.4.3.2. Dent: Segellat de fissures. Fluor	28
1.1.4.4. Fluor	28
1.1.4.4.1. Mecanisme d'acció	29
1.1.4.4.2. Acció sistèmica i tòpica	30
1.1.4.4.3. Formes d'aplicació	32
1.1.4.4.4. Fluor liposomat	32
<u>1.2. Càries experimental en la rata</u>	35
1.2.1. Animals d'experimentació	35
1.2.2. Inducció de càries en la rata	36
1.2.2.1. Factors etiològics	36
1.2.2.2. Característiques dentals de la rata.	39
1.2.2.3. Factors bacterians	44
1.2.2.4. Característiques i tipus de dieta	50
1.2.2.5. Protocol experimental	54
1.2.2.6. Quantificació de la càries en la rata	61
1.2.3. Inducció de xerostomia en la rata	70
1.2.3.1. Característiques de la saliva	70
1.2.3.2. Xerostomia irreversible	74
1.2.3.3. Xerostomia reversible	75
1.2.4. Efecte del fluor en la rata	76
1.2.4.1. Administració sistèmica	77
1.2.4.2. Administració tòpica	78
2. JUSTIFICACIÓ I OBJECTIUS DE L'ESTUDI	80

3. MATERIAL I MÈTODES	86
<u>3.1. Material Utilitzat</u>	89
<u>3.2. Mètodes</u>	90
3.2.1. Animals utilitzats	90
3.2.2. Dieta i beguda	92
3.2.3. Tractament dels animals	93
3.2.4. Flux salival estimulat	97
3.2.5. Determinació de la concentració de fluor en saliva	98
3.2.6. Preparació de la mandíbula	98
3.2.7. Quantificació de les càries	100
3.2.8. Anàlisi estadística	103
4. RESULTATS	106
<u>4.1. Consum de menjar</u>	110
<u>4.2. Consum de beguda</u>	113
<u>4.3. Augment de pes</u>	117
<u>4.4. Flux salival estimulat</u>	119
<u>4.5. Concentració de fluor en saliva</u>	121
<u>4.6. Valor de càries</u>	123
5. DISCUSSIÓ	136
<u>5.1. Model</u>	139
<u>5.2. Clomipramina</u>	141
<u>5.3. Fluor administrat per via sistèmica</u>	143
<u>5.4. Pilocarpina</u>	145

<u>5.5. Aplicació tòpica d'aigua destil.lada</u>	147
<u>5.6. Aplicació tòpica de fluorur sòdic</u>	147
<u>5.7. Aplicació tòpica de fluorur sòdic liposomat</u>	149
<u>5.8. Aplicació de clorur càlcic liposomat</u>	150
6. CONCLUSIONS	151
7. BIBLIOGRAFIA	156

1. INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ

1.1. Relació xerostomia-càries dental en humans

1.1.1. Càries dental en humans

1.1.1.1. Epidemiologia. Prevalença i incidència.

La càries dental és una de les malalties més prevalents de les que pateix l'home modern i de les que existeixen en tot el món. Més del 95% dels nortamericans han patit càries dental en algun moment de la seva vida. A Catalunya, malgrat que els darrers anys va disminuint la prevalença de càries sobretot en la població infantil, dels nens de 12 anys només el 38% està lliure de càries (Cuenca i Alvarez, 1991; Cuenca et al., 1992). A Anglaterra, el 83% de la població adulta (>35 anys) examinada en un estudi fet per Banting i cols. (1980) presentaven càries d'arrel. La càries dental és responsable en gran part del dolor odontològic i del 40-45% de les extraccions dentals (Katz et al., 1982).

1.1.1.2. Etiologia i patogènia de la càries

La càries dental és una malaltia que es caracteritza per una sèrie de complexes reaccions químiques i microbiològiques que donen com a resultat la destrucció final de la dent si el procés no s'atura. Aquesta destrucció és el resultat de la producció d'àcids per part dels bacteris que es troben al voltant de la dent i que són subproductes del metabolisme bacterià dels hidrats de carboni de la dieta. Generalment la càries s'inicia en l'esmalt però també es pot iniciar en l'arrel dentària degut a una malaltia periodontal o a una retracció gingival fisiològica.

La càries dental és, per tant, una malaltia multifactorial en la que existeix la interacció de tres factors principals: l'hoste (particularment la saliva i les dents), la microflora, i el substrate (carbohidrats de la dieta). A més d'aquests tres factors, caldrà tenir en compte un més, el temps, que s'haurà de considerar en tota exposició referent a l'etiologia de la càries (Vegeu figura 1.1).

Perquè s'origini la càries és necessari que les condicions de cada paràmetre siguin favorables. És a dir, perquè hi hagi càries cal un hoste susceptible, una flora oral cariogènica, i un substrate apropiat que hi haurà de ser present durant un període determinat.

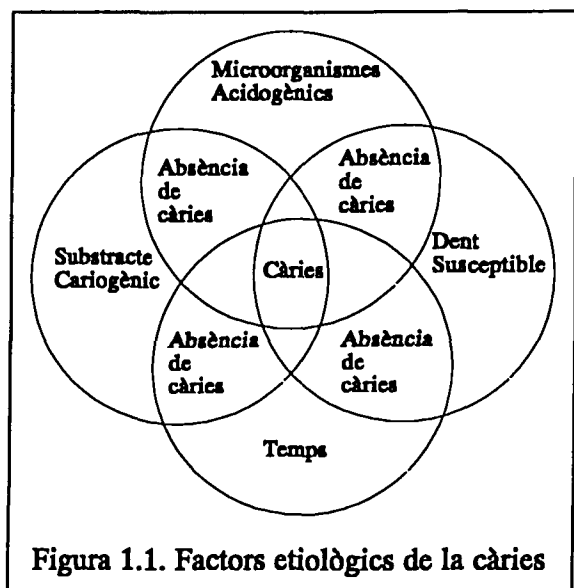


Figura 1.1. Factors etiològics de la càries

1.1.1.3. Factors etiològics

1.1.1.3.1. Factors microbiològics

El procés de la càries tindrà lloc o no en funció de si la flora de la cavitat oral és o no cariogènica, de la densitat o concentració d'aquesta flora, de les interaccions amb l'entorn bucal, i de la seva activitat metabòlica (potencial àcid i síntesi de polisacàrids).

La placa dental s'inicia per la formació d'una pel·lícula formada per proteïnes salivals. Després de formar-se aquesta pel·lícula es colonitza per bacteris que s'hi adhereixen mitjançant forces iòniques. La composició d'aquesta pel·lícula, que dependrà del tipus de dieta i altres factors, influirà en el tipus de bacteris que hi colonitzin. En el procés cariogen intervenen fonamentalment dos grups de bacteris: els estreptococs i els lactobacils. També es poden trobar enterococs, estafilococs i altres. Aquests bacteris tenen la capacitat de produir àcid i també de poder viure i reproduir-se en un medi àcid.

L'streptococ mutans va ser descrit per Clarke el 1924 després d'aïllar-lo de la dentina cariada. Fins els anys seixanta no es va enfocar l'interés sobre el paper que jugava aquest microorganisme en el desenvolupament de la càries dental, ja en aquell temps Fitzgerald i Keyes (1960) van demostrar el paper etiològic de certs estreptococs. Els lactobacils i els estreptococ mutans es troben en quasi totes les lesions de càries i la seva proporció en la placa i en la saliva està positivament relacionada amb la freqüència i activitat de la càries (Edwardsson, 1988).

1.1.1.3.2. Factors dietètics

Diferents estudis epidemiològics d'observació i experimentals han demostrat la gran relació que hi ha entre el consum de sucres refinats i la càries dental (Gustaffson et al., 1954; Serra Majem et al., 1993).

La placa juga un paper molt important en la formació de la càries dental. La formació de la placa dependrà del tipus d'aliment (sacarosa, altres sucres, altres carbohidrats), l'adhesivitat, i també de la freqüència d'ingesta. La presència d'una quantitat excessiva de sucres en la dieta afavoreix la formació de la placa dentària i del procés cariogen. Aquests sucres són fermentats per una sèrie d'enzims bacterians i es produeix, per una part, una sèrie de metabòlits àcids (àcids làctic, butíric, acètic) que ataquen directament l'esmalt dentari, descalcificant-lo i, per altra part, gràcies a l'acció bacteriana es produeixen alguns metabòlits com l'àcid glucònic i levònic que es polimeritzen formant respectivament dextrà i levà (principalment el primer). El dextrà és una substància insoluble, viscosa i adherent, que contribueix a la formació de la placa dentària a la superfície de l'esmalt. A més del dextrà, la placa dentària està composta per mucina, bacteris, residus alimentaris, cèl.lules epitelials descamades i macròfags. La placa protegeix els bacteris cariògens de l'agressió dels leucòcits, dels anticossos específics, del lisozim, de l'arrossegament mecànic de la saliva i fins i tot de la neteja mecànica, i perpetua el procés cariogen.

El pH de la placa bacteriana en dejuni sol ser estable i neutre o lleugerament àcid (pH= 6.5-7). Disminueix ràpidament després de l'exposició al sucre i es recupera lentament

(30 minuts) fins que torna al valor de repòs. Aquesta variació del pH es coneix com la corba d'Stephan. Si el pH disminueix per sota de 5.2-5.5 es comença a disoldre la hidroxiapatita de l'esmalt iniciant-se la càries. Aquest interval de pH s'anomena pH crític. Com més vegades es sobrepassi aquest pH crític més desmineralitzacions patirà l'esmalt, per tant el factor de freqüència d'ingesta és molt important (Mouton i Trahan, 1989).

Els sucres consumits en preparacions que s'adhereixen millor a les dents (caramels més tous i enganxosos) són més cariogènics que aquells que es presenten de forma menys adhesiva i que es disolen i es degluteixen amb major rapidesa. Les formes sòlides retentives de sucre produeixen més càries que les formes líquides.

En el procés cariogen també influeix el contingut de fluor, altres oligoelements, i fosfats de la dieta així com la textura dels aliments. Els dèficits de les vitamines A, D i C i d'algunes sals minerals (calci, fosfats) poden traduir-se en una mineralització imperfecta de l'esmalt i de la dentina, i en resulta una major susceptibilitat a la càries dental. Aquest fet té escassa repercussió en els països socio-econòmicament més avançats ja que existeixen pocs cassos d'hipovitaminosi. No obstant, en els països en desenvolupament aquests dèficits són un factor a considerar en la notable incidència d'hipoplàsia lineal de les incissives temporals, i explicarien el retard en la caiguda de les dents temporals i l'erupció retardada de les dents permanents.

1.1.1.3.3. Factors individuals

Hi ha factors genètics que determinen una susceptibilitat individual diferent davant la cariogènesi. Això s'ha demostrat mitjançant treballs d'investigació en animals, estudis en famílies, i, particularment recerques en bessons homozigòtics. Aquests factors es manifesten en:

a) La composició i l'estructura de l'esmalt dentari, en la presència o l'absència de fissures i de cavitats en la seva superfície, en la permeabilitat, contingut de fluor i altres oligoelements, presència de qualsevol displàsia, i en el disseny del seu trabeculat.

b) El disseny arquitectònic i la disposició de les dents en l'arcada dentària, i la presència o l'absència de maloclusions, tipus de maloclusions, presència d'àrees de dipòsit de la placa bacteriana.

c) La composició de la saliva, (en especial el seu contingut en calci, fosfats, fluor, glucoproteïnes, factors aglutinants, contingut bacterià), la seva activitat esmorteïdora i el seu pH, la presència de certs enzims (com el lisozim) en major o menor concentració, la resposta immunitària dels limfòcits B en anticossos secretors (IgA) davant els bacteris cariògens i davant la glucosil-transferasa.

A més d'aquests factors de tipus genètic, s'han de considerar una sèrie de factors adquirits, com les malalties cròniques, les radiacions ionitzants, els traumes psíquics, etc., i en les dones, l'embaràs. No obstant això, la importància d'aquests factors

adquirits és molt menor que la dels esmentats abans.

Les diferències racials van ésser considerades en certes èpoques i es continuen esmentant amb certa regularitat, malgrat que en quasi tots els casos s'ha pogut demostrar que eren degudes fonamentalment a factors exògens com la dieta, i primordialment a les diferències en la ingesta de sacarosa i de fluor (Cuenca et al., 1982; Cuenca et al., 1991; Silverstone et al., 1985).

La saliva té diverses funcions de les que destaquen la digestió i degustació, excreció, equilibri aquós i protecció. Aquesta darrera és la més important en relació a la càries dental. La saliva realitza moltes funcions protectores importants (Taula 1.1) (Baum, 1986). No només neutralitza els canvis àcids extrems de la cavitat bucal sinó també els aliments àcids i els àcids produïts per la placa bacteriana. Els enzims antibacterians i les substàncies com el lisozim, S-IgA, lactoperoxidasa i lactoferrina, poden ser importants com a determinants de l'ecologia bacteriana bucal. De gran importància és, també, la neteja física que fa la saliva en forma de rentat, dilució i desallotjament de restes alimentaris i bacteris de la cavitat bucal. La concentració de Ca^{2+} i PO_4^{3-} constitueix un mecanisme de defensa natural important per a protegir les dents contra la dissolució i per a permetre la remineralització de l'esmalt lleugerament gravat. Les secrecions mucinoses són importants per a protegir les mucoses bucals de la deshidratació (Nikiforuk, 1986; Thylstrup i Fejerskov, 1988). La saliva també participa en la maduració de l'esmalt quan les dents comencen a erupcionar (Mandel, 1989). En el cas de pacients portadors de pròtesi dental completa, la saliva ajuda a la retenció de la dentadura, sobretot la secreció de tipus mucós de les glàndules del paladar.

(Niedermeier i Krämer, 1992).

FUNCIÓ	SUBSTÀNCIES DE LA SALIVA IMPLICADES
1. Lubricant	glicoproteïnes riques en prolina bàsica
2. Remineralització	proteïnes riques en prolina àcida
3. Antibacteriana	IgA, lisozima, lactoferrina, lactoperoxidasa, mucina
4. Antifúngica	proteïnes riques en histidina
5. Digestió	amilasa, DNasa, RNasa, proteases, mucina,
6. Capacitat tamponadora	bicarbonat, fosfat

Taula 1.1. Principals funcions protectores de la saliva

1.1.2. Xerostomia en humans

1.1.2.1. Epidemiologia. Prevalença i incidència.

La xerostomia és un símptoma en que l'individu es queixa d'una sensació de sequedat de boca, degut a una hiposecreció de les glàndules salivals. El flux salival estimulat queda reduït per sota de 0.1 ml/min. Les queixes del pacient que més es poden relacionar amb hipofunció de les glàndules salivals són les següents; sensació de boca seca al menjar, dificultat en la deglució de menjar sec, o necessitat d'ingerir líquid per a empassar el menjar (Fox et al., 1987). La xerostomia pot ser la conseqüència de

diferents patologies i situacions, i aquesta hiposalivació pot ser reversible o irreversible (Fox et al., 1985; Billings, 1993).

Causas de xerostomia irreversible;

a) Exocrinopaties immunològiques com per exemple la síndrome de Sjögren, que consisteix en xerostomia, xeroftàlmia i una malaltia del teixit connectiu. Aquesta síndrome inclou, algunes vegades, la malaltia de Mikulicz.

b) Malalties neurològiques i altres malalties orgàniques

c) L'aplicació de radioteràpia de cap i coll en que les glàndules estan dins del raig primari. Aquestes glàndules pateixen atrofia, fibrosi i una reducció aguda en la secreció salival.

d) L'extracció quirúrgica de les glàndules salivals com a tractament d'algunes neoplàsies.

e) Absència, malformacions congènites, o canvis degeneratius de les glàndules salivals.

Causas de xerostomia reversible;

a) L'administració crònica de medicaments anticolinèrgics o també dits parasimpaticolítics.

- b) Obstrucció, inflamació o infecció vírica aguda de les glàndules salivals.
- c) L'ansietat, l'estrés, la depressió i altres alteracions psicològiques.
- d) Abús de tabac, alcohol i altres drogues.

En algunes de les patologies abans esmentades, la disminució del flux salival es va demostrar quantitativament, mentre que en altres és només una impressió clínica. Altres causes no específiques de xerostomia que s'han descrit són la respiració bucal o l'edat (Sreebny i Valdini 1988), malgrat que en altres estudis no s'ha trobat cap correlació entre l'edat i l'índex de secreció salival (Baum, 1986; Tylenda et al., 1988; Parvinen 1984; Thorselius et al., 1988).

En diferents estudis s'ha vist que la dona té un flux salival estimulat menor i es queixa més freqüentment de sequedat de boca que els homes (Parvinen, 1984; Sreebny i Valdini, 1988).

Osterberg i col·laboradors (1984) van observar en un estudi epidemiològic que un 16% d'homes i un 25% de dones d'una representació de la població sueca de més de 70 anys es queixaven de sequedat de boca.

1.1.2.2. Repercussió oral de la xerostomia

La xerostomia pot produir trastorns en la masticació, fonació i deglució, així com estomatitis, candidiasi oral, malaltia periodontal, alteracions del gust, problemes en la retenció de les pròtesis, i sobretot càries rampant (Bertram et al., 1979; Rundegren et al., 1985; Sreebny, 1989). Els pacients que es queixen de xerostomia habitualment prenen begudes ensucrades (refrescs, suc de fruita), mantenen caramels a la boca o masteguen xiclet per a alleugerir la sensació de sequedat de boca. Aquesta situació augmenta el risc de càries.

S'han descrit augments en la incidència de la càries associada amb xerostomia en casos que presenten la síndrome de Sjögren, i també després de seguir un tractament perllongat amb fàrmacs que disminueixen el flux salival. La càries rampant ha estat ben documentada en molts pacients sotmesos a radioteràpia de les glàndules salivals, independentment de si les dents es trobaven dins o fora del camp d'irradiació. En aquests casos esmentats la càries és atípica; freqüentment la lesió ataca l'àrea cervical, abasta el ciment i la dentina i progressa internament fins a tallar la corona. Algunes vegades té lloc un ràpid desgast de les superfícies incisal i oclusal amb o sense lesions cervicals (Newbrun, 1984).

La relació entre la saliva i la càries ha estat demostrada i reconeguda des de fa molts anys. Hill (1972) va descriure un cas d'una noia de 12 anys que va rebre un tractament quirúrgic de la glàndula paròtida dreta degut a un carcinoma mucoepidermoide, quedant-se només amb una glàndula salival major, la paròtida esquerra. Dos anys

després de l'operació, es va diagnosticar una càries rampant amb un patró inusual: A la dreta, la càries era considerablement extensa, afectant els quadrant superior i inferior; a l'esquerra, només es varen trobar petites cavitats.

1.1.3. Fàrmacs xerostòmics. Psicofàrmacs

Molts fàrmacs poden afectar la funció de les glàndules salivals i provocar sequedat de boca. Els ansiolítics s'usen amb freqüència durant llargs períodes en algunes malalties psíquiques amb l'objectiu de reduir l'ansietat, tensió i agitació pròpies de les esmentades afeccions. Quasi la meitat dels medicaments que prescriuen els psiquiatres són ansiolítics.

La xerostomia apareix concretament en pacients tractats amb psicofàrmacs com el liti, els antidepressius tricíclics i alguns antipsicòtics. Els antidepressius tricíclics causen una marcada disminució de la secreció salival durant la primera setmana del tractament, però aquesta secreció millora gradualment. Diversos factors poden estar implicats en la càries dental induïda pels antidepressius tricíclics, com per exemple la disminució de l'índex normal del flux salival originada per la pròpia malaltia.

Els antidepressius tricíclics s'utilitzen algunes vegades en nens pel tractament de l'enuresi. Un estudi recent ens mostra que nens que reben aquest tractament tenen també una alta incidència de càries dental. L'activitat de la càries només queda augmentada si el període de tractament és més llarg d'un mes. Aquests autors

suggereixen que la disminució de la secreció de saliva induïda per fàrmacs és la principal causa de l'augment de la càries dental. En qualsevol cas, això també suggereix que el nen enurètic es desperta més sovint durant la nit i sovint pren alguna beguda o algun menjar que conté sucre. No ens pot sorprendre que un nen enurètic que no reb tractament amb antidepressius tingui una més alta incidència de càries que el nen normal.

1.1.3.1. Fàrmacs xerostòmics.

Molts medicaments tenen com efecte secundari la disminució de la secreció salival i fins i tot pot alterar la seva composició (Tabak, 1993; Johnson i Cortez, 1988) i, el tractament perllongat amb aquests fàrmacs, pot donar com a resultat un quadre de càries rampant. Bahn (1972) va preparar una llista que inclou més de 250 medicaments amb potencial xerostòmic, com anticolinèrgics, antihistamínics, fàrmacs antiparkinsonians, antiemètics, analgèsics narcòtics, sedants hipnòtics no barbitúrics, antidepressius tricíclics i molts dels fàrmacs psicòtrops.

La medicació xerostòmica redueix un 40% el flux salival estimulat. El pH salival no queda alterat per la medicació. El canvi d'hàbits dietètics i higiènics i la durada del tractament són els factors més importants en l'agreujament de la càries (Persson et al., 1991).

Osterberg i col·laboradors (1984) van trobar una correlació directa entre els qui prenen

fàrmacs amb efectes secundaris de xerostomia i sensació de sequedat de boca. També van trobar una correlació negativa entre invalidesa dental i secreció salival sota tractament farmacològic. En general existeix una correlació negativa entre flux salival i número de fàrmacs xerostòmics presos en adults (Levy et al., 1988; Thorselius et al., 1988)

Més d'una tercera part de pacients en institucions geriàtriques reben un o més fàrmacs amb efectes secundaris de xerostomia. Aquests són principalment antidepressius tricíclics, antipsicòtics, i sedants (Handelman et al., 1986).

En un estudi realitzat en un centre de salut familiar es va observar que el 62% dels individus consultats prenen un o més fàrmacs i que el 29% es queixaven de boca seca. El nombre de fàrmacs presos diàriament està relacionat inversament amb el flux salival total. En el grup de població de més de 55 anys el 60% dels fàrmacs que prenen produeixen xerostomia, a més, la proporció de fàrmacs que presenten l'efecte secundari de xerostomia està directament relacionat amb l'edat. S'ha trobat, també, una associació positiva entre pacients que prenen antidepressius o antipsicòtics i sensació de xerostomia. Més de la meitat dels que prenen aquests psicofàrmacs es queixen de sequedat de boca. S'ha observat que els pacients que reben medicació xerostòmica tenen un índex de secreció salival disminuït tant si és en repòs com estimulada (Sreebny et al., 1989).

S'ha observat que l'administració d'analgèsics, antiarrítmics, antihipertensius i diurètics augmenta amb l'edat, en canvi l'us d'antidepressius i antihistamínics romanen constant

(Billings, 1993).

Kitamura i cols (1986) van trobar una forta correlació entre el nombre de fàrmacs administrats i l'índex de càries d'arrel en la població de més de 65 anys residents en un centre geriàtric. D'aquests fàrmacs destaquen els antidepressius i els antihipertensius.

1.1.3.2. Relació psicofàrmacs-xerostomia.

Parvinen i col·laboradors (1984) varen observar a Finlàndia que aproximadament un 40% d'una mostra de 1105 adults es medicaven. D'aquests, es va veure que els que prenién neurolèptics, antidepressius tricíclics o antihipertensius tenien el flux salival estimulat disminuït un 33% en relació als que no prenién cap fàrmac. Un 2% de la població adulta finaesa ha pres en alguna ocasió algun neurolèptic o antidepressiu tricíclic.

Persson i col·laboradors (1991), en una mostra de 40 vells acollits en centres geriàtrics, van observar que tant els psicofàrmacs com els diurètics reduïen aproximadament un 40% el flux salival estimulat, i si es prenién conjuntament la reducció salival podria arribar a un 60%.

La sensació subjectiva de sequedat de boca, probablement relacionada amb les propietats anticolinèrgiques, es nota a poques hores d'iniciar el tractament. L'efecte antidepressiu, probablement relacionat amb els efectes adrenèrgics i serotoninèrgics, no

s'observa fins al cap de 2-3 setmanes de tractament (Knorring i Mörnstad, 1981).

Hi ha pacients que només es queixen de sequedat de boca les primeres setmanes de tractament amb antidepressius, d'altres noten aquesta sensació de forma permanent. És més important pel pacient resoldre els problemes maníaco-depressius que la sequedat de boca però no per això s'ha de desestimar aquest efecte secundari. La secreció salival queda reduïda per sota de nivells patològics ($< 1\text{ml}/15$ minuts) en més de la meitat dels pacients que prenen nortriptilina (Bertram et al., 1979).

La imipramina produeix una reducció significativa en el pH salival. La imipramina disminueix un 12% l'índex de secreció salival en repòs, però un 72% si és estimulat. Una estimulació química pot trencar aquest efecte anticolinèrgic d'aquests fàrmacs. Això permet explicar la discordància entre l'experiència subjectiva de sequedat de boca i les mesures objectives d'índex de secreció durant l'estimulació. La millor via per determinar l'índex de secreció salival és en repòs (Knorring i Mörnstad, 1981).

Una característica habitual en la pràctica clínica en pacients sota tractament amb psicofàrmacs és un augment relatiu en la viscositat de la saliva causat per l'augment de glicoproteïnes (Knorring i Mörnstad, 1981).

Rydgren (1976) en un estudi fet a 566 pacients d'un hospital psiquiàtric va observar un empitjorament de la salut oral dels pacients que rebien tractament psicofarmacològic.

Lucas (1993) va trobar un augment de la prevalença de candidiasi oral, estomatitis i una

pitjor higiene en els pacients que rebien un tractament crònic amb psicofàrmacs.

La funció de les glàndules salivals és regulada pel sistema nerviós autònom, però diverses hormones i fàrmacs poden modular l'efecte de l'estimulació nerviosa (Mörnstad et al., 1986).

Un 40.9% dels pacients que prenen clomipramina pateixen sequedat de boca al cap de 6 setmanes de tractament (Noguera et al., 1991).

La pròpia depressió, un estat d'ansietat, o unes tendències neuròtiques poden disminuir l'índex de secreció salival sense pendre psicofàrmacs (Lamb et al., 1988). A més, molts pacients amb depressió aguda canvien els seus hàbits de higiene oral i de dieta. La suma dels efectes de la pròpia malaltia, dels fàrmacs, i del canvi d'hàbits dietètics i higiènics complica la situació i compromet al pacient a un alt risc de càries. La majoria d'aquests pacients tenen uns baixos valors de capacitat tampó, alts índexs d'estreptococ mutans i lactobacils en la saliva i una pobra higiene oral (Rundegren et al., 1985).

Ja al 1967 es va descriure el cas d'un pacient que va perdre per càries 10 de les 12 dents que tenia durant el tractament amb antidepressius i antipsicòtics. Un cop suspès aquest tractament va mantenir les dues dents sense càries (Winner i Bahn, 1967).



UNIVERSITAT DE BARCELONA

Biblioteca
Àrea de Ciències de la Salut
CAMPUS DE BELLVITGE

1.1.3.3. Antidepressius. Clomipramina

Es defineix la síndrome depressiva com un estat en el que es combinen de manera variable en intensitat i temps, sentiments de tristesa, desesperança, retard psicomotor o agitació, abatiment, desinterés, idees de suïcidi, insomni, pèrdua d'apetit i de desig sexual. És una malaltia cruel perquè no només produeix intens patiment, sinó que a més amaga les raons i el desig de superar-ho. El malalt depressiu manté una concepció personal distorsionada, amb una visió negativa triple: d'ell mateix, del món que el rodeja i del futur. Des de la perspectiva de la biologia psiquiàtrica i acceptant d'entrada la incapacitat actual per presentar una explicació convincent de la patogènia de la depressió, cal acceptar que, com en el cas de l'esquizofrènia, ha estat l'anàlisi de les accions dels fàrmacs el que ha marcat l'evolució de les hipòtesis patogenètiques. Donat que la deplecció de monoamines cerebrals amb reserpina desencadena a vegades una síndrome depressiva, i que l'increment de l'activitat monoaminèrgica és un dels mecanismes d'acció proposats dels fàrmacs antidepressius (tricíclics, inhibidors de la MAO) es va pensar en considerar la depressió com el resultat d'una insuficiència funcional en els sistemes neuroquímics cerebrals, particularment els serotoninèrgics (5-HT) i noradrenèrgics (NA). Millor que definir la depressió com a resultat d'un augment o una disminució permanent en l'activitat d'un o altre sistema neuroquímic, serà preferible considerar-la com el resultat d'una insuficiència relativa de la seva regulació, o disregulació.

La clomipramina és un fàrmac derivat de la dibenzoazepina dins del grup dels antidepressius tricíclics de primera generació.

* Característiques farmacocinètiques

Els antidepressius tricíclics, en general, són fàrmacs molt liposolubles que s'absorbeixen molt bé en el tub digestiu, però que estan sotmesos a un intens primer pas, per la qual cosa la biodisponibilitat és més aviat baixa (40-60% la clomipramina). Es fixen amb intensitat a proteïnes plasmàtiques (91 % la clomipramina) i pateixen abundants processos de metabolització; són freqüents les reaccions de desmetilació que originen metabòlits actius, així com de conjugació i d'alteració dels nuclis aromàtics. Degut a l'elevada liposolubilitat i l'extensa fixació a proteïnes tissulars, presenten un volum de distribució elevat. La combinació del gran volum de distribució amb l'extensa metabolització origina una vida mitja d'eliminació amb valors migs que permeten administrar el fàrmac 1-2 vegades al dia; per les mateixes raons, existeixen grans variacions interindividuals en els nivells plasmàtics estables que s'assoleixen amb una mateixa dosi. Passen la barrera placentària i a la llet, a on s'assoleixen concentracions superiors a les de la sang materna. La clomipramina té una vida mitja de 17-28 hores, un rang de dosi/dia de 50-150 mg.

* Mecanisme d'acció

Els resultats bioquímics inicials obtinguts amb imipramina i altres tricíclics van mostrar la seva capacitat d'inhibir la recaptació de noradrenalina i 5-hidroxi-triptamina, tant en els sistemes centrals (cervell) com perifèrics (cor i plaquetes). Per tant, la seva acció terapèutica es creu que és el resultat de l'increment d'aquestes monoamines en l'espai sinàptic i de la major activació dels seus respectius receptors, encara que aquest increment és immediat i la resposta clínica apareix al cap d'uns quinze dies.

*** Reaccions adverses i interaccions**

Són abundants i relativament freqüents, el que exigeix una bona vigilància; afortunadament les més freqüents són de caràcter lleu. Les reaccions adverses en el sistema cardiovascular són la hipotensió ortostàtica, palpitations i taquicàrdia. La hipotensió ortostàtica apareix sobretot al començament del tractament i en persones d'edat avançada, també pot manifestar arrítmies cardíques. Les reaccions adverses del tipus anticolinèrgic destaquen la sequedat de boca, sudoració, tremolors, vertígens, estrenyiment, íleum paralític, retenció urinària, congestió nasal, trastorns d'acomodació provocant visió borrosa, glaucoma. Tots aquests trastorns estan en funció del grau del bloqueig, edat i susceptibilitat del pacient. Entre els de caràcter neurològic, s'ha descrit una síndrome de crisis convulsives provocada pels antidepressius que, en general, redueixen el llindar de convulsions, per la qual cosa cal vigilar especialment els pacients susceptibles. Pot aparèixer una síndrome anticolinèrgica central amb confusió, desorientació, il·lució i al·lucinacions. També poden provocar augment de pes, hepatitis al·lèrgiques, erupcions dèrmiques i reaccions de fotosensibilitat. La sedació és molt freqüent, encara que s'hi sol desenvolupar tolerància (Bochner et al., 1980; Flórez et al., 1987).

1.1.4. Mesures preventives de la càries dental.

Tenint en compte els factors predisponents de la càries dental, la prevenció es basa en els intents per a (1) augmentar la resistència de l'hoste (fluoroteràpia, segellats de fissures, immunització), (2) reduir el nombre de microorganismes en contacte amb la

dent (control de la placa), (3) modificar el substrate mitjançant la selecció dels productes alimentaris, i (4) reduir el temps que romangui el substrate a la boca mitjançant una limitació en la freqüència en que s'ingereixen aliments (Newbrun, 1984).

1.1.4.1. Factors bacterians

El principal objectiu per a combatre el factor microbiològic és l'eliminació de la placa bacteriana al màxim possible. Tenim les següents eines al nostra abast:

* Un bon raspallat dental. L'eficàcia del raspallat dependrà de la qualitat i disseny del raspall, el mètode i la freqüència del raspallat, del tipus de dentífric emprat, i de la motivació i habilitat de l'individu per a realitzar una correcta higiene oral.

* Control de placa interproximal. El raspallat de les dents normalment és insuficient per a la neteja dels espais interproximals. Els individus amb els espais interdentalis tancats disposen del fil de seda per eliminar la placa interproximal. Pels individus que tenen els espais interdentalis oberts es recomanen els raspalls interproximals.

* Profilaxis professional. El principal objectiu és induir al pacient uns hàbits d'higiene oral, dieta sana, us de fluor, i visites periòdiques al professional per mantenir un control.

* Control quimioteràpic. En el cas que fracassin els mètodes mecànics d'eliminació de

placa es poden usar antibiòtics, enzims o clorhexidina, tenint en compte els seus efectes secundaris.

*Immunització. Fins al moment no hi ha cap vacuna eficaç per prevenir la càries. Donat que és una malaltia sense risc mortal, convé que la vacuna sigui completament inòcua i que no impliqui cap risc.

1.1.4.2. Factors dietètics

L'individu ha de conèixer perfectament els principals factors dietètics que influeixen en l'aparició de càries per a poder-los evitar o controlar. Cal tenir en compte, doncs, el contingut de sucre en la dieta, la consistència dels aliments, sobretot l'adhesivitat, la freqüència del consum, l'ingesta dins o fora dels àpats, etc...

1.1.4.3. Factors del subjecte

La prevenció anirà dirigida a reforçar les dents amb fluor i/o segellant les fissures i intentar pal·liar la xerostomia si és el causant del risc de les càries.

1.1.4.3.1. Saliva: Estimulants i substituïts de saliva

Un índex baix de secreció salival i una baixa capacitat tamponadora pot implicar un augment de risc de càries. Per tant, és important canviar les condicions salivals. Hi ha, però, situacions en que estan limitades les vies per les quals es pot influenciar l'índex de secreció salival. Hi ha altres situacions en que unes simples mesures poden tenir efecte. Un augment de l'índex de secreció salival està generalment acompanyat d'un increment de la capacitat tamponadora.

Mesures que calen adoptar en cas d'un pacient que presenta xerostomia:

a) Intentar trobar la causa del baix índex de secreció salival. Si és necessari, cal contactar amb el metge que porta el pacient. Si el pacient està prenent fàrmacs que tinguin com efecte secundari la reducció de l'índex de secreció salival, cal preguntar al metge si és factible una medicació alternativa. En el cas de que la causa de disminució de l'índex de secreció salival no s'hagi pogut diagnosticar cal referir al metge perquè faci anàlisis i exploracions radiogràfiques. Si és possible, hauria de ser remeiada la causa de disminució de l'índex de secreció salival. Tant si es pot augmentar l'índex de secreció salival com si no es pot, caldrà intensificar les següents mesures preventives convencionals: control rigorós de la placa, aplicació de fluor tòpic, anàlisi de la microflora, i si és necessari mesures antimicrobianes (Krasse, 1985).

b) En el cas en que les glàndules salivals no són funcionals cal recomanar substituïts de saliva (Weerkamp et al., 1987). La saliva artificial DPF proporciona un fluid lleugerament viscos i inert. Normalment es requereixen de 5 ml fins a un màxim de 20

ml diàriament. El contingut del tipus de saliva artificial DPF es troba recollit en la taula 1.2 (Seymour i Walton, 1988).

Clorur sòdic	100 mg
Hipromel·losa "4500"	1.3 g
Solució de clorur de Benzalconi	0.02 ml
Sacarina sòdica	10 mg
Timol	10 mg
Oli de menta	0.02 ml
Oli de menta verda	0.03 ml
Solució d'amaranth	0.1 ml
Aigua q.s.p.	100 ml

Taula 1.2. Contingut del preparat de saliva artificial DPF.

c) En el cas en que les glàndules salivals romanen funcionals convé recomanar una dieta que requereixi mastegar i que tingui un alt contingut en proteïnes i vegetals (Johnson, 1993). També pot augmentar lleugerament l'índex de secreció salival el mastegar xiclets de sorbitol, prendre comprimits de nicotinamida o altres estimulants de saliva com la pilocarpina (Björnström et al., 1990; Fox et al., 1986; Dawes, 1966; Mandel et al., 1968). Cal tenir en compte, però, que el sorbitol fa disminuir el pH de la placa bacteriana, sobretot en pacients amb un baix índex de secreció salival (Kalfas et al., 1990). També s'ha descrit un reservori que es col·loca en la pròtesi completa del pacient en la qual va alliberant lentament saliva artificial millorant el confort del pacient (Vissink et al., 1984).

La pilocarpina com a tractament té els seus orígens al segle XIX en que misioners de Sudamèrica van observar que els nadius mastegaven un arbust del gènere pilocarpus sp i que augmentava la secreció salival. L'alcaloid es va aïllar 100 anys més tard. La pilocarpina pot estimular la secreció de saliva entre d'altres secrecions, però també pot augmentar el ritme cardíac i la pressió arterial. Fox (1985) va trobar que la pilocarpina a petites dosis només afecta a la secreció salival. La pilocarpina només és efectiva en pacients xerostòmics que tenen glàndules salivals capaces de respondre als estímuls. Administrada per via oral la pilocarpina s'absorbeix poc, 5 mg de pilocarpina estimulen la producció de saliva durant 3 hores i augmenten el confort en l'individu xerostòmic.

Ferguson i col·laboradors (1991) van observar que als pacients amb xerostomia reversible els calia una dosi de pilocarpina entre 1 i 15mg cada 6 hores, l'inici de l'acció és al cap de 15-30 minuts i proporciona una resposta salival i lacrimal de 3 hores.

Rhodus i Schuh (1991) van fer un estudi amb 18 voluntaris amb Síndrome de Sjögren els quals varen ser dividits en dos grups: al grup que rebia pilocarpina se'ls va administrar 4 gotes tres cops al dia (equivalent a 5mg tres cops al dia) d'una solució oftàlmica de pilocarpina al 2% durant 6 setmanes. El grup control se'ls administrava placebo però en la mateixa pauta. El 77% dels individus del grup que rebia pilocarpina va notar un augment de saliva, més de la meitat van afirmar que el tractament els havia ajudat molt i el 23 % no van notar cap canvi. Del grup control ningú no va notar cap canvi.

1.1.4.3.2. Dent: Segellat de fissures. Fluor

El segellat de fissures és una de les tècniques de prevenció més eficaç de la que disposa l'odontologia moderna. Suposa una barrera d'acció immediata que protegeix les zones més susceptibles de ser atacades per les càries en edat infantil. És una tècnica, però, que perd eficiència en la població adulta.

1.1.4.4. Fluor

La primera referència del fluor com a substància cariostàtica sembla que prové del 1874. Un metge alemany va anunciar que a l'igual que el ferro anava bé per la sang, i el calci i el fósfor pels ossos, el fluor donava duresa i durabilitat a l'esmalt dentari protegint-lo de la càries (Murray et al., 1991). Des dels anys quaranta el fluorur s'ha convertit en el protagonista dels esforços per a prevenir la càries (Thylstrup i Fejerskov, 1988). L'agent preventiu que s'ha demostrat més potent, amb bona eficiència, a més de ser inocu i fàcil d'utilitzar ha estat el fluor en les seves diverses formes d'aplicació (Manau, 1991).

El fluor té un efecte preventiu no només en nens sinó també en adults. Una exposició recent de la superfície d'arrel es pot cariar tan fàcilment com una dent recentment erupcionada. El fluor, després d'aplicar-lo tòpicament, es situa en les lesions de càries incipients tant de l'esmalt com de les superfícies d'arrel i aquestes lesions poden ser aturades. Un principi general per recordar és que a més risc de càries, més intens

hauria de ser el tractament de fluor (Krasse, 1985).

1.1.4.4.1. Mecanisme d'acció

a) El fluorur disminueix la solubilitat de l'esmalt i de la dentina enfront els àcids; té el mateix efecte en una dent endodonciada. Els ions fluor poden substituir els ions OH^- en la hidroxiapatita; aquesta reacció disminueix la solubilitat.

b) El fluor augmenta la tendència a remineralitzar les lesions de càries incipients d'esmalt i dentina. En la mateixa concentració de calci i fosfat i amb el mateix pH, la tendència de reprecipitar el fosfat càlcic en la superfície de la dent augmenta si el fluor hi és present.

c) El fluor disminueix la tensió superficial de la dent, com a conseqüència, disminueix la facilitat de que s'hi adhereixin els microorganismes.

d) El fluor té un efecte antienzimàtic i antimicrobià. A altes concentracions una solució de fluor pot tenir un efecte bactericida. L'efecte antienzimàtic es pot observar de la següent manera; després de glopejar fluor, es troba un concentrat de fluor en la placa bacteriana, aleshores s'observa una reducció en la producció d'àcid per part de la placa bacteriana, i pot ser inhibida la producció de polisacàrids extracel·lular. Finalment el fluor pot reduir la síntesi de polisacàrids intracel·lular (Krasse, 1985).

Els factors que afecten a la desmineralització són el pH salival i les concentracions de F^- , Ca^{2+} , i PO_4^{3-} en saliva, aquests dos darrers ions influenciaran el pH crític.

L'efecte del fluor dependrà de:

- a) El tipus de compost fluorat usat (per exemple SnF_2 té un efecte bactericida més potent que el NaF.)
- b) La concentració de la solució de fluor
- c) El pH de la solució del fluor
- d) La durada de l'aplicació
- e) Freqüència d'aplicació de la solució fluorada
- f) La sensibilitat dels microorganismes.

El fluor també actua en les càries de dentina i de ciment. Les aplicacions de fluor en el ciment de les arrels dentals exposades condueix a la formació d'una capa de mineral d'alta densitat sobre la zona tractada. La dentina presenta una gran porositat degut als túbuls dentinaris i capta el fluor molt fàcilment.

1.1.4.4.2. Acció sistèmica i tòpica

Acció sistèmica:

Quan l'individu ingereix fluor en un període preeruptiu aquest element s'incorpora en l'estructura cristallina de l'esmalt i dóna lloc a la formació de fluoroapatita i

fluorohidroxiapatita i, per tant, una estructura més estable. Aquesta reducció de la solubilitat romandrà tota la vida.

Es considera que el consum d'aigua de beguda amb una concentració d'1 part per milió (ppm o mg/l) de fluor redueix aproximadament un 50% de càries. Aquest efecte no només és degut a l'acció sistèmica del fluor sino també a l'efecte tòpic que produeix l'augment de la concentració de fluor en saliva (Murray et al., 1991; Cuenca et al., 1991).

Acció tòpica:

Existeixen bàsicament dos tipus d'aplicacions tòpiques: Els gels professionals i els barniços, ambdós contenen una dosi alta de fluor i s'administren amb poca freqüència. Després d'aquesta aplicació s'absorbeix una gran quantitat de fluor en zones desmineralitzades formant-se grans quantitats de CaF_2 i poca formació de fluorohidroxiapatita. El segon tipus són compostos amb baixa concentració de fluor però aplicats més freqüentment com poden ser el col.lutori, el dentífric, o aigua fluorada i que permet que en l'entorn de la dent existeixi una concentració mínima i mantinguda. En aquesta situació el fluor es difon a l'interior de la lesió formant fluorohidroxiapatita i fluoroapatita. Es creu que són més efectives les aplicacions de baixa concentració de fluor i continuades per a la prevenció de la càries, que altes dosis i poc freqüents.

Quan l'esmalt és immadur és més porós i adquireix el fluor més ràpidament. Les càries inicials acumulen fluor a concentracions més elevades. Amb aplicacions tòpiques de fluor es pot assolir una reducció de càries d'un 30-40% (Cuenca et al., 1991).

1.1.4.4.3. Formes d'aplicació

La forma d'administració sistèmica del fluor més important és amb l'aigua de beguda, però hi ha altres vehicles com poden ser la sal fluorada, comprimits de fluorur sòdic, llet fluorada. La principal via d'aplicació tòpica és el dentífric fluorat ja que es converteix en hàbit diari. Altres formes d'aplicació poden ser col·lutoris, gels, barniços.

a) Aplicació professional: gel, barniç, solució, pasta de profilaxis

b) Autoaplicació: dentífric, col·lutori.

1.1.4.4.4. Fluor liposomat

Actualment s'està fent molts esforços per aconseguir uns nivells de fluor en saliva més alts que els basals però mantinguts el màxim de temps possible (Mirth et al., 1983; Mirth et al., 1985; Ekstrand, 1993; Ekstrand et al., 1990). En la Unitat de Farmacologia de la Facultat d'Odontologia vam pensar en estudiar una nova forma farmacèutica del fluor incorporant-lo en estructures de naturalesa liposòmica. Bengham, el 1961, va crear a partir de fosfolípids dispersats en un medi aquós, unes vesícules microscòpiques constituïdes per una o varies membranes lipídiques dobles que englobaven un o diversos compartiments aquosos i que des d'aleshores es coneix amb el nom de liposomes. Al principi s'utilitzaven com a models cel·lulars com a conseqüència de la similitud entre la membrana bilipídica dels liposomes amb la membrana cel·lular. Ben aviat es va veure la possibilitat d'utilitzar-lo com a vehicle de

fàrmacs. Els liposomes ofereixen els següents avantatges:

a) Els liposomes poden constituir una estructura que protegeixi el principi actiu d'una degradació prematura.

b) Els liposomes poden ser autèntics vectors per a traslladar el principi actiu cap als teixits patològics gràcies a les seves propietats fisicoquímiques o a l'afinitat amb determinats antígens.

D'aquesta manera es pot disminuir notablement la dosi reduint els efectes secundaris i el risc de toxicitat, però mantenint els mateixos efectes farmacodinàmics, a més, les cèl.lules sanes no queden tant exposades al fàrmac.

Podem diferenciar els liposomes segons la seva mida i l'estructura de la membrana en tres tipus (Maierhofer, 1988):

a) Vesícules Multilamelars (MLV); formades per vèries bicapes i diversos compartiments aquosos concèntrics. Tenen una mida de 400-3500 nm i un volum encapsulat de 4.1 μ l/mg de lípid.

b) Vesícules Unilamelars grans (LUV); consten d'una bicapa i un compartiment intern. El diàmetre és de 200-10000 nm i un volum encapsulat de 13.7 μ l/mg de lípid.

c) Vesícules Unilamelars petites (SUV); són semblants als anteriors però el diàmetre

és de 20-50 nm i el volum de 0.5 μ l/mg de lípid.

En la preparació dels liposomes es poden utilitzar diferents fosfolípids que podem classificar en naturals i en sintètics. Com a fosfolípids naturals tenim les fosfatidilcolines del rovell de l'ou o de soja i com a sintètics disposem del dimiristoil, dipalmitoil o diesteroilfosfatidilcolines. També es poden utilitzar altres fosfolípids com les esfingomielines. La incorporació de colesterol fa la paret més compacta i redueix la permeabilitat de la membrana (Vila et al., 1990).

La interacció entre el liposoma i el principi actiu varia en funció del grau d'hidrofilicitat del darrer. Si el principi actiu és de naturalesa lipofílica quedarà incorporat en la membrana bilipídica del liposoma, mentre que si és de naturalesa hidrofílica s'incorporarà en el compartiment aquós (Ostro Marc, 1987).

1.2. Càries experimental en la rata

1.2.1. Animals d'experimentació

S'han utilitzat diversos animals com a models experimentals en la recerca odontològica. Les rates, els ratolins i els hamsters són els animals més emprats en la recerca experimental de la càries dental. Els conills tenen el principal inconvenient de que tant els molars com les incisives tenen un creixement continuat i, per tant, no són susceptibles a la càries. El gos i el gat són molt poc susceptibles a la càries i només s'han utilitzat per estudis de periodòncia, transplants, ortodòncia o en el cas del gat en estudis neurològics. Als cavalls i les vaques només s'han utilitzat les seves dents per a estudis "in vitro". Els porcs tenen una dentició temporal i una definitiva i s'han utilitzat en estudis d'ortodòncia, pròtesi, o periodòncia però amb poc èxit en quant a la càries. Els monos que també tenen dues denticions i són els animals més semblants a l'home només s'han utilitzat en estudis de creixement i desenvolupament (Navia, 1977).

Avantatges de la rata com animal d'experimentació.

L'estudi de substàncies cariostàtiques en humans comporta certa complexitat degut, en primer lloc, a la gran variabilitat individual i a la dificultat de controlar els factors dietètics i bacterians, i també al llarg període que cal entre aparició i desenvolupament de la càries, la qual cosa fa que es necessiti una mostra molt gran. El model animal per a l'estudi de la càries és útil gràcies al poc temps necessari per a desenvolupar la patologia, és relativament econòmic, i la mostra pot ser més petita al poder controlar

algunes variables. Les lesions de càries que es formen en la rata es poden localitzar tant a les cares lliures, com en el solc o en les cares proximals, igualment com s'observa en humans. També en la rata, la saliva juga un paper primordial en el procés de càries. Es poden controlar diferents paràmetres com la dieta cariogènica, nombre i freqüència de tractaments, durada de l'estudi, i el grau de formació de càries. A l'igual que qualsevol fàrmac, una nova substància hipotèticament carioestàtica convé estudiar-la en animals abans de poder-la administrar en humans i comercialitzar-la.

El principal inconvenient és que a vegades comporta certa dificultat a l'hora d'extrapol·lar en la situació humana valors numèrics de dosi i resposta.

1.2.2. Inducció de càries en la rata

1.2.2.1. Factors etiològics

Diverses espècies d'animals són útils com a models experimentals de càries dental. Alguns animals desenvolupen lesions de càries quan es canvia l'entorn de la cavitat oral amb flora cariogènica i amb una dieta promotora de càries. S'han observat també moltes similituds el que justifica el seu ús com a models d'estudi d'aquesta malaltia. No obstant, utilitzar amb èxit un model animal exigeix una comprensió profunda de les seves característiques, per a prevenir el risc de fer-ne un us inapropiat, o encara pitjor, que fent una experimentació bona les conclusions fossin incorrectes. L'etiologia de la càries dental tant en animals com en humans implica els mateixos grups de factors:

bacterià, hoste (dents i saliva), i factors dietètics. Aquesta malaltia multifactorial només es pot desenvolupar si els tres factors hi són presents amb una combinació apropiada i si coincideixen durant un període de temps. Si per exemple, la flora microbiana es troba deprimida per algun mitjà com poden ser antibiòtics, o si la ingesta de carbohidrats o la seva freqüència de consum està disminuïda, la possibilitat de desenvolupament de lesions carioses és menor. Si la disminució de les condicions cariogèniques és suficientment important, la malaltia no s'expressarà en absolut.

A part d'aquests tres factors hem de considerar una quarta característica: La virulència o intensitat del factor etiològic. En el cas dels microorganismes, el grau de virulència vindrà determinat per la presència de placa dental amb una flora que contingui organismes cariogènics virulents. No tota acumulació de placa indica necessàriament una activitat de càries. El desenvolupament de la malaltia depèn de la qualitat o virulència de la placa bacteriana. La dieta pot ser també més o menys inductora de càries en funció del tipus d'aliments, la quantitat, les característiques físico-químiques dels carbohidrats així com la freqüència en que aquests aliments són consumits. La dent i el seu entorn, que inclou la saliva, tant pot facilitar com limitar la progressió de càries. No és suficient que hi siguin presents aquests tres factors etiològics en la proporció adequada sinó que a més han de tenir la virulència o el grau d'intensitat necessari per a induir la malaltia. Quan els tres factors hi són presents i coincideixen durant un període de temps podem observar càries a un nivell relativament baix. Quan la virulència o intensitat d'aquests factors augmenta, la gravetat de la càries augmenta a un nivell que s'aproxima al de la malaltia de la càries rampant observada en la població dels països desenvolupats.

Encara que aquests tres factors esmentats influencien la malaltia tant en humans com en animals d'experimentació, hi ha suficients diferències com per tenir cura en el moment de fer una extrapolació directa de la informació obtinguda en el model animal cap a la situació humana. La magnitud de la contribució d'aquests tres factors etiològics en l'expressió de la malaltia en animals o humans és desconeguda. Aquesta informació seria molt valuosa no només per avaluar la idoneïtat d'una espècie animal com a model per a la malaltia, sinó també per entendre el procés de la malaltia en humans i buscar millores en la seva prevenció o cura. Els models animals són útils per a la comprensió de l'etiologia i prevenció de la càries dental, però han de ser com ja hem dit abans, usats adequadament per a evitar un disseny experimental erroni o que la derivació de conclusions sigui errònia o esbiaixada.

Principalment trobem dos tipus de lesions en molars; (1) lesions de superfícies planes, que en la rata s'observen de forma freqüent en la superfície bucal dels molars mandibulars i maxil·lars, però que també poden ser trobades en altres àrees si la malaltia és greu. La lesió es desenvolupa primer com un punt blanc, proper al marge gingival. Aquest punt blanc s'extén després fins a cobrir tota l'amplada del molar, l'esmalt s'esfonsa fàcilment si el pressionem amb un instrument punxegut. (2) lesions proximals, que es poden observar en les parets d'esmalt de les fissures fondes del molar de la rata o en els punts de contacte entre dos molars (interproximal). En aquestes localitzacions, les lesions es diferenciaran d'aquelles produïdes en superfícies planes en que es troben menys exposades a l'ambient de la cavitat oral i en que constitueixen localitzacions més retentives en les que fàcilment queden retinguts restes alimentaris creant un niu ecològic especial on certs microorganismes es poden desenvolupar sense

la influència exterior.

1.2.2.2. Característiques dentals de la rata.

Les rates són animals monofiodonts (tenen una dentició única) amb la fórmula $I^{1/1} M_1^{1/1} M_2^{1/1} M_3^{1/1}$. Les incissives erupcionen de forma contínua i queden de forma característica cobertes d'esmalt en la superfície labial i per ciment i dentina en la superfície lingual. L'esmalt de les incissives té un color groc degut a la presència en l'esmalt d'un pigment que conté ferro; l'esmalt es va fent progressivament més groc amb l'edat començant aproximadament als 25 dies després del naixement. El creixement de la incissiva és ràpid, de manera que amb 40-50 dies queda completament renovada. La primera aparició de la làmina té lloc en el fetus aproximadament el 14è dia post concepció i la primera aparició en la cavitat oral és cap el 6è o 8è dia després del naixement. Les incissives en els rossegadors es mantenen amb una mida adequada gràcies a l'atricció constant de les vores, que manté les vores incissals esmolades i bisellades. Les incissives de la rata, igual que qualsevol dent d'erupció contínua, no són susceptibles a la càries i el seu ús en la investigació dental queda limitat a la seva capacitat d'enregistrar esdeveniments biològics que tenen lloc mentres s'estan desenvolupant. Dosis altes de fluor, deficiències nutricionals i altres tipus de noxes queden enregistrades com a línies de creixement alterades. Aquestes alteracions poden ser identificades en el moment de la seva aparició administrant a diferents temps dosis úniques de tetraciclina per a marcar aquests esdeveniments.

El primer i el segon molar es desenvolupen pràcticament al mateix temps començant aproximadament el 14è dia després de la concepció. S'ha estudiat la morfogènesi del primer molar de la rata i s'ha trobat que entre el 18è i 23è dia de la vida perinatal, el creixement del germen dentari és molt ràpid. Aquesta ràpida velocitat en el creixement disminueix amb la primera aparició de dentina a la punta de les cúspides. En aquest moment queda establerta la relació espacial de les cúspides, però la profunditat de les fissures segueix augmentant durant 3 o 4 dies més fins que es forma la dentina a la base de la fissura. La formació de la corona es realitza entre els 10è i 12è dia després del naixement amb una diferència d'un dia i mig o dos entre el primer i segon molar. El 12è dia totes les cúspides majors del primer molar estan pel damunt del nivell de la cresta d'os alveolar i la formació de l'arrel va progressant ràpidament. El creixement de les arrels bucals produeix un aprimament de la làmina òssia bucal, la qual desapareix finalment cap el 17è dia d'edat. Els primers molars mandibular i maxil·lar de la rata albina normalment erupcionen cap el 16è dia d'edat. Els segons molars mandibular i maxil·lar erupcionen un o dos dies després, i quan les rates han estat deslletades cap el 20è dia els quatre molars ja han erupcionat. El tercer molar erupciona entre el 32è i 34è dia d'edat amb un dia de diferència entre el tercer molar mandibular i el tercer molar maxil·lar. Aquest model d'erupció pot ser alterat de forma important mitjançant manipulacions nutricionals. Hi ha algunes rates com la del cotó en les que els molars erupcionen molt més aviat. Aquesta rata també deslleta les cries més aviat, cap el 12è o 14è dia d'edat. Aquestes característiques diferencials de formació i erupció entre diferents espècies animals i la diferent cronologia d'erupció dels molars s'han pogut utilitzar de forma avantatjosa en el disseny experimental. Els molars primer i segon es van mineralitzant mentre les cries estan mamant, però el tercer molar es mineralitza

després de que hagin estat deslletades. Les manipulacions de la dieta que ingereixen les rates deslletades produeixen un efecte sistèmic sobre el tercer molar mentre que el primer i el segon reflecteixen sobretot aquells efectes locals de la placa bacteriana estimulada pels residus de la dieta. Alguns autors han fet servir aquesta diferència per discriminar simultàniament efectes tòpics i sistèmics d'inhibidors experimentals de càries.

Els molars de la rata són de mida petita. Els tres molars d'un quadrant pesen aproximadament 40 mg. Aquests molars tenen una fina capa d'esfalt, com a màxim 0.1 mm, que no cobreix les puntes de les cúspides. La superfície oclusal, per tant, mostra dentina exposada. El primer molar mandibular té tres fissures que són fondes i estretes i s'extenen en direcció bucolingual. El segon molar té dues fissures i el tercer molar en té tan sols una. És interessant remarcar que en el moment de l'erupció aquests molars tenen unes àrees d'esfalt hipomineralitzades extensives a la superfície bucal i a la base i costats de les fissures. Aquestes superfícies hipomineralitzades són especialment importants en el procés de mineralització post-eruptiva.

Descripció dels teixits durs de la dent de la rata:

L'estructura histològica de les dents dels animals d'experimentació és molt similar a la de l'home. La dentina constitueix la massa de la dent i envolta el teixit pulpar. L'esfalt, generalment, cobreix la dentina encara que tal com hem indicat abans, en la rata, la dentina queda exposada a la superfície oclusal. El ciment es troba cobrint les arrels de la dent, i pertant, permet que les fibres periodontals s'implantin profundament

i anclin la dent de forma ferma en l'envoltori ossi. En alguns cassos el ciment es troba més extès per la part lingual com en el cas de les incissives de la rata.

A) Esmalt

L'esmalt dental pot ser considerat com un producte de secreció dels ameloblasts que són cèl.lules d'origen ectodèrmic. Abans de l'erupció de les dents en la cavitat oral, els ameloblasts comencen a dipositar una matriu orgànica en el lloc on després es trobarà la línia amelodentinària, la matriu progressa poc a poc i uniformement cap a la superfície de la dent. Unes micres per darrera de la matriu orgànica recentment dipositada, inicia i perdura l'enucleació, produint-se en aquesta localització cristalls en forma de làmina. En una segona fase de desenvolupament comencen a créixer en amplitud i en gruix. La tercera fase és un procés més lent, on el cristall creix i madura fins a obtenir la seva mida final òptima i el seu grau de perfecció. Aquest procés de maduració comença en la línia amelodentinària i en les puntes de les cúspides. En el moment de l'erupció les àrees de la dent que es troben menys mineralitzades són la superfície de l'esmalt de la part cervical de les dents i les localitzacions de les fissures. En els rossegadors l'esmalt és prim i es forma i es mineralitza completament en un espai curt de temps, en canvi la formació de l'esmalt en humans és un procés llarg i podria necessitar anys per a completar-se. Durant el desenvolupament, altres factors fisiològics i patològics poden conduir a canvis en la microestructura de l'esmalt.

B) Dentina

La dentina és totalment diferent a l'esmalt i pot ser definida com a teixit amb col.lagen

mineralitzat. Està produïda per odontoblasts, que són cèl·lules d'origen mesodèrmic. Els odontoblasts comencen a produir dentina en la línia amelodentinària i donat que la dentina augmenta en gruix, continua mantenint el contacte íntim amb el volum del teixit mineralitzat al llarg de tot el procés odontoblàstic, que avança a través dels túbuls dentinaris. La dentina queda menys calcificada que l'esmalt degut a que, en els processos odontoblàstics, conserva la seva matriu de col·lagen, a diferència de l'esmalt que perd totes les seves proteïnes quan es mineralitza. La matriu orgànica de dentina conté col·lagen, fosfoproteïnes, petites quantitats de mucopolisacàrids, i lípids. El material inorgànic de la dentina no està distribuït homogèniament. Les àrees peritubulars semblen estar hipermineralitzades en comparació amb les regions intertubulars.

La dentina és semblant a l'os en composició, però es diferencia en que habitualment no està subjecte a remodelació. Pot, no obstant, reaccionar davant estímuls físics o d'altres tipus d'estímuls amb un increment de formació de dentina, produint un augment quantitatiu en certs llocs de la dent. Aquesta formació és referida com a dentina secundària, i pot ser observada en rates més adultes alimentades amb una dieta amb menjar dur, que normalment causen abrasió en les cares oclussals dels molars. Aquesta pressió és suficient per estimular el dipòsit de diverses capes primes de dentina secundària sota les fissures i cúspides dels molars.

C) Ciment

El ciment està produït per cimentoblasts i és molt semblant a l'os, amb la diferència de que té una estructura cel·lular típica. Els cementòcits es veuen incrustats en el ciment

amb un baix nivell d'activitat. El ciment es desenvolupa amb el sistema d'arrel i en el cas de la rata continua desenvolupant-se i proliferant-se en un període de temps d'uns 100 dies, semblant a una hipercementosi en humans. Aquest fenomen podria també ser una resposta a l'acció abrassiva a les partícules dures del menjar que esmolen la superfície oclusal dels molars (Navia, 1977).

1.2.2.3. Factors bacterians

La cavitat oral hauria de ser concebuda com un simple hàbitat natural en el qual diversos tipus específics de microorganismes creixen i es multipliquen en un estat dinàmic. No hi ha només un hàbitat microbià sinó que n'hi ha més d'un, en funció de les condicions micro-ambientals específiques en els diferents llocs de la boca. És extremadament important no pensar en la població microbiana de la cavitat oral sencera, sinó seleccionar els llocs tals com la llengua, la superfície anterior de l'esmalt de la dent incissiva, o el solc que envolta la geniva en els molars inferiors. En certs llocs anatòmics, tal com la llengua, pot existir una població microbiana diferent en la zona posterior comparat amb la punta. La colonització microbiana que té lloc en aquestes superfícies, no només ve determinada per les condicions ambientals presents, sinó també per l'abast de l'oportunisme, el qual pot determinar el tipus de microorganisme que primer colonitzi l'àrea. Els organismes que primer s'instal·lin influenciaran més l'entorn local i el tipus de microorganismes que continuaran colonitzant aquest lloc en un temps posterior. És per aquesta raó, que la composició de la població microbiana oral en un lloc i en un moment concrets és difícil de predir, i serà el resultat d'una

quantitat important de factors, els quals constantment canvien en cada espècie d'animal i en cada individu.

A causa de les diferències en les superfícies, entorn, i grau d'accessibilitat, la flora associada en aquests diferents níus en la cavitat oral varia significativament. Els factors nutricionals i ambientals que contribueixen a aquestes diferències són: (a) restes de menjar, (b) oxigen disponible, (c) quantitat i composició de la saliva, (d) característiques estructurals; rugositat, solcs i fissures, presència de fosfat de calci (esmalt), (e) fluid gingival i fluid pulpar, (f) factors immunològics, (g) cèl.lules epitelials descamades, (h) productes metabòlics microbians (incloent l'acumulació dels components produïts pels organismes i productes del metabolisme de colònies veïnes), (i) la temperatura, encara que aquesta variable es considera que no canvia significativament, en animals tenen lloc canvis cíclics i les variacions de temperatura poden existir entre la superfície de l'esmalt d'incisives i el solc gingival al voltant dels segons molars, (j) el pH, principalment controlat per la saliva i la fermentació de les restes de menjar per microorganismes i té un poder determinant en la colonització i creixement en diferents llocs, (k) la pressió osmòtica, pot ser influenciada pels fluids secretats per les cèl.lules de l'hoste o pels productes provinents dels microorganismes.

Aquests paràmetres també influeixen la fisiologia dels bacteris que creixen en cultiu pur. No obstant, en un cultiu pur, sota condicions "in vitro", aquests paràmetres poden ser controlats, però és impossible controlar les condicions de la cavitat oral.

En l'estudi de la flora oral s'hauria de considerar un altre factor, especialment en cas de recerca experimental amb animals. Aquest factor és una qüestió de tipus de microorganismes migratoris dins del niu ecològic potencial en la cavitat oral. Quan les rates neixen estan lliures de gèrmens, però al cap d'unes hores ja tenen una flora específica en les seves boques, la qual prové de: (a) Saliva i llengua de la mare, les rates normalment cuiden i netegen les seves cries. (b) Dieta, durant la lactància un gran nombre de microorganismes entren dins la cavitat oral provinent del mocró i del conducte mamari, i més tard el menjar pot contenir organismes, però no existeix una evidència que constitueixi la major font de microorganismes. (c) Gàbia i jaç, poc després del 12è dia d'edat, les rates inicien l'exploració de la gàbia, i mosseguen i rosseguen el jaç. (d) Material fecal, els rossegadors practiquen la coprofàgia i, pertant, estan completament exposats a tot tipus de flora intestinal d'altres animals de la mateixa gàbia. En les rates adultes que ho practiquen, és comú que els coliforms esdevinguin part de la flora normal trobada en la seva cavitat oral. (e) Cabell i pell, els animals normalment es cuiden ells mateixos i tenen accés a la flora del cabell i de la pell i també a la flora present en els genitals.

Probablement els microorganismes de més prevalença i importància dins dels que es troben en la cavitat oral són membres del gènere *Streptococcus*. La soca estreptococ mutans va ser aïllada per primera vegada per Clarke en l'any 1924 provinent de lesions carioses humanes. Li va donar el nom de mutans per la varietat morfològica que experimenta des de coc fins a bacil durant la incubació en el brou de glucosa. L'estreptococ mutans es va tornar a esmentar en la literatura en l'any 1927 quan es va trobar en el 70% de totes les lesions de càries investigades. Més recentment es va

demostrar que una única soca d'estreptococ aïllada de rates podria produir càries quan era inoculada en rates lliure de gèrmens.

Per al creixement i identificació de totes les soques d'estreptococ del grup A provinents d'animals d'experimentació, normalment s'utilitza una placa d'agar Mitis-salivarius complementat amb solució de Tellurite Chapman's fins a una concentració final de 0.1%. Aquest medi inhibeix el creixement de la gran majoria d'altres bacteris gram + i gram -, i facilita el creixement selectiu d'estreptococs. Després d'obtenir la mostra es preparen les dilucions corresponents i s'extenen en les plaques. Les plaques s'incuben en un 95% de N₂ i 5% de CO₂ durant 18-24 hores amb una temperatura de 37°C, extraient-les i incubant-les aeròbicament unes 24 hores més. Es poden identificar colònies representatives per observació de la morfologia de la colònia amb una lupa de 50-100 augments. En funció del tipus de dieta amb que les rates han estat alimentades, del tractament antibiòtic i d'altres variables, la morfologia de la colònia podria ser diferent i la identificació, per tant, podria ser difícil. En molts laboratoris, el millor criteri per a identificar l'estreptococ mutans és la morfologia de la colònia, la fermentació de diversos sucres, incloent el manitol i el sorbitol, i la producció de glucans provinents de la sacarosa. Aquestes observacions ajuden a distingir l'estreptococ mutans d'altres estreptococs.

La flora microbiana específica es troba estretament associada amb les superfícies de l'esmalt, i sota els estímuls d'un substrate ric en carbohidrats, és responsable de les lesions carioses observades en les diferents superfícies de la dent. A més, factors de dieta i bacterians són responsables del desenvolupament de càries tant en humans com

en animals d'experimentació.

L'edat de la rata en el moment de la infecció i de la iniciació del règim dietètic és de vital importància. El moment més efectiu per a la infecció és quan les dents estan justament erupcionant, i en el cas de la rata, en el moment del deslletament. Quan coincideix l'aplicació de la dieta promotora de càries amb el moment del deslletament i el procés d'erupció, les dents esdevenen enormement susceptibles a la càries i es desenvolupen ràpidament lesions en totes les superfícies. Tres dies després, en el 23è dia d'edat, ja es poden observar lesions en la superfície bucal com una taca blanca i si segueixen les condicions ambientals cariogèniques, als 25è dia d'edat es veu clarament una ruptura de l'esmalt. S'han observat diferències significatives en la susceptibilitat a l'infecció bacteriana en les rates, si enlloc d'aplicar les condicions cariogèniques immediatament després de l'erupció, s'apliquen més tard. Encara no es coneix exactament el perquè però pot ser degut a: (a) canvis en la qualitat de la superfície de l'esmalt i morfologia de la dent, (b) variacions en la composició i naturalesa de la pel·lícula adherida en la superfície, (c) la colonització d'organismes estranys que poden interferir en la implantació de la flora cariogènica, o (d) canvis en els anticossos. Encara calen molts estudis per aclarir aquest punt, però es creu que la maduració de la superfície de l'esmalt és el principal responsable de la resistència adquirida a la càries en aquesta edat.

L'efecte d'aquesta possible competitivitat de factors per implantació de la flora cariogènica ha portat a molts investigadors a usar models animals amb un diferent estat d'infecció. En la recerca de la càries dental s'han utilitzat animals lliures de gèrmens

(gnotobiòtics), depressió amb antibiòtics i animals convencionals. Amb aquests animals s'ha demostrat que l'absència total de gèrmens no produeix càries, però que la inoculació d'un microorganisme determinat produeix càries. Molts investigadors han usat extensament aquests models i s'ha vist de manera clara que certes espècies d'estreptococs i alguns lactobacils són capaços de produir càries quan s'usen rates monoïnfectades.

Normalment es transmet la infecció de streptococ mutans a la rata amb un dels procediments següents:

(a) Transmissió de l'organisme cariogènic provinent d'un animal amb càries activa. Aquest mètode consisteix en agafar grànuls fecals frescos provinent d'una rata coneguda que té lesions de càries actives, i preparant una suspensió que serà fregada a les dents. Alguns mililitres de la suspensió poden ser afegits a l'aigua de beguda, però l'aigua contaminada amb femtes caldria canviar-la diàriament. Dues o tres inoculacions en dies consecutius són suficients per implantar una flora cariogènica en la cavitat oral.

(b) Engabiar rates amb càries activa amb rates per a ser infectades. Aquest procediment, encara que és menys efectiu que l'anterior, ha estat usat amb més o menys èxit (Van Houte, 1981).

(c) Inoculació amb espècies cariogèniques de microorganismes. Es cultiven en brou soques d'estreptococ mutans durant 24 hores i després s'inoculen en els molars de rata i es pot part del brou en l'aigua de beguda. Aquest procediment probablement és el

millor, i dóna a l'investigador més control i coneixement sobre el microorganisme usat com a promotor de càries.

L'èxit de cada procediment d'inoculació dependrà del tipus de microorganisme usat per inocular, de la dieta promotora de càries, de l'edat de l'animal, i de la freqüència amb la qual el procediment d'inoculació es repeteix.

Un deslletament precoç de la rata tendeix a un augment de la gravetat de la càries. Les rates són deslletades al 20è o 21è dia, però un deslletament precoç al 18è dia d'edat força al cadell a consumir dieta promotora de càries. Aquest és el moment en que el primer i segon molar erupcionen i entren en contacte amb l'entorn cariogènic i, per tant, són molt susceptibles a la càries. Per a facilitar el deslletament precoç, el millor és retirar la mare i mantenir la camada junta al menys 8-10 dies. La mortalitat és nul·la i la infecció creuada amb l'organisme cariogènic tendeix a produir una resposta de càries uniforme.

Les rates de les que s'extreuen les glàndules salivals són més susceptibles a la infecció per estreptococ sobrinus i aquesta susceptibilitat a la infecció disminueix amb l'edat (Madison et al., 1989).

1.2.2.4. Característiques i tipus de dieta

La dieta que prenen els animals utilitzats en la investigació de la càries dental és

important des del punt de vista de la nutrició en dos aspectes; un referent a l'hoste i l'altre en relació a la microflora oral, la qual fa servir aquesta dieta com a substrate.

La composició dels nutrients de la dieta contribueix en el desenvolupament de l'animal d'experimentació a través de la mare durant la gestació o lactació, o directament, després de deslletar-lo, quan s'inicia la seva independència en el menjar. En les cries de rata, la formació de les dents té lloc durant la gestació i lactació, i els requeriments nutricionals de proteïnes i altres nutrients són especialment alts durant la formació d'aquests teixits orals. La repercussió de la dieta en la maduració de l'esmalt va perdent importància a mesura que els molars acaben el procés d'erupció.

El menjar també juga un paper important per als bacteris orals donat que proporciona els nutrients que requereixen pel seu creixement i activitat metabòlica. Les restes de menjar poden quedar fixades en àrees retentives de la cavitat oral i es podran fer servir com a substrate nutritiu, facilitant la implantació i creixement de microorganismes específics. Aquest efecte d'enriquiment facilitarà l'increment en número de determinats organismes, i el consegüent augment de l'activitat metabòlica pot ajudar a iniciar la lesió cariosa si el microorganisme resulta ser cariogènic. En animals d'experimentació aquests efectes de la dieta en la selecció i creixement de la flora oral poden tenir lloc durant l'erupció dels molars de les cries deslletades o dins la cavitat oral de la mare que, durant la lactació, ha pogut transmetre la flora selectiva als seus descendents.

Les propietats organolèptiques (gust, olor i textura) de la dieta promotora de càries poden tenir una influència important en el patró de beguda i menjar de l'animal i en el

seu efecte en el procés de la càries. Algunes investigacions en humans i en animals d'experimentació han mostrat que l'activitat de càries està relacionada amb la freqüència d'administració de menjar, trobant-se més nombre de càries en les situacions d'alta freqüència d'ingesta.

Variacions en la textura o mida de partícula dels ingredients de la dieta poden tenir una influència en la càries en animals d'experimentació. La dieta promotora de càries és generalment seca i extremadament fina. L'addició de petites quantitats d'aigua o la preparació de la dieta en forma de gel, usant agar per exemple, reduirà substancialment el seu potencial inductor de càries.

Tipus de dieta:

Es poden utilitzar qualsevol de les següents dietes amb les següents característiques i indicacions:

a) Stephan 580 (1951)

Llet descremada en pols32%

Sacarosa66%

Concentrat de fetge2%

b) Diet 2000 (Keyes 1959)

Farina de blat integral 6 g

Sacarosa 56

Llet descremada en pols 28

Alfals	3
Concentrat de fetge	1
Llevat de cervesa.....	4
Clorur sòdic	2

Aquesta dieta es pot donar en rates i hámsters

c) Diet 2700 (Shaw 1947)

Sucre granulat	67 g
Caseïna	24
Oli de cereals	5
Cel·lulosa	15
Concentrat de fetge	4
Sal	4

També es pot usar una variant d'aquesta dieta (2700S) que conté 25 g de sacarosa enlloc de 67.

d) Diet MIT 200 (Navia et al 1969)

Sacarosa pulveritzada	67 g
Lactoalbúmina	20
Oli de cotó	3
Cel·lulosa	6
Vitamines	1
Sal	3

Aquesta dieta pot ser modificada per una dieta que conté poc sucre (305), substituint el 62% de sacarosa per blat de moro, deixant un 5% de sucre.

La fórmula de la Diet 305 és:

Sacarosa	5 g
Blat de moro	62
Lactoalbúmina	20
Oli de cotó	3
Cel·lulosa	6
Vitamines	1
Sal	3

e) Diet 301 (Larson 1963)

Sacarosa	50 g
Blat de moro	23
Caseïna	20
Oli de cereals	3
Vitamines	2
Sal	2

1.2.2.5. Protocol experimental

En el disseny d'estudis de càries en animals, s'han trobat útils diversos protocols:

(A) Estudis convencionals en els quals els animals són allotjats sota condicions ambientals sense controlar la seva exposició a contaminació bacteriana exterior o la manera en la qual consumeixen aliment o beuen aigua. Es pot donar o no la superinfecció amb un organisme cariogènic.

(B) Supressió (o control) de la flora o gnotobiosi relativa en la qual els animals són tractats amb diferents tipus d'antibiòtics i aleshores es mantenen sota condicions amb la flora suprimida per a continuar amb l'administració d'antibiòtic al llarg del període experimental. Els microorganismes utilitzats per a infectar els animals són resistents a l'antibiòtic emprat anteriorment i, per tant, es podrà assegurar la seva implantació i colonització a la cavitat oral. Freqüentment es fa servir un equipament especial com per exemple tapadores amb filtre per a les gàbies per disminuir la possibilitat de contaminació exterior amb microorganismes resistents a l'antibiòtic.

(C) Condicions gnotobiòtiques en les quals els animals s'obtenen normalment mitjançant un part per cessàrea en aïllaments de plàstic estèrils i aleshores s'inoculen amb un o més organismes coneguts. D'aquesta manera, la seva flora oral és coneguda i es manté per l'ús de filtres d'aire, aïllaments i les cures normals requerides en treballs estèrils.

(D) Controlant els aliments i la beguda. En aquest cas els animals són mantinguts sota condicions convencionals, amb l'excepció de que són allotjats en gàbies especials amb uns mecanismes de distribució que ofereixen quantitats d'aliment i aigua en intervals de temps previstos per a controlar el patró de menjar i de beguda de l'animal. Aquest

protocol és essencial en els estudis de les propietats dels aliments que promouen càries.

Moltes soques de rates han estat utilitzades per a realitzar estudis de càries en animals.

Les més emprades són: Rates negres NIH, Sprague-Dawley NIH, Rates Osborne-Mendel, Charles River COBS, i Rates Wistar.

Els animals que són utilitzats en estudis experimentals són obtinguts normalment dels estabularis dels grups de recerca o d'un laboratori subministrador. Immediatament després de la seva arribada, les rates són col·locades en gàbies de plàstic translúcides i se'ls dona la dieta i aigua destil·lada "ad libitum". En alguns laboratoris es fa servir aigua de la xarxa, però la reproductibilitat dels resultats entre laboratoris és millor si es fa servir aigua destil·lada. Es recomana que el jaç utilitzat contingui components no bactericides, perquè poden influenciar la flora oral i disminuir el nombre d'organismes cariogènics. Els jaços fets amb xips de fusta esterilitzada o amb cel·lulosa triturada són útils per a experiments de càries. Les gàbies poden tenir una safata d'acer inoxidable sobre serradures o altres materials absorbents per a recollir l'orina i la femta de les rates. S'ha vist que els valors de càries en rates allotjades en gàbies de plàstic són més alts que aquells de rates mantingudes en filferro galvanitzat. Aquest efecte no es podria explicar per la ingesta de zinc de la gàbia, perquè el suplement a la dieta d'aquest element no augmenta la incidència de càries. Una possible explicació de l'increment de càries seria el reciclatge de les femtes que es dona en les gàbies de plàstic, la qual cosa pot assegurar la infecció amb microorganismes cariogènics.

Les gàbies haurien de ser etiquetades de forma clara i distribuïdes randomitzadament en una prestatgeria per evitar tenir tots els animals d'un grup, en els prestatges més alts o bé en els més baixos. La llum, la temperatura, els canvis d'aire, i la concentració de pols pot variar en aquests llocs i la localització de tots els animals d'un grup en aquesta àrea pot introduir biaixos no desitjables. Les tapadores de color de les gàbies, els contenidors de la dieta, o les ampolles d'aigua ajuden a identificar els grups i a evitar errors.

Si en el treball s'han d'utilitzar rates acabades de néixer, haurien de ser allotjades individualment dins d'una gàbia. Si s'utilitzen rates deslletades, aquestes es poden allotjar quatre per gàbia. És millor engabiar les rates en grups de dues o tres, en funció de la mida, que engabiar-les individualment, ja que la variabilitat en les quantificacions de càries és més reduïda.

Es pot fer servir una àrea quadrada de 10m x 10m per a col·locar dues prestatgeries amb 25 gàbies cadascuna. L'habitació ha d'estar a una temperatura (20-25 °C) i a una humitat de 50-55%. La il·luminació artificial haurà de subministrar 12 hores de llum i 12 hores de foscor per minimitzar les variacions d'hores de llum entre les diferents estacions de l'any.

Cal manipular les cries de rata amb guants d'un sol ús, per a minimitzar la transmissió d'infeccions que es produiria usant guants de cotó o de pell. Els guants de plàstic també tenen l'avantatge que la cria agafi l'olor del manipulador i això pugui ser motiu de rebuig per part de la mare. Les manipulacions que es fan al pesar les cries i canviar el

jaç cada 3 dies fan els animals més tractables i fàcils de manipular. Les dades del pes també són importants per monitoritzar la salut i el desenvolupament de la cria i, per tant, és un mètode molt recomanable fins i tot en els casos en que els objectius de l'experiment no necessitin d'un control freqüent del pes. A les rates que s'han d'utilitzar en l'experiment de càries es donarà la dieta cariogènica ben aviat en el període de lactació. La presència d'aquest tipus de dieta en aquest moment incrementa el nombre de microorganismes cariogènics que ja són presents en la cavitat oral de la cria de rata, o facilita la implantació i colonització de microorganismes cariogènics inoculats. Les inoculacions són necessàries quan es treballa amb animals que estan lliures de microorganismes cariogènics.

El període experimental pot durar des de 5 a 50 dies després del deslletament, en funció de les condicions experimentals. Normalment no calen més de 15 dies per observar lesions en les àrees proximal, bucal i de solc. Si el període experimental és curt, per exemple menys de 15 dies, aleshores el tercer molar no s'inclourà en l'estimació de la càries, ja que, en la majoria de rates, erupciona al voltant del 32è al 34è dia d'edat. Períodes experimentals més llargs permeten tenir el tercer molar exposat a l'atac de la càries, però habitualment la destrucció és tant intensa com el primer i segon molar, en que les lesions de les superfícies de la dent es barregen, i es perd la capacitat d'avaluar d'on prové la lesió original. Habitualment es recomanen períodes curts d'experimentació excepte quan el disseny experimental obliga a usar un període llarg.

Després del deslletament, s'haurien de pesar les rates setmanalment inspeccionant el creixement i el desenvolupament. Aquesta observació també ofereix l'oportunitat de

controlar-les individualment per possibles signes de malaltia o toxicitat. L'activitat, l'aspecte del pèl, i els pesos corporals són factors externs útils per a l'investigador per a seguir la resposta dels animals als tractaments.

La dieta i l'aigua han de ser controlades diàriament. El contingut dels bebedors i les sobres de menjar han de ser llençats i recanviats completament cada dos dies. La nit abans de sacrificar les rates s'hauria de retirar el menjar deixant només l'aigua de beguda. A l'acabar l'experiment, cal mesurar el pes corporal final i marcar individualment cada rata de cada gàbia. És recomanable assignar un número a cada camada que prové del laboratori i usar aquest número més un dígit per identificar la cria. Si el número de la camada és el 985, aleshores els cadells d'aquesta camada estaran enumerats 9851, 9852, 9853...9859. Habitualment el nombre de cries d'una camada és de 8 o 9, si són camades de 10 o 12 habitualment contenen cries de rata amb un baix pes corporal més susceptibles a les malalties i a la mort. Un nombre gran de cries en una camada pot donar problemes, ja que afectarà a la seva nutrició. Estudis fets mostren clarament l'efecte dramàtic que suposa la limitació de la llet i pertant l'administració de proteïnes, no només en el pes corporal i en la mida dels molars, sinó també en l'experiència de la càries. És essencial mantenir camades de nombre semblant si volem que la variabilitat dels resultats es mantingui baixa. La codificació dels animals es pot fer fàcilment marcant les orelles amb un perforador, o tatuant l'orella amb un trepador del calibre 22 amb tinta xina, o marcant la cua amb tinta insoluble en aigua.

Es sacrifiquen els animals amb qualsevol mètode en funció de les següents característiques:

- (1) Capacitat de l'agent o mètode de no produir dolor en la mort.
- (2) Inexistència d'efectes adversos del mètode amb els objectius de l'experiment.
- (3) Seguretat del mètode per al personal i altres animals.

Els següents exemples ofereixen mètodes de sacrifici d'animals àmpliament utilitzats en els laboratoris:

A/ Agents inhalants

(1) Éter. El dietiléter és un potent anestèsic inhalador que pot ser usat per sacrificar rosegadors. Es col·loca un cotó o una gassa empapada amb el líquid anestèsic dins d'un compartiment tancat, de manera que es generi una concentració letal de vapor i es previngui el contacte directe amb l'animal. L'éter és extremadament inflamable i altament explosiu, resultant un gran problema de seguretat l'emmagatzematge del material i, d'altra banda, els pulmons de l'animal retenen altes concentracions d'aquest vapor explosiu.

(2) Cloroform. Usat de manera similar a l'éter, és menys explosiu.

(3) Diòxid de carboni. Altes concentracions de diòxid de carboni (30%) tenen un ràpid efecte anestèsic, ha estat utilitzat amb eficàcia per sacrificar rosegadors petits.

B/ Fàrmacs injectables. El pentobarbital o altres fàrmacs relacionats amb els barbitúrics, quan s'administren per via endovenosa o intraperitoneal a dosis suficientment altes causen depressió en el sistema nervios central. Són preferibles per sacrificar animals grans.

C/ Mètodes físics. Ocasionalment els protocols de recerca requereixen administrar a la rata un anestèsic seguit de exsanguinació, dislocació cervical, o decapitació per prevenir complicacions induïdes pel fàrmac.

Un cop sacrificats es conserva el cap i algun altre òrgan que tingui interès en l'estudi.

Els òrgans poden ser tractats amb algun dels següents procediments:

(1) Es col·loquen en l'autoclau (120°C) durant 3-5 minuts, el temps està en funció de l'edat dels animals. Aquest tractament estova els teixits i permet fàcilment l'extracció de les mandíbules i dels maxil·lars. A continuació s'asseca cada mandíbula amb aire i es prepara pel contacte de càries.

(2) S'eliminen els teixits tous del cap i es conserva la mandíbula en alcohol del 90% o amb formaldehid tamponat al 10%. Aquest procediment fixa els teixits permetent la inspecció dels molars "in situ".

1.2.2.6. Quantificació de la càries en la rata

La majoria d'autors quantifica la càries de rates seguint la tècnica de Keyes (Keyes 1958). En essència consisteix en dissecar la mandíbula, tenyir-la amb una solució que penetri en les regions carioses de la dent, hemiseccionar-la en sentit longitudinal, i puntuar les càries dels molars amb l'ajut d'una lupa esteroscòpica. Aquest mètode s'ha usat abundantment però cal que les lesions de càries estiguin relativament avançades per

detectar-les en detall. Per aquesta raó, els animals han de tenir una dieta extremadament cariogènica per a que surti càries suficient en un període raonable de temps. Un altra mètode de quantificació de càries és el descrit per König i col. (Konig et al., 1958), molt semblant al de Keyes. Larson discuteix els avantatges i desavantatges del mètode de Keyes suggerint algunes modificacions com ara la puntuació única de les càries d'esmalt. També opina que el mètode de quantificació proposat per Keyes no és factible en estudis de períodes curts en les rates (Larson, 1981). Larmas i Kortelainen (1989) mesuren les lesions carioses inicials de les fissures dels molars de rata usant un mètode de fluorescència amb tinció de tetraciclina. S'han descrit altres mètodes per detectar càries després d'un curt període d'estudi, amb fluorescència de llum ultraviolada, o fluorescència de llum visible. Häfström-Bjorkam i col.laboradors (1991) proposen l'ús de fluorescència amb laser per a puntuar les lesions inicials de càries d'esmalt en els molars de rata.

La visualització de les zones de càries de molars en rossegadors pot aconseguir-se a través de diversos procediments de tinció:

(1) Tinció de nitrat de plata (AgNO_3). Després de separar el cap del cos, s'obre la boca de la rata i es dipositen dues o tres gotes de solució de nitrat de plata a l'1% dins de la cavitat oral. Després de 1 o 2 minuts s'esbandeix la solució, es pressiona lleugerament el cap i es treuen els maxil.lars. Amb la calor i la llum el nitrat de plata reacciona amb els fosfats disponibles, concretament on es troben situades les càries per donar inestabilitat als fosfats de plata (groc), que queden reduïts ràpidament a plata (negre). Les àrees de càries es veuen com característiques lesions negres que no es

confonen amb la taca negra que també es veu en les àrees immadures.

(2) König i col.laboradors (1958) suggereixen fixar la mandíbula en formol al 10% durant 24 o 48 hores o més. S'eliminen els teixits tous i es fan seccions seriades de la mandíbula neta que conté els molars. Aleshores, la mandíbula seccionada es seca amb aire durant algunes hores, o una hora a 50° C en un forn. Les seccions es tenyeixen amb una gota de reactiu de Schiff durant 15 segons i aleshores es neteja a doll d'aigua per a difondre la tinció. La dentina i l'esmalt madur i sa no es tenyeixen, totes les àrees de càries de l'esmalt i de l'esmalt immadur canvien de vermell a vermell-violeta. La reacció positiva es deguda a la presència de productes intermediaris de proteolisi, que contenen grups aldehid.

(3) Altres procediments de tinció que s'han usat per lesions de càries es basen en reaccions amb el calci disponible de l'àrea degenerada. Un procediment inclou l'ús d'una solució saturada de sal "Kernehchtrot B". També s'ha trobat útil una solució de murexida (amoni purpurat, 60 mg en 100 ml d'una solució d'etanol al 70% en aigua destil·lada). Els maxil·lars netejats amb alguns dels mètodes comentats anteriorment, es sequen amb aire i s'introdueixen en la solució de tinció durant 5-10 hores. L'esmalt madur i sa no es tenyirà, però l'esmalt degenerat es tenyirà de vermell-rosa. Les lesions de càries de sota la superfície apareixen emblanquides en el centre i rodejades d'una àrea vermella. Les dents tenyides es poden guardar seques i protegides de la llum durant llargs períodes de temps amb només petites pèrdues d'intensitat del color.

El contacte de la càries es pot fer mitjançant diversos mètodes. Essencialment,

existeixen tres maneres de fer-ho:

(1) Número de dents cariades o lesions carioses. Aquest mètode representa una simple enumeració del número de dents afectats per càries o del número de lesions que s'observen en els molars. És un procediment senzill, que és útil si s'han de quantificar àmplies diferències entre tractaments. Tota valoració es fa normalment amb una lupa estereoscòpica amb una ampliació de 30 augments.

(2) Volum d'àrees cariades. En aquest mètode es valora l'àrea de les lesions carioses, i per a obtenir una puntuació, les unitats d'àrea es multipliquen per un número que representa la profunditat de penetració de la lesió (1 = esmalt, 2 = Unió amelodentinària, 3 = dentina). Per exemple, considerem que la cara oclusal d'un segon molar es divideix en 4 unitats d'àrea; si la lesió ha destruït la meitat de la dent i s'extén cap la dentina, aleshores la puntuació podria ser $2 \times 3 = 6$.

(3) Estimació selectiva d'àrees carioses en dents seccionades o esmolades. Aquest mètode examina els molars en busca de possibles lesions carioses entre regions; la bucal, a nivell de solcs i àrees interproximals dels molars mandibulars i maxil·lars. Cal realitzar una secció seriada en direcció mesio-distal o un tall seriat en direcció ocluso-cervical per a poder visualitzar l'extensió de les lesions dins de la dentina. Aquest mètode d'estudi només s'ha d'usar quan l'atac cariós no ha destruït grans àrees de la dent. La destrucció important de les dents podria causar la confluència de les lesions originades en llocs diferents, i es podria perdre la discriminació detallista. Per tant, és aconsellable utilitzar condicions experimentals de cariogenicitat moderada o períodes

curts d'experimentació per a aquest procediment de valoració. Quan hi ha una degeneració important, seria millor emprar qualsevol dels altres dos mètodes descrits.

Amb qualsevol mètode utilitzat, l'investigador hauria de tenir una altra persona que codifiqui les mandíbules i maxil·lars per a emmascarar la identitat del grup i assegurar que no existeixin biaixos en l'avaluació de la càries. La codificació es fa millor utilitzant una taula de números randomitzats. Es poden valorar aproximadament 30 mandíbules d'una sentada, i per evitar biaixos degut a la fatiga o avorriment, és útil tenir un número equivalent de mandíbules procedents dels diferents grups de rates d'experimentació, en les mandíbules que es puntuin en un mateix temps.

Si hi ha cinc grups d'experimentació i un control, és millor agafar cinc mandíbules de cada grup i aleshores barrejar-les per a obtenir una distribució randomitzada en l'ordre en que s'ha puntuat. No s'ha observat diferències en quant a la susceptibilitat a la càries entre el costat dret i esquerre de la mandíbula, encara que alguns investigadors indiquen que si existeixen algunes diferències. De la mateixa manera no es veu diferència en el nivell de càries de rates femelles i mascles sacrificades abans dels 40 dies d'edat.

Detalls específics d'alguns procediments habituals

(1) Observació de càries "in vivo". El hámster i el mono poden ser examinats per lesions carioses sota anestèsia o tranquil·litzants. Es pot usar "Innovar-Vet" (0.032 mg/Kg de pes corporal) intramuscular amb excel·lents resultats per a manipular l'hámster. Els animals assoleixen un estat de relaxació i aleshores amb l'ajuda d'un

ganxo aplicat en les incisives es podrà mantenir la cavitat oral oberta i examinar amb un microscopi binocular de pocs augments. Aquest mètode ha estat descrit per Johansen que ha utilitzat aquest protocol en els seus estudis de càries, però el mateix sistema pot ser utilitzat per a inspeccionar altres estructures de la cavitat oral com els sacs dels hámsters. Els molars de rata no poden ser examinats tan fàcilment com els de hámster, ja que s'ha d'obrir la boca uns 180°. Per aquesta raó, el hámster s'utilitza exclusivament en estudis on cal fer l'examen in vivo de les dents.

(2) Valoració de càries "post-mortem". S'han utilitzat molts procediments diferents per avaluar la càries en models animals. Com s'ha indicat prèviament hi ha tres mètodes fonamentals: (a) la incidència de dents cariades, (b) L'estimació del volum de molars degenerats, i (c) els procediments que fan la discriminació del tipus i l'extensió i les lesions per secció o esmolament de la dent. La primera categoria és autoexplicativa i implica la valoració del número de dents que tenen una o més càries. Per a la rata o el hámster la puntuació màxima serà de 12. La segona categoria ha estat utilitzada durant molts anys; resultava especialment útil quan s'utilitzaven dietes productores de càries i els períodes d'experimentació duraven entres 80-120 dies. En un dels primers mètodes descrits, suggerit per Keyes (1944) per a valorar les càries en hámsters es selecciona una cúspide de mida estàndar assignant-li un valor numèric amb el que totes les cúspides de la dentició han de ser proporcionalment valuades d'acord a les seves mides relatives. Per a simplificar la valoració o puntuació, la superfície bucal, lingual, i oclusal dels mètodes es divideixen en unitats d'àrees aproximadament equivalents. Aleshores la valoració o puntuació inclou l'estimació d'unitats d'àrees degenerades i la profunditat estimada de la lesió, que és normalment 1, 2, o 3 en funció de si la lesió

és de 0.1-0.2 mm, 0.2-0.4 mm, o de 0.4-0.6 mm de profunditat. El producte de l'àrea i la profunditat dóna una estimació de la quantitat de substància destruïda. La suma de les puntuacions individuals obtingudes d'aquesta manera produeix la puntuació total per a l'animal. La màxima puntuació per al hámster amb una pèrdua total de les corones degenerades hauria de ser $141 \times 2 = 282$. Un inconvenient d'aquest mètode és que el límit entre les diferents seccions està habitualment en les fissures que és on s'inicien les lesions. Una lesió de càries s'haurà d'incloure en dues o tres seccions i l'estimació de l'àrea compresa ha de ser més gran que una altra lesió que afecti només una secció. Per aconseguir-ho i augmentar la precisió d'aquest procediment, es suggereix l'ús d'una targeta de valoració consistent en una fotografia dels molars drets i esquerres del maxil·lar i de la mandíbula provista d'espais per a anotar les dades de l'animal. Per a puntuar les càries de les dents, els maxil·lars es netegen per qualsevol dels mètodes descrits anteriorment i aleshores s'examinen amb l'ajut d'un microscopi de baixa resolució i es fotografien. Els límits de la lesió s'anoten i queden recollits en les targetes (protocols). L'estimació de l'àrea cariada de la dent s'aconsegueix mitjançant l'ajut d'un planímetre. L'àrea total de la superfície de la dent s'ha mesurat prèviament i es fa correspondre a 100 unitats arbitràries. D'aquesta manera el calibrat del planímetre permet llegir el percentatge de la superfície destruïda directament en el planímetre. La puntuació total per un quadrant s'obté afegint les lectures individuals del planímetre per a les tres dents dividides entre tres. Un procediment similar s'utilitza per a obtenir les puntuacions totals de tota la dentició.

Amb una millor comparació dels factors etiològics de la càries dental s'ha produït una millora en el disseny dels experiments, que ha aconseguit un escurçament en el temps

d'experimentació. Les modificacions en el tipus de dietes, i en els mètodes d'inoculació han escurçat el temps necessari per a produir lesions carioses. També és veritat que els investigadors han arribat a estar més interessats en les lesions inicials de l'esmalt i la seva localització en la dent que no en els procediments de destrucció, que està probablement relacionat amb el procés de malaltia. Degut a la importància de les lesions inicials s'han desenvolupat procediments de valoració de càries amb lesions produïdes en 15 dies d'exposició a condicions cariogèniques. Inclouen examinacions dirigides a determinar l'extensió, intensitat i localització de lesions. Les lesions del solc no estan realment avaluades en les dents intactes, per tant, en tots aquests procediments cal fer alguna forma de secció per a inspeccionar la penetració de la degeneració de la dentina, particularment en les àrees de solc. Les tincions s'utilitzen normalment per a que la destrucció no sigui extensa i ajuda a la localització de les àrees carioses. Dos procediments útils de valoració de càries d'aquest tipus podem considerar-los com a exemples els mètodes descrits per König i cols. (1958) i el descrit per Keyes (1958).

König i cols. han descrit un mètode de valoració de càries que ha estat força utilitzat. En la preparació dels maxil·lars de la rata es fa una sèrie de talls sagitals utilitzant un disc adiamantat. Els maxil·lars seccionats es tenyeixen amb reactiu de Schiff i s'examinen les lesions del solc. Les lesions del solc o de les àrees interproximals es puntuen utilitzant el següent mètode:

A= Només lesió de l'esmalt

T= Lesió extesa a la unió amelodentinària

B= Moderada lesió de dentina

C= Important lesió dentinària amb una destrucció de cúspide visible.

Keyes (1958) ha descrit amb enorme detall un mètode per a avaluar la càries, que és una tècnica molt completa i senzilla. Els maxil·lars amb els molars que han de ser valorats es netegen, es tenyeixen i s'assequen. Aleshores s'hemiseccionen en un pla sagital mesio-distal amb una serra circular. Pintant els molars moderadament mitjançant la immersió en oli, ajudarà a visualitzar millor les lesions que mullant-los en aigua. El mètode divideix l'aspecte del solc dels molars mandibulars en unitats lineals: 6 per al primer molar, 4 per al segon, i 4 per al tercer molar. La profunditat de la càries es puntua segons el següent criteri:

E , lesions només presents en l'esmalt

Ds, lesions incloents en la línia amelodentinària

Dm, lesions que s'extenen cap la dentina

Dx, lesions que representen la destrucció de la dentina i arriben a la polpa.

La implicació bucal s'obté determinant el número d'unitats d'àrea en les quals la càries ha penetrat en la profunditat E, Ds, Dm i Dx. Les lesions es plasmen en una targeta de puntuació que conté dibuixos dels molars i quadres per a registrar les puntuacions.

Les puntuacions del solc s'aconsegueix aplicant una estimació lineal d'un anivellament teòric del solc i avaluant la profunditat com s'ha indicat prèviament per a la secció bucal. El número d'unitats lineals assignats a cada solc començant des del primer molar fins el tercer són: 2/3/2; 3/2; 2. El mètode és senzill i molt útil i permet la valoració

de la incidència i gravetat de la càries en les diferents zones de la dent de la rata sense consumir una gran quantitat de temps (Navia 1977).

1.2.3. Inducció de xerostomia en la rata

1.2.3.1. Característiques de la saliva

Les funcions de la saliva han atret l'interés dels investigadors del camp de l'odontologia que han comprès el seu important efecte en la salut oral, i possiblement en les malalties depenents de la placa dental. També han treballat en aquest tema els fisiòlegs i bioquímics interessats en la síntesi de proteïnes i en els mecanismes de transport i els neurofisiòlegs interessats en l'estudi dels aspectes neurològics de la funció de les glàndules salivals. Una gran proporció d'aquesta recerca ha estat feta en humans, donat que la saliva pot ser fàcilment recollida i els resultats obtinguts són directament aplicables als humans. Malgrat tot, hi ha cassos en els quals l'ús en persones no és possible perquè el tractament implicat pot presentar un risc pel subjecte, i en aquests cassos està indicat realitzar l'estudi en animals de laboratori. Els resultats obtinguts d'aquests models d'animals són emprats per resoldre les qüestions plantejades en el protocol, però no poden ser extrapolats directament en la situació humana. El coneixement de les característiques de les glàndules salivals i la saliva de diferents animals ajudarà a la interpretació de les dades.

La saliva està constantment en contacte amb l'esmalt dental amb una relació important.

Les principals interaccions són:

- A) La saliva contribueix a la formació de la pel·lícula adquirida de l'esmalt.
- B) Els minerals i els electrolits de la saliva formen part del fenomen de mineralització-remineralització que té lloc en la superfície de l'esmalt.
- C) La saliva conté proteïnes que aglutinen bacteris i també contribueixen a la formació de la matriu intercel·lular de la placa bacteriana.
- D) La saliva pot contribuir a la nutrició dels bacteris i així acceleren o retarden certs components de la placa.

A) La pel·lícula adquirida d'esmalt és una capa que envolta l'esmalt i està composta per proteïnes de la saliva i bacteris. Els grups carboxil de les proteïnes tenen afinitat per a la hidroxiapatita de l'esmalt, a més s'hi adhereixen restes de parets cel·lulars bacterianes. Aquesta capa serà la que unirà la placa bacteriana amb l'esmalt. La formació d'aquesta pel·lícula adquirida dependrà de la viscositat i el pH de la saliva, del número de grups carboxil de les glicoproteïnes, i de la concentració de ions com el Cl^- o Ca^{++} en la saliva.

B) La saliva en el fenomen de remineralització

La saliva contribueix de moltes maneres al canvi de minerals que formen part de la superfície de la pel·lícula de l'esmalt. La saliva conté calci i fòsfat, que quan disminueix el pH són ionitzats i per aquesta raó incrementa la concentració iònica. Degut a que la saliva està normalment sobresaturada, el calci i el fòsfat estan

disponibles en la superfície de la dent pels processos de reparació. El fluor ingerit passa a la saliva, i aquí pot actuar per a incrementar el dipòsit de sals fosfatocàlciques, que són el tipus majoritari d'apatita. Altres elements com per exemple el magnesi, pot ser trobat en la saliva i és contrari a l'efecte del fluor per reduir la quantitat de sals fosfatades precipitades i incrementa els nivells dels dipòsits d'esmalt nou. La remineralització és, en gran mesura, responsable de la maduració de l'esmalt després de l'erupció i pel manteniment de la integritat de l'esmalt.

La maduració posteruptiva de l'esmalt ha estat descrita en humans i ha estat clarament mostrada en animals d'experimentació. Si immediatament després de l'erupció (18 dies d'edat) del primer molar mandibular d'una rata, aquest s'exodoncia i es tenyeix amb murexida, un colorant que s'adhereix preferentment al calci, grans àrees de l'esmalt es tenyeixen de vermell. Si el mateix procés es repeteix amb una dent d'un animal de més edat, l'esmalt roman blanc. No se sap si l'esmalt de la dent immadura té més calci disponible per a reaccionar o si existeixen canals de gran difusió en l'esmalt que permet les molècules tenyides penetrar en l'estructura i tenyir l'esmalt. Independentment del mecanisme d'acció, els molars sans de rates adultes no es tenyeixen. Quan la dent erupciona en la boca, la superfície de l'esmalt és àspera, però ràpidament es fa més fina com les pel·lícules formades sota la influència de saliva. Els principals esdeveniments en el procés de maduració de l'esmalt són el dipòsit de proteïnes, la precipitació de minerals, i la incorporació d'unes traces d'elements en la superfície de l'esmalt, conjuntament amb els canvis químics implicant la formació de cristalls d'hidroxiapatita i fluoroapatita.

Quan els bacteris de la flora bucal produeixen àcids l'esmalt es desmineralitza i l'esmalt superficial dels molars esdevé immadur. Les conseqüències d'aquesta desmineralització dependrà en part de com la saliva banya la superfície de la dent. Si tenen lloc els factors reparadors prèviament discutits, l'esmalt pot ser capaç de recuperar i possiblement també millori la seva resistència a la dissolució mitjançant l'adquisició de cristalls d'apatita estables sota influència de traces d'elements, com per exemple fluor. Si la força desmineralitzadora és més gran que aquest fenomen reparatiu, el resultat pot ser una lesió irreversible de la superfície de l'esmalt.

C) Agregació de bacteris induïts per la saliva.

Recentment, es va estudiar una altra propietat de la saliva, és la propietat d'induir l'agregació de bacteris. L'adhesió entre cèl·lules i de cèl·lules amb la superfície de l'esmalt ha estat considerada important en la formació i establització de la placa. Certs microorganismes, tals com l'estreptococ mutans o l'estreptococ sanguis, forma el polisacàrid extracel·lular quan té a la seva disposició un substracte com la sacarosa i l'enzim glucosil transferasa, la qual cosa s'ha considerat fonamental per a la capacitat de colonització i implantació del microorganisme. La presència de petites quantitats de dextrà de pes molecular baix tendirà a aglutinar les cèl·lules.

D) Us de components salivals en el metabolisme de la flora oral

Ja hem comentat que els bacteris en la placa quedaven incrustats en la matriu orgànica que conté material proteínic d'origen salival. Aquests bacteris són capaços d'utilitzar diferents components de la placa per al seu metabolisme. Les glicoproteïnes contenen carbohidrats que poden ser separats i utilitzats pels microorganismes orals. El mateix

és vàlid pels aminoàcids lliures, pèptids, i proteïnes presents en la saliva. És obvi que la saliva no és només un medi aquós que banya i transporta organismes en la cavitat oral, sinó que a més té unes relacions importants i molt concretes amb la dent i la flora microbiana, la qual determina una gran extensió en l'ambient oral (Navia, 1977).

1.2.3.2. Xerostomia irreversible

S'ha fet diversos estudis en rates valorant la repercussió oral que comporta l'extracció quirúrgica parcial o total de les glàndules salivals o la irradiació d'aquestes glàndules. La xerostomia produïda per l'extracció quirúrgica de les glàndules submaxil·lars i sublinguals i l'obstrucció total del conducte parotídi augmenta la virulència de la flora acidogènica i l'índex de càries de corona i d'arrel. Aquesta flora és fàcilment transmissible a animals no dessalivats que conviuen en la mateixa gàbia produint-los més càries que les rates que no conviuen amb animals dessalivats (Bowen et al., 1988a,b; Madison et al., 1990; Madison et al., 1991). Això confirma que la càries dental és una malaltia infecciosa i transmissible.

Si la dessalivació de les rates es feia just o abans del temps d'erupció de les dents, s'observava una gran quantitat de càries, en canvi si la desalivació es feia més tard del temps d'erupció es trobava menys quantitat de càries (Navia, 1977).

Giersten i col·laboradors (1991) van fer un estudi valorant unes substàncies cariostàtiques en rates parcialment dessalivades després de l'extracció de les glàndules

submaxil·lars i sublinguals.

Aquesta hiposalivació irreversible tant si és produïda per irradiació o extracció de glàndules salivals causa molta més càries dental i proliferació de microorganismes acidogènics (Ooshima et al., 1990; Ooshima et al., 1991). Vissink i col.laboradors (1991) van observar que la hiposalivació deguda a la irradiació de glàndules submaxil·lars en la rata es produïa al cap de tres dies després de la radiació.

1.2.3.3. Xerostomia reversible

S'han estudiat els efectes dels fàrmacs que estimulen els receptors adrenèrgics β en quant a la secreció salival i desenvolupament de càries en la rata. El tractament crònic amb isoproterenol o amb propranolol en la rata produeix més càries que en les rates no sotmeses a aquest tractament i els valors són semblants als de rates dessalivades quirúrgicament (Watson et al., 1990; Ryberg et al., 1989; Ryberg et al., 1988). En rates tractades crònicament amb atropina calia més dosis de pilocarpina per a produir salivació i presentaven més càries que el grup control (Watson et al., 1989).

Leach i Connell (1990) van estudiar l'efecte de la pilocarpina incorporada en la dieta cariogènica en la rata. Van observar que les rates que ingerien pilocarpina (0.1% en la dieta) augmentaven menys pes i presentaven menys càries que el grup que no rebia cap tractament. A més presentaven menys càries que abans d'iniciar el tractament amb pilocarpina, la qual cosa fa pensar que la càries pot ser reversible mitjançant la

remineralització. Això demostra el paper imprescindible que juga la saliva en els processos de remineralització que tenen lloc a la boca.

1.2.4. Efecte del fluor en la rata

La substància cariostàtica més estudiada i potser la més eficaç és el fluor. El fluor, tant en rates com en humans, participa en més d'un mecanisme d'acció: en el de desremineralització en dents erupcionades, i el de formació de fluoroapatita durant el procés preeruptiu (Larson et al., 1976; Mellberg i Larson, 1978).

Voldríem diferenciar l'efecte sistèmic del fluor (producció de fluoroapatita durant la formació de l'esmalt) i efecte tòpic (ajuda a la remineralització de la lesió) d'administració sistèmica (via oral o intragàstrica) i d'administració tòpica (aplicació tòpica). Si les dents ja s'han format i erupcionat, una administració sistèmica de fluor tindrà un efecte tòpic degut a un increment de la concentració de fluor en la saliva. En les rates es pot donar el cas que si administrem sistèmicament fluor entre el 18è i el 35è dia d'edat produïm un efecte tòpic en el primer i segon molar i un efecte sistèmic en el tercer molar.

El fluor pot ser administrat posteruptivament i a concentracions relativament baixes en l'aigua de beguda i en la dieta, o en altes concentracions aplicat tòpicament. La quantitat de fluor necessària per inhibir les càries en la rata depèn del mètode d'aplicació. Una concentració de 2.5 ppm de fluor pot ser efectiva en l'aigua de

beguda. Una concentració de 40 ppm en l'aigua de beguda dona com a resultat una reducció aproximada de càries d'un 90 % en la superfície bucal i un 70 % de la càries de solc. La freqüència d'administració també és important; afegint 2.5-40 ppm de fluor en l'aigua de beguda un dia per setmana no és tan efectiu com si s'administrés els set dies de la setmana. La addició de fluor en la dieta pot reduir l'efecte comparat amb la mateixa quantitat en l'aigua de beguda, però aquest efecte pot quedar prolongat donat que el fluor es reté en el menjar impactat de les fissures (Mellberg, 1981).

1.2.4.1. Administració sistèmica

Shresta (1983) va estudiar l'efecte sistèmic del fluor en rates durant el 2n i 17è dia d'edat observant que els molars de rata en desenvolupament captaven més fluor si era administrat com a tetrafluorur de titani que com a FNa a mateixa concentració de fluor. Spak i col.laboradors (1990) van observar que l'efecte sistèmic del fluor en rates de 2-13 dies d'edat té més repercussió en càries de solc que en la resta de zones (proximals o vestibular).

S'han fet nombrosos estudis valorant l'efecte del fluor en l'aigua de beguda a diferents concentracions. Beiraghi i col.laboradors (1989) van observar que 1 ppm de fluor en l'aigua de beguda reduïa un 24% les càries de solc. Edgar i col.laboradors (1981) van veure que la reducció de càries total en les rates tractades amb 2.5 ppm de fluor en l'aigua de beguda era d'un 22%. En contraposició a aquests estudis Kortelainen i Larmas (1990) no van trobar diferències significatives entre els valors de càries en les

rates que bevien aigua amb 1 o 7 ppm comparat amb el grup control, en canvi les que consumien 19 ppm presentaven menys càries. Larson i col·laboradors (1976) en un estudi que ja es considera clàssic van observar que 10 ppm de fluor en l'aigua de beguda reduïa aproximadament un 50 % les càries de la rata. Igualment, Tamura i col·laboradors (1987) van observar un 45% de reducció en rates que bevien aigua amb 10 ppm de fluor comparades amb el grup control. Alguns autors han utilitzat el fluor en l'aigua de beguda a una concentració de 10 ppm per a comparar l'efecte preventiu amb altres substàncies cariostàtiques d'aplicació tòpica (Tanzer et al., 1988; Mirth et al., 1985).

Mundorff i col·laboradors (1988) van observar que el fluor (10 ppm) administrat conjuntament amb la dieta cariogènica disminuïa un 50 % les càries de les cares vestibular i lingual.

1.2.4.2. Administració tòpica

L'exposició de fluor en rates en una fase posteruptiva inhibeix la càries de manera més efectiva que en l'exposició en una fase preeruptiva. L'absorció de fluor per l'esmalt disminueix amb l'edat de l'animal. Quan es dona 10 ppm de fluor en l'aigua de beguda durant els 7 dies després del deslletament, s'observa una significant absorció de fluor en l'esmalt, però no succeeix el mateix si amb la mateixa dosi es dona durant els 49 dies després. Això és degut probablement perquè l'erupció de la dent fa que hi hagin més àrees hipomineralitzades les quals tenen més porus que l'esmalt sa i adquireix més

fàcilment el fluor. A mesura que la dent va madurant aquestes àrees es mineralitzen quedant menys porus i es produeix una reducció d'absorció de fluor, especialment provinent de solucions relativament diluïdes

En l'estudi de substàncies cariostàtiques d'aplicació tòpica s'han utilitzat una gran varietat de dosi, freqüències d'aplicació, durada del tractament, tècnica d'aplicació (Taula 1.3).

Autors	Substància d'estudi	Concentracions	Tècnica d'aplicació	Freqüència	Durada
Gron 1987	NaF/NH ₄ F	1000 ppm	Cotó 30 seg.	4/setmana	98 dies
Mirth 1985	Fluor d'alliberament sostingut	150-200µg F/dia	Membrana copolímer	Mantinguda	29 dies
Rolla 1983	NaF/SnF	20mM/10mM	xeringa 0.2ml	2/dia	30 dies
Seppa 1983	Duraphat / protector	2.2% / 0.7%	cotó 15 seg.	1/dia	19è-21è / 25è-27è
Seppa 1989	Duraphat	2.2/1.1/0.6%	cotó 15 seg.	1/dia	3 dies
Shern 1987	F/ CPS	1000 ppm	xeringa	5/setmana	5 setm.
Skartveit 1991	TiF ₄ / NaF	1% / 1.3%	Cotó 1 minut	1/dia	dia 1r i 17è
Tanzer 1988	NaF/ Sacarina/ NaHCO ₃	0.22% / 0.5%	cotó 1 minut	5/setmana	20 dies
Uemura 1989	NaF/NH ₄ Mo	1000/ 3000ppm	cotó 30 seg.	5/setmana	3 setmana
Weatherell 1981	NaF	2%	cotó, anestèsia	*	*

Taula 1.3. Relació dels estudis consultats de prevenció amb fluor tòpic en rates.

2. JUSTIFICACIÓ I OBJECTIUS DE L'ESTUDI

JUSTIFICACIÓ DE L'ESTUDI

La càries dental és una de les malalties més freqüents i més esteses que existeix. La saliva té una funció primordial en la conservació de la integritat dels teixits orals. Una disminució de la secreció salival en humans augmenta el risc de càries dental i d'altres malalties de la cavitat oral. Les causes més habituals d'una disminució del flux salival són la irradiació, extirpació o alteracions de les glàndules salivals, i els efectes secundaris d'alguns fàrmacs. Entre aquests cal destacar els psicofàrmacs, que són àmpliament prescrits en la nostra societat i que produeixen com a efecte indesitjable ben conegut una acció anticolinèrgica que comporta sequedat de boca. Per altra banda en la nostra societat ha augmentat l'expectativa de vida. La població d'una edat superior als 65 anys representa actualment el 15% del total en l'Europa Occidental i es calcula que serà superior al 20% l'any 2020. També, en existir una major preocupació per les condicions higiènic-sanitàries, és major el nombre de persones que tenen cura de les seves dents i, per tant, en prolonguen la conservació. Aquest tipus de població presenta, a més, una retracció gingival que comporta que una part de l'arrel dentària quedi al descobert amb el consegüent risc de càries. A causa, doncs, d'aquesta situació i que els adults són potencials consumidors de fàrmacs que tenen com a efecte secundari la xerostomia, augmenta la probabilitat d'aparició de càries tant d'arrel com de corona.

Són molts els estudis dedicats a correlacionar la xerostomia produïda per psicofàrmacs amb l'índex de càries, però pel fet que la càries és una malaltia multifactorial i amb gran variabilitat interindividual, resulta molt difícil arribar a conclusions de causalitat. Per a controlar al màxim aquestes variables s'ha utilitzat un model de càries experimental en rata en què es pot controlar perfectament el factor bacterià i de dieta, reduint en gran part la variabilitat interindividual observada en humans. A més, en poques setmanes es poden observar càries i, per tant, es poden fer estudis en un espai curt de temps.

En primer lloc valorem l'efecte de la clomipramina, un dels antidepressius més prescrits en la pràctica clínica, en la càries de la rata. En segon lloc volem quantificar la capacitat cariostàtica que té el fluor administrat per via sistèmica o per via tòpica tant en animals tractats amb clomipramina com en els que no han rebut aquest tractament, ja que el fluor és la substància més coneguda i més eficaç per prevenir la càries dental. En tercer lloc estudiem la capacitat cariostàtica que pot tenir la pilocarpina, a causa de la seva acció estimulante de la secreció salival, i la del fluor liposomat aplicat tòpicament, ja que els liposomes faciliten el transport i l'absorció del principi actiu.

OBJECTIUS

1. Valorar l'efecte que produeix el tractament crònic amb clomipramina en l'increment de pes, consum de menjar i beguda, flux salival estimulat i número de càries en la rata.
2. Determinar l'efecte cariostàtic del fluor administrat per via sistèmica i per via tòpica.
3. Valorar la concentració de fluor que es troba en la saliva dels animals tractats amb fluor per via sistèmica i tòpica.
4. Estudiar l'efecte de la pilocarpina administrada diàriament per via oral en la càries induïda en la rata.
5. Comparar l'acció preventiva del fluorur sòdic liposomat amb el fluorur sòdic sense liposomar en l'aparició de càries en rates tractades amb clomipramina.
6. Valorar la possible potenciació de l'efecte preventiu del fluorur sòdic liposomat aplicat tòpicament per l'administració prèvia de calci liposomat.

3. MATERIAL I MÈTODES

3. MATERIAL I MÈTODES

3.1. Material Utilitzat

- * 230 rates, mascle, de la soca Wistar, provinents de Charles River France,
- * suspensió d'estreptococ mutans a una concentració de 10^8 cèl.lules/ml subministrats per la Universitat de València i cultivats al Servei de Microbiologia de l'Hospital Prínceps d'Espanya,
- * dieta de manteniment A04 de Panlab,
- * dieta cariogènica Stephan-Harris 580 (ST-580),
- * clomipramina en ampul.les de 25 mg/2ml (Anafranil[®]),
- * fluorur sòdic (Panreac),
- * fluorur sòdic liposomat 0.1% (Dianorm),
- * clorur càlcic liposomat 0.2% (Dianorm),
- * clorhidrat de pilocarpina (Sigma),
- * uretà (Sigma),
- * Tisab III (Orion),
- * solució estàndar de fluor 100 ppm (Orion),
- * microprocessador d'anàlisi de concentració de ions METER EA-940 (Orion),
- * electrode específic de fluor 9609 BN (Orion),

- * murexida (Sigma),
- * lupa estereoscòpica SZ4045TR (Olympus),
- * micromotor pneumàtic amb disc adiamantat per les dues cares,
- * paquet estadístic SPSS per a Windows,
- * ordinador personal PC 486 DX/33 (Tandom),

3.2. Mètodes

3.2.1. Animals utilitzats

Als 18 dies edat de les rates les vam repartir en 10 grups de 20 i tres grups de 10 (taula 3.1.), allotjant cinc animals a cada gàbia, a l'atzar controlant la variable pes i la camada. Els molars de les rates erupcionen al voltant dels 18 dies d'edat i és quan tenen més susceptibilitat de colonitzar-se per estreptococs mutans i desenvolupar càries. Vam procurar que en cada grup no hi hagués més de dues rates de la mateixa camada donat que el factor genètic juga un paper molt important en la càries. Per a poder identificar cada rata durant tot l'estudi les vam marcar fent uns forats a les orelles amb un perforador. La rata que no tenia cap forat en les orelles li assignavem el nom de SF, la que en tenia un a l'orella esquerra tenia el nom de 1E, la que en tenia un a la dreta li deiem 1D, dos forats a l'orella esquerra seria 2E, i dos a la dreta 2D. Abans de distribuir les rates en cada grup les vam pesar per poder tenir uns grups homogenis en quan al pes i per a fer un seguiment del creixement de cada animal. Els animals van romandre en una sala en l'estabulari del Campus de Bellvitge amb una temperatura de

20-22°C, amb una humitat del 60-65% i sotmesos a un cicle llum-fosc de 12 hores diàries.

GRUP DE TRACTAMENT	NUM. RATES	DIETA	XEROSTOMIA	PREVENCIO FLUOR	PREVENCIO PILOCARPINA
1 Control	20	Normal	No	No	No
2 Dieta Cariogènica (DC)	20	Cariog.	No	No	No
3 DC-Fluor 10ppm	20	Cariog	No	10 ppm begut	No
4 DC-Pilocarpina	20	Cariog	No	No	5 mg/kg IG
5 DC-Fluor-Pilocarpina	10	Cariog	No	10 ppm begut	5 mg/kg IG
6 DC-Clomipramina (Cl)	20	Cariog	Clomipramina	No	No
7 DC-Cl-Fluor 10 ppm	20	Cariog	Clomipramina	10 ppm begut	No
8 DC-Cl-Pilocarpina	20	Cariog	Clomipramina	No	5 mg/kg IG
9 DC-Cl-Fluor-Piloc	10	Cariog	Clomipramina	10 ppm begut	5 mg/kg IG
10 DC-Cl-Top H ₂ O	20	Cariog	Clomipramina	H ₂ O tòpic	No
11 DC-Cl-Top NaF	20	Cariog	Clomipramina	FNa 0.2% tòpic	No
12 DC-Cl-Top NaF lip	20	Cariog	Clomipramina	FNa 0.1% lip t.	No
13 DC-Cl-Top F+Ca lip	10	Cariog	Clomipramina	F+Ca lip tòpic	No

Taula 3.1. Distribució dels grups i tractament administrat

Tots els animals llevat del grup 1 se'ls va inocular una suspensió d'estreptococ mutans amb una concentració de 10^8 cèl.lules/ml. Aquests microorganismes van ser subministrats per la Universitat de València i cultivats al Servei de Microbiologia de l'Hospital Prínceps d'Espanya. Els dies 18è, 19è, i 20è d'edat de les rates vam administrar 0.2 ml d'aquesta suspensió en la cavitat oral mitjançant una xeringa sense agulla i vam afegir-ne 1 ml en cada bebedor durant els tres dies. Aquesta és l'edat en que just erupcionen els dos primers molars i tenen la màxima susceptibilitat de colonitzar-se amb l'estreptococ mutans i pertant de desenvolupar càries.

Per a detectar alguna malaltia o mort dels animals vam fer una inspecció diària. Vam mesurar el pes de les rates un cop per setmana. Es canviaven els flocs de cada gàbia un cop per setmana.

3.2.2. Dieta i beguda

Les rates del grup 1 (control) consumien una dieta de manteniment A04 de Panlab. La composició d'aquesta dieta ve descrita en la taula 3.2. Els altres grups consumien una dieta cariogènica Stephan Harris 580 (ST-580). En la seva composició, que es troba detallada en la taula 3.3, convé destacar l'alt percentatge i el tipus de glúcids, que són sucres refinats. Aquesta dieta es presenta en forma de pols ja que no es pot comprimir degut a l'alt contingut en sucre. Per a poder controlar la quantitat de menjar consumit el vam barrejar amb una mica d'aigua per a fer una pasta i poder-la assecar al forn. Els animals disposaven de menjar "ad libitum", és a dir, en cap moment no es restringia la quantitat de menjar ni el nombre d'ingestes. La quantitat de menjar i beguda consumits s'anaven controlant 3 cops per setmana.

Tots els animals disposaven d'aigua de la xarxa "ad libitum" que contenia una concentració inferior a 0.01 ppm de fluor. El contingut s'anava recanviant tres cops per setmana i es registrava la quantitat consumida per cada gàbia.

Humitat	12%
Proteïna bruta	17.2%
Greix brut	2.7%
Fibra bruta	3.9%
Minerals	4.4%
Glúcids	59.7%
Valor calòric (Kcal/kg)	3100

Taula 3.2. Composició de la dieta de manteniment A04 de Panlab

Humitat	8.0%
Proteïna bruta	9.2%
Lípids	8.5%
Glúcids	72.8%
Cendres	1.5%

Taula 3.3. Composició de la dieta cariogènica ST-580

3.2.3. Tractament dels animals

Per a induir xerostomia hem escollit el fàrmac clomipramina perquè és un dels antidepressius tricíclics més emprats en la pràctica clínica. A més està ben descrit en la literatura l'efecte secundari de xerostomia. Les rates dels grups 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, i 13 van rebre clomipramina (50 mg/kg/dia) per via intragàstrica mitjançant una sonda des del 21è dia d'edat fins el dia del sacrifici.

Com a patró cariostàtic hem escollit el fluor ja que és la substància més coneguda i de moment més eficaç per a prevenir la càries. Hem volgut quantificar la capacitat cariostàtica del fluor en les rates tractades amb clomipramina i sense tractament. Hem utilitzat dues vies d'administració; per via sistèmica i per via tòpica. En la primera via hem afegit en l'aigua de beguda fluor per aconseguir una concentració de 10 ppm. En la via tòpica hem utilitzat una solució de fluorur sòdic al 0.2%. Els animals dels grups 3, 5, 7, i 9 bevien aigua amb una concentració de fluor de 10 ppm des del dia 21è d'edat fins el dia del sacrifici.

Les rates del grup 10 rebien una aplicació tòpica d'H₂O destil·lada - com a grup control-, les del grup 11 rebien una aplicació tòpica de fluorur sòdic al 0.2%, a les del grup 12 s'aplicava tòpicament una solució de fluorur sòdic liposomat al 0.1%, i les del grup 13 rebien dues aplicacions, primer de clorur càlcic liposomat al 0.2%, 0.05 ml en l'hemiarcada dreta i 0.05 ml més en l'esquerra, i al cap de 15 minuts una solució de fluorur sòdic liposomat al 0.1%, 0.025 ml en la dreta i 0.025 ml en l'esquerra. Vam escollir una concentració de 0.1% en el grup del fluor liposomat ja que és la concentració màxima en que pot ser liposomada aquesta substància. La freqüència d'aplicació va ser de dos cops per setmana des del dia 21è d'edat fins el dia del sacrifici. Per a realitzar cada aplicació tòpica anesthesiàvem les rates amb uns cotons impregnats d'éter (Figura 3.1). Un cop estaven adormides aplicàvem 25 µl de la solució en l'hemiarcada dreta i 25 µl més en l'hemiarcada esquerra, fent uns massatges als buccinadors durant 30 segons per a que s'anés repartint la solució en tota la boca (Figura 3.2).

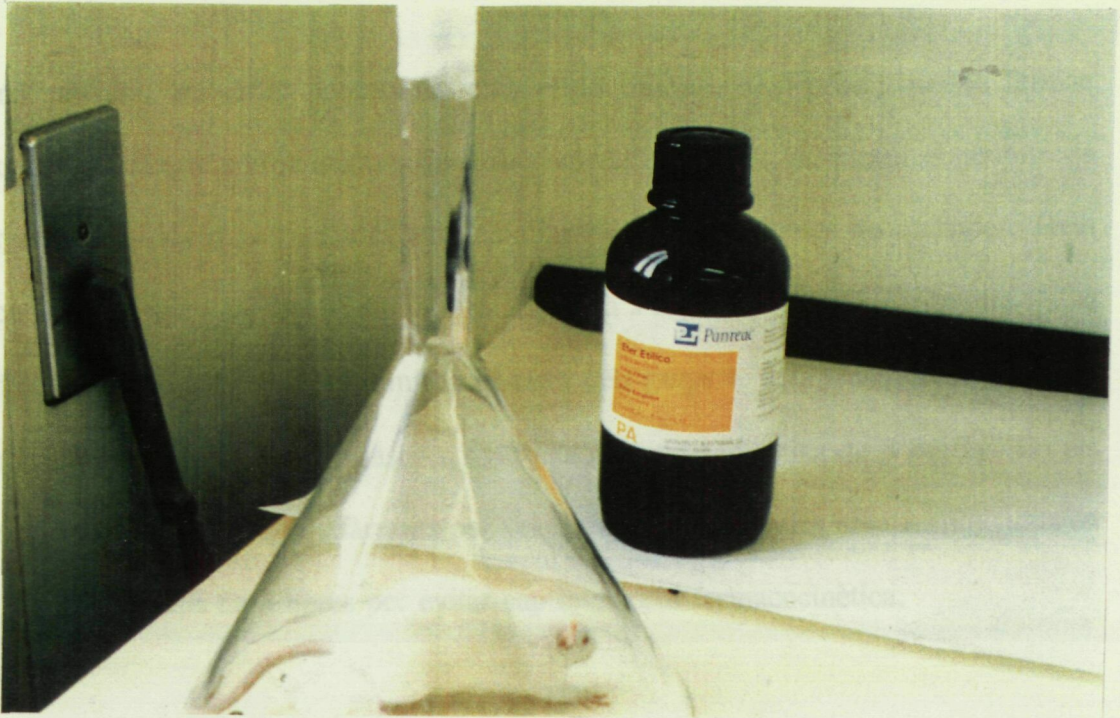


Figura 3.1. Rates anestesiades amb éter per a l'aplicació tòpica dels fàrmacs.

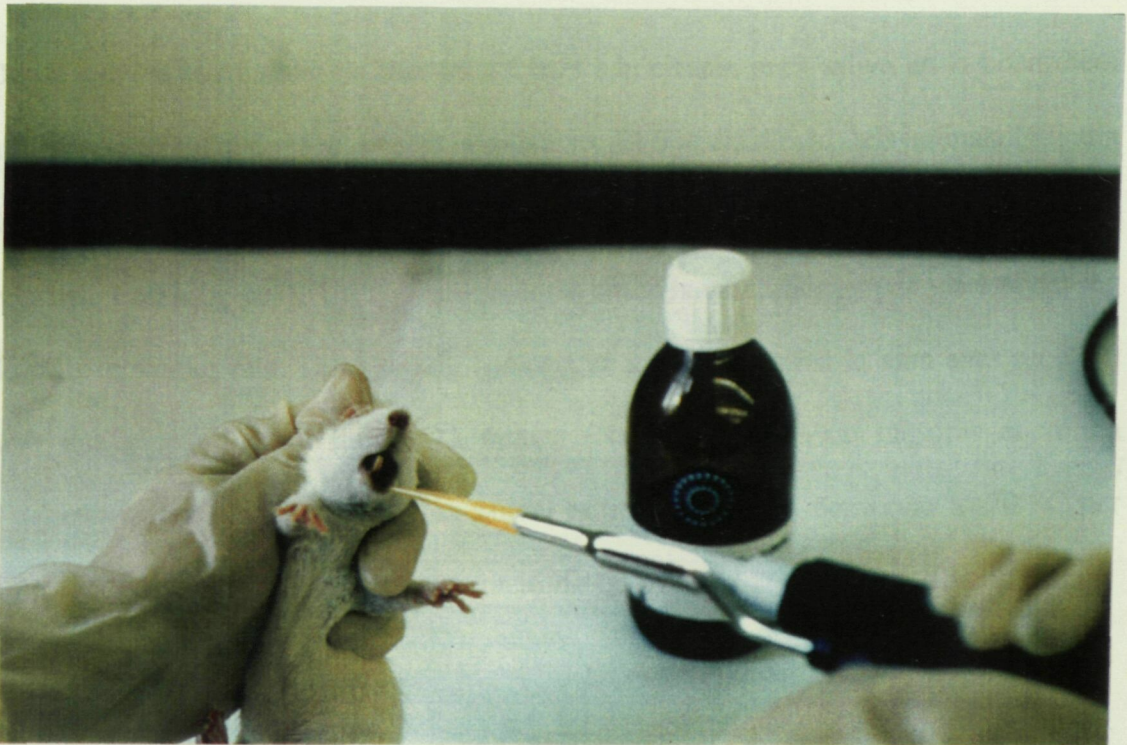


Figura 3.2. Aplicació tòpica de la substància estudiada.

Per a prevenir les càries potenciades amb el psicofàrmac hem pensat que un fàrmac agonista colinèrgic podria augmentar el flux salival i, per tant, disminuir el nombre de càries tant en les rates tractades amb clomipramina com les rates no tractades. Hem escollit la pilocarpina perquè és un fàrmac que ja s'ha descrit com a cariostàtic i s'ha indicat en persones amb xerostomia. Les rates dels grups 4, 5, 8, i 9 van ser tractades amb pilocarpina per via intragàstrica amb una dosi diària i única de 5 mg/kg. En els grups 8 i 9, que rebien dos fàrmacs per via intragàstrica, aquests eren administrats en un espai de temps de 3 hores per evitar cap interacció farmacocinètica.

3.2.4. Flux salival estimulat

Donat que les rates tenen un flux salival baix i hi circula poca saliva en la boca, hem utilitzat pilocarpina per a estimular la salivació. El 60è dia d'edat dels animals (42è dia de l'estudi), després de 24 hores en dejuni, vam anestesiari els animals amb uretà 10% (via i.p. 1ml/100g pes). Un cop adormits els animals vam injectar per via i.p. 10 mg de pilocarpina/kg rata. Quan la rata començava a secretar saliva la vam anar recollint amb una pipeta Pasteur durant 15 minuts (Navia, 1977). Vam mesurar el volum d'aquesta saliva per calcular el flux salival estimulat i la vam conservar a -20 °C per a fer una posterior anàlisi de concentració de fluor.

3.2.5. Determinació de la concentració de fluor en saliva

De cada mostra vam recollir 180 μl de saliva amb una micropipeta i els vam depositar en un Eppendorf, afegint-ne 20 μl d'una solució tampó (Tisab III). Per a determinar la concentració de fluor en saliva hem utilitzat un electrode específic de fluor (ORION 9609 BN) i un microprocessador (METER EA-940). En primer lloc vam calibrar el microprocessador amb una solució patró de 100 ppm de fluor en el que també s'hi va afegir la part proporcional de Tisab III. Al cap d'un minut d'haver col·locat l'electrode amb els 200 μl de la solució vam anotar el valor de concentració de fluor.

3.2.6. Preparació de la mandíbula

Després de recollir la saliva vam sacrificar els animals per decapitació. Vam extreure la mandíbula i vam llevar els teixits tous amb material quirúrgic. Un cop netes les mandíbules les vam passar per un bany d'ultrasons durant 5 minuts per eliminar restes de menjar. Vam col·locar les mandíbules en una solució de murexida (60mg/alcohol al 70%) per a tenyir les càries durant 6 hores. Un cop tenyides les mandíbules les vam conservar en sec en uns pots de vidre convenientment etiquetats. En primer lloc vam quantificar les càries en les cares oclusals, linguals i vestibulars, mitjançant una lupa estereoscòpica (Olympus SZ4045TR) de 40 augments. Els valors que anàvem assignant els recollíem en un full de registre individual per a cada rata (vegeu figura 3.3).

Caries dental experimental en las ratas

Régimen _____ Rata N° _____
 _____ Jaula n° _____

Totales mandibulares				
Lesiones	E	D _s	D _m	D _x
Buco lingual				
Oclusal				
Del surco				
Proximal				

Molares mandibulares														
Izquierda						Derecha								
E	D _s	D _m				E	D _s	D _m				E	D _s	D _m
Vestibular						Vestibular						Vestibular		
Oclusal						Oclusal						Oclusal		
Lingual						Lingual						Lingual		
Del surco						Del surco						Del surco		
Proximal						Proximal						Proximal		

Ficha para el recuento de las caries en dientes de rata. E, esmalte; D_s, ligera implicación de la dentina; D_m, implicación moderada de la dentina; D_x, implicación extensa de la dentina; P, proximal.

Figura 3.3. Full de registre de l'extensió, profunditat i localització de la càries per a cada rata.

L'observador no sap en quin grup pertany la mandíbula en el moment de quantificar les càries. Un cop anotades i fotografiades es van seccionar longitudinalment les mandíbules, en sentit mesio-distal, amb un disc adiamantat per les dues cares, accionat per un micromotor amb refrigeració d'aire i aigua (Figura 3.4 i 3.5). Aquestes seccions ens van permetre quantificar les càries de solc i les proximals. Vam tornar a tenyir les càries amb la mateixa solució de murexida 6 hores més i després vam passar les mandíbules per un bany d'ultrasons per eliminar residus de la murexida.

3.2.7. Quantificació de les càries

Per a dur a terme el recompte de les càries hem seguit el mètode de Keyes que assigna un valor a cada lesió en funció de l'extensió i la profunditat. Aquests valors es recullen en un full de registre comentat anteriorment. Es pot observar càries en les cares oclusal, lingual, o vestibular i després de seccionar l'hemimandíbula sagitalment amb un disc adiamantat, s'observen les càries de solc i les proximals.

Per a valorar l'extensió de la lesió, els molars es divideixen en unitats en funció de la cara i el molar afectats, segons la taula 3.4.

Cara	1r molar	2n molar	3r molar
Bucal	6	6	4
Lingual	6	6	4
Oclusal	6	6	4
Solc	7	5	2
Proximal	1	2	1

Taula 3.4. Número d'unitats de cada molar segons la cara afectada

Per a valorar la profunditat cal tenir en compte quatre nivells: (E) si només afecta a l'esmalt, (Ds) si afecta fins a una tercera part de la dentina, (Dm) si la lesió arriba a dos terços de la dentina, i (Dx) si afecta a tota la dentina i arriba a polpa.

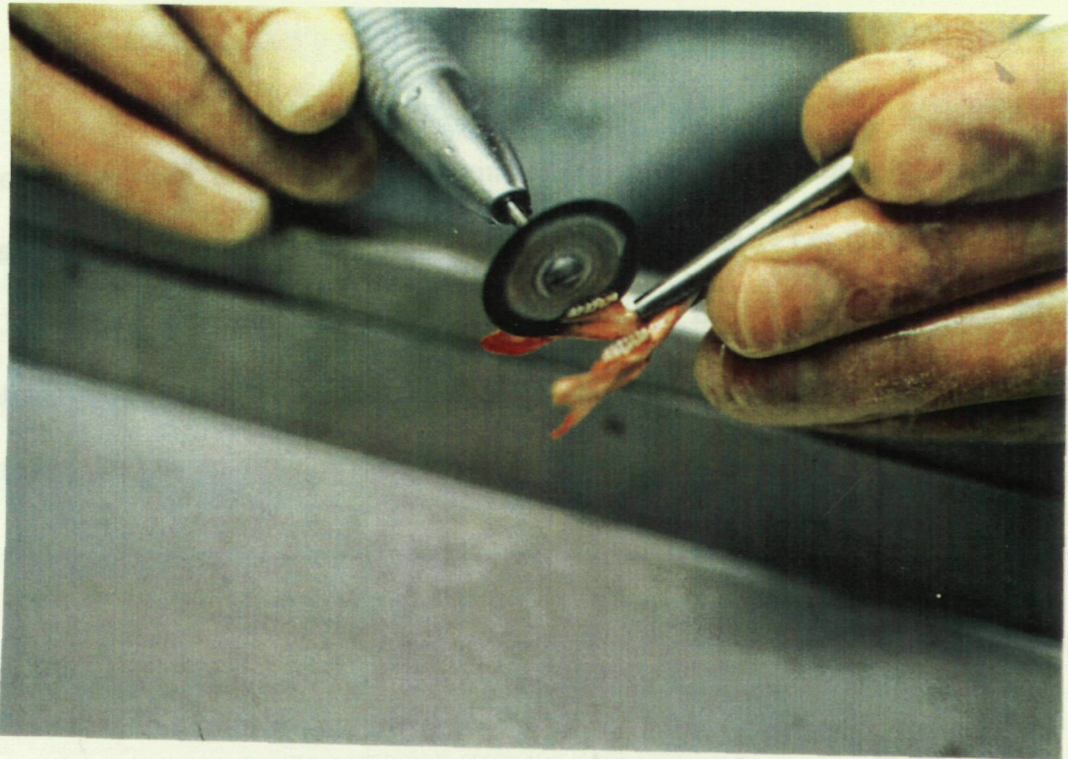


Figura 3.4. Secció longitudinal de les mandíbules de rata.



Figura 3.5. Mandíbula de rata seccionada per a quantificar les càries de solc.

Calculem el valor final de càries seguint el criteri de Keyes: Totes les unitats que presenten lesió d'esmalt (E) es multipliquen per un factor de 1. Les unitats que afecten en la dentina superficial (Ds) es multiplica per 2. Les unitats amb lesió en la dentinamitja (Dm) es multipliquen per 3. I finalment les unitats amb lesió en dentina profunda (Dx) es multipliquen per 4. Sumant aquests valors s'obté el valor final.

3.2.8. Anàlisi estadística

Les dades obtingudes en aquest treball s'han tractat amb el programa SPSS per a windows.

En les variables increment de pes, flux salival estimulat, concentració de fluor en saliva i valor de càries vam considerar cada rata com a individu. En les variables consum de beguda i de menjar vam considerar, al tractar les dades, cada gàbia com a individu.

Realitzem primer per a cada variable mesurada una descripció de la mitjana i desviació estàndar de cada grup d'estudi i una representació gràfica. A continuació realitzem una estadística comparativa per observar si les diferències són significatives. En primer lloc, hem aplicat la prova de normalitat, amb el test de Kolmogorov-Smirnov del paquet estadístic SPSS per a windows, per a cada variable mesurada i en cada grup d'estudi per saber si els valors segueixen o no una distribució normal. En aquelles variables que

seguixen una distribució normal es va aplicar el test d'homogeneïtat de variàncies (Levene test) per a poder utilitzar un test paramètric. Aquelles variables que no segueixen una distribució normal o no compleixen la condició d'homogeneïtat de variàncies apliquem un test no paramètric (Kruskall-Wallis) per a buscar diferències entre grups. En cas d'observar diferències utilitzem el test de Mann-Whitney per a comparar els grups dos a dos. En les variables que segueixen una distribució normal i tenen homogeneïtat de variàncies comparem els grups mitjançant l'ANOVA (Anàlisi de la Variança). En cas d'observar diferències estadísticament significatives entre els grups utilitzem el test a posteriori de Duncan per saber quins grups provenen de poblacions diferents. Considerem que existeixen diferències significatives quan obtenim una $p < 0.05$. També hem buscat un model de regressió múltiple que pogués explicar les variacions trobades a partir de les variables controlades, és a dir, a partir dels fàrmacs administrats en els diferents grups de tractament i del tipus de dieta. Per a buscar el model de regressió múltiple hem creat les següents variables codificades com a 0 o 1, representat en la taula 3.5:

Variable controlada	Codi i assignació
Dieta	0. Dieta normal
	1. Dieta cariogènica
Clomipramina	0. Sense tractament
	1. Dosi diària de 50 mg/kg i.g.
Fluor 10 ppm	0. Sense fluor 10 ppm
	1. Aigua de beguda amb 10ppm de fluor
Pilocarpina	0. Sense tractament
	1. Dosi diària de 5 mg/kg i.g.
H2O tòpica	0. Sense aplicació tòpica d'aigua
	1. Aplicació tòpica d'aigua destil.lada
Fluorur sòdic 0.2% tòpic	0. Sense aplicació de fluorur sòdic
	1. Aplicació tòpica de fluorur sòdic 0.2%
Fluorur sòdic 0.1% liposomat tòpic	0. Sense aplicació de fluorur liposomat 0.1%
	1. Aplicació tòpica de fluorur liposomat 0.1%
Clorur càlcic 0.2% liposomat tòpic	0. Sense aplicació tòpica de clorur càlcic
	1. Aplicació de clorur càlcic liposomat 0.2%

Taula 3.5. Codificació de les variables controlades per a realitzar un model de regressió múltiple.

4. RESULTATS

4. RESULTATS

Presentem els resultats seguint l'ordre de les variables mesurades. Comencem amb les variables de consum de menjar i de beguda en que al fer l'estadística considerem les gàbies com a individus i no les rates. Ho fem així perquè mesuràvem la quantitat de menjar i beguda corresponent a cada gàbia. Els valors representats en les taules i en els gràfics corresponen, però, a la mitjana del consum de menjar o beguda per rata. A continuació presentem els resultats de la resta de variables (pes, flux salival, concentració de fluor en saliva, càries) prenent cada rata com a individu.

L'esquema que seguirem en cada variable mesurada és el següent: Primer representem una descripció dels resultats dels diferents grups de tractament en una taula i en un gràfic. A continuació fem una comparació dels diferents grups i si trobem diferències significatives buscarem un model de regressió múltiple que ens quantifiqui l'efecte de cada variable controlada (dieta cariogènica, clomipramina, fluor sistèmic, pilocarpina, aigua tòpica, fluor tòpic, fluor tòpic liposomat, clorur càlcic, interacció fluor-pilocarpina) codificades com a 0 (en absència) o 1 (en presència).

Es van morir dues rates del grup 10, tres del grup 11, una rata del grup 12 i dues del grup 13. D'aquestes morts, sis es varen morir just després de l'anestèsia amb éter per a l'aplicació tòpica, i les altres dues les vam trobar mortes en la primera setmana de tractament. En l'observació necròpsica no es va observar cap lesió macroscòpica, la qual

cosa fa pensar que es van morir de sobredosi d'anestèsic o com a accident en l'administració de clomipramina per via intragàstrica.

4.1. Consum de menjar

En la taula 4.1 representem la quantitat de menjar consumit per rata acumulat per setmanes. Cal destacar que els grups alimentats amb la dieta cariogènica han consumit menys quantitat de menjar que el grup alimentat amb dieta de manteniment. Els animals que han rebut un tractament crònic amb clomipramina han consumit menys menjar que els que no han rebut aquest tractament.

En la figura 4.1 observem el consum de menjar dels diferents grups d'estudi durant les diferents setmanes de tractament.

En la taula 4.2 representem la raó de conversió d'aliments dels diferents grups d'estudi en les 5 setmanes de seguiment. La raó de conversió d'aliments es defineix com la quantitat de grams de menjar necessaris per a augmentar 1 gram de pes.

En la figura 4.2 observem la raó de conversió d'aliments al llarg de tot l'estudi dels diferents grups de tractament, és a dir, la relació entre el consum total de menjar per rata i l'increment de pes en tots el 42 dies d'estudi.

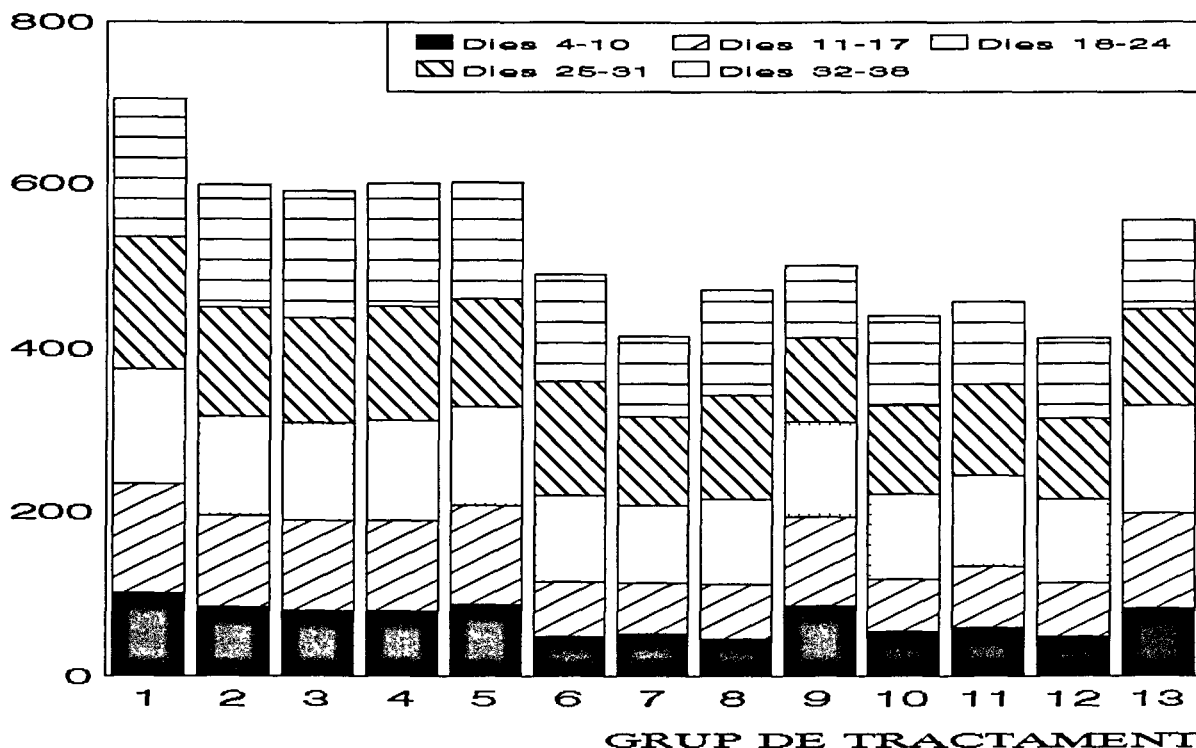


Figura 4.1. Mitjana del consum de menjar (g) per rata durant el temps de tractament

Grup de Tractament	Setm 1	Setm 2	Setm 3	Setm 4	Setm 5
1 Control	99.8±14.3	233.3±42.9	375.2±65.6	534.5±82.9	703.9± 101
2 Dieta cariogènica (DC)	82.9±22.9	194.9±38.3	317.5±36.9	449.9±30.7	597.9±30.5
3 DC-Fluor 10ppm	79.5±17.5	188.3±33.6	309.7±35.3	437.6±27.7	589.8±22.3
4 DC-Pilocarpina	78.2±17.9	188.6±30.2	313.3±29.1	450.5±20.1	598.9±16.0
5 DC-Fluor-Pilocarpina	86.3±16.2	207.1±29.6	329.4±38.2	460.1±50.7	601.0±62.8
6 DC-Clomipramina (Cl)	47.3±20.1	114.0±52.4	219.7±81.3	361.1±84.3	490.4±91.2
7-DC-Cl-Fluor 10	51.2±28.3	112.8±65.3	207.0±71.7	317.2±72.3	416.0±57.6
8-DC-Cl-Pilocarpina	44.3±19.2	110.7±50.0	215.6±67.3	344.4±86.4	471.7±93.6
9-DC-Cl-Fluor-Piloc	85.1± 2.1	193.7± 1.0	310.6±12.5	413.5±38.1	499.9±61.6
10-DC-Cl-Top H2O	54.4±36.0	118.2±86.4	221.0±99.2	331.8±91.0	440.7±76.4
11-DC-Cl-Top NaF	58.7±36.0	132.7±85.6	245.4± 103	357.5±95.0	456.6±67.6
12-DC-Cl-Top NaF lip	47.3±24.6	113.5±68.2	214.8±82.8	315.6±68.5	414.3±51.3
13 DC-Cl-Top F+Ca lip	82.4±6.8	198.8± 3.1	331.3± 9.4	447.1± 6.2	556.4± 2.9

Taula 4.1. Mitjana i desviació estàndard (±DE) del menjar consumit per rata (g/rata) dels diferents grups de tractament. Acumulat per setmanes.

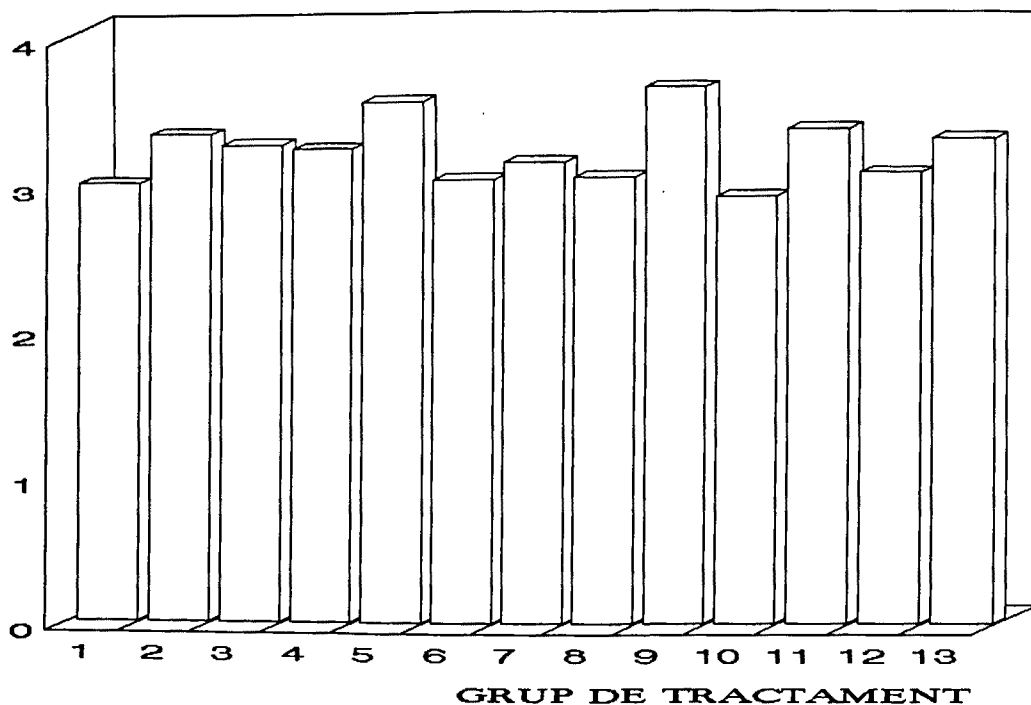


Figura 4.2. Mitjana de la raó de conversió d'aliments (g menj/g increment de pes) per rata durant el tractament

Grup de Tractament	Setm 1	Setm 2	Setm 3	Setm 4	Setm 5
1 Control	2.38±0.22	3.48±0.43	3.70±0.25	3.50±0.25	6.86±3.22
2 Dieta Cariogènica (DC)	2.28±0.30	2.84±0.47	4.34±0.46	7.19±1.48	7.99±2.23
3 DC-Fluor 10ppm	2.39±0.22	2.90±0.44	4.23±0.88	5.10±2.69	11.6±11.6
4 DC-Pilocarpina	2.24±0.28	2.81±0.39	4.01±0.62	5.77±2.97	9.55±6.26
5 DC-Fluor-Pilocarpina	2.54±0.13	3.19±0.05	5.28±0.26	3.26±0.00	1.42±22.2
6 DC-Clomipramina (Cl)	1.63±0.68	1.96±0.66	2.90±0.91	6.35±3.00	6.40±1.19
7-DC-Cl-Fluor 10	2.36±1.23	2.39±1.37	4.38±2.18	5.21±2.63	6.35±1.45
8-DC-Cl-Pilocarpina	1.74±0.57	1.90±0.68	3.15±0.71	5.39±2.41	5.82±0.91
9-DC-Cl-Fluor-Piloc	3.31±0.70	3.18±0.76	5.38±1.03	22.6±25.7	22.4±10.7
10-DC-Cl-Top H2O	1.93±1.25	2.32±1.80	3.45±1.03	5.01±4.19	8.00±2.82
11-DC-Cl-Top NaF	1.92±0.93	2.16±1.19	3.91±1.31	1.53±4.70	48.1±90.5
12-DC-Cl-Top NaF lip	2.17±0.73	2.00±1.25	3.77±1.63	10.7±8.85	9.34±4.44
13 DC-Cl-Top F+Ca lip	3.46±0.52	3.15±0.11	5.22±0.13	8.11±1.22	118.2±10.7

Taula 4.2. Mitjana (±DE) de la raó de conversió d'aliments (g de menjar/g de pes) en les cinc setmanes de tots els grups d'estudi.

En el consum de menjar al llarg de tot l'estudi, els grups de tractament no tenen homogeneïtat de variàncies (Levene test; $p < 0.0005$), per tant apliquem un test no paramètric (Kruskal-Wallis). Observem diferències estadísticament significatives ($p = 0.0003$) comparant el conjunt de tots els grups. Comparant els grups de dos en dos (U de Mann Whitney) existeix diferències ($p < 0.05$) entre els grups 2 i 6, 3 i 7, 4 i 8. Pertant la clomipramina fa disminuir el consum de menjar al llarg de l'estudi. No observem, però, diferències entre els grups 1 i 2 ($p = 0.083$).

En la raó de conversió d'aliments apliquem també els tests no paramètrics perquè els grups no tenen les variàncies homogènies (Levene test; $p < 0.0005$). No observem diferències estadísticament significatives ($p = 0.30$) comparant el conjunt dels grups (Kruskal-Wallis).

4.2. Consum de beguda

En la taula 4.3 representem la quantitat de beguda (ml) consumida per rata i acumulat per setmanes.

Els animals que han rebut tractament crònic amb clomipramina són els que han consumit menys beguda. Aquesta disminució s'observa uniformement en les cinc setmanes de tractament.

En la figura 4.3 observem el consum de beguda dels diferents grups d'estudi.

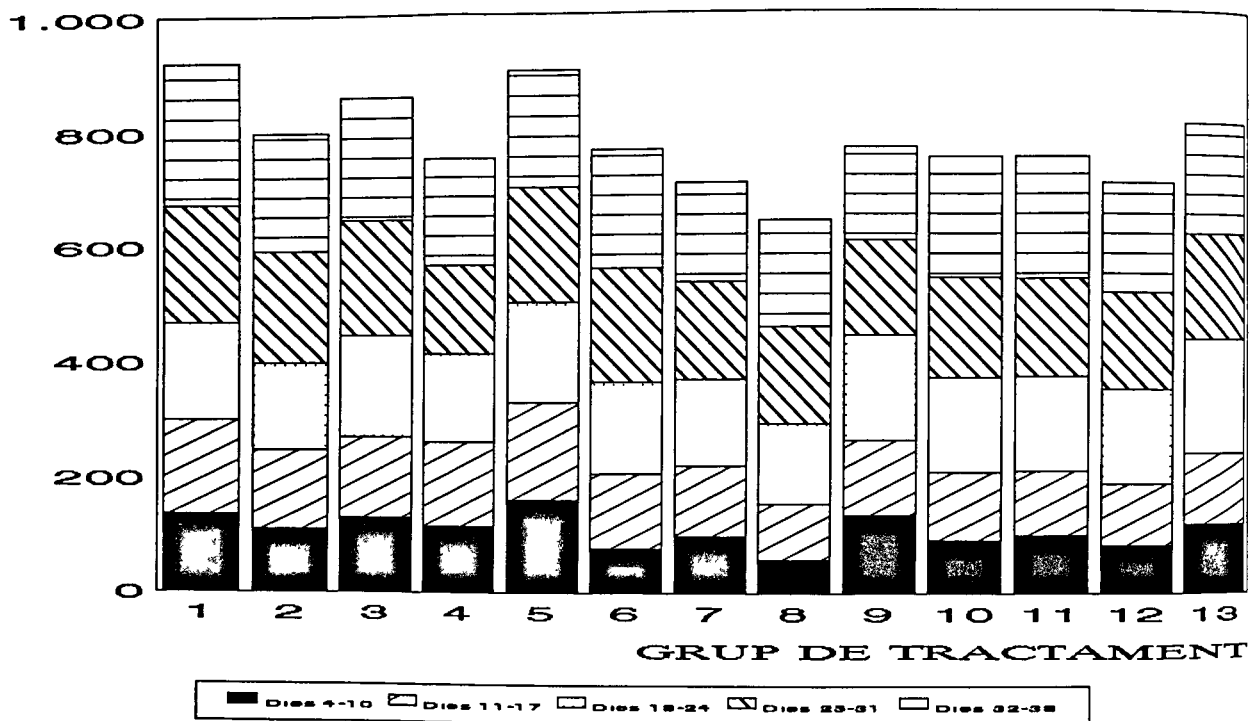


Figura 4.3. Mitjana del consum de beguda (ml) per rata durant el temps de tractament

Grup de Tractament	Setm 1	Setm 2	Setm 3	Setm 4	Setm 5
1 Control	137.9±14.7	299.7±15.6	469.6±38.1	674.8±68.0	919.6±90.4
2 Dieta Cariogènica (DC)	113.0±56.4	248.3±73.1	396.7±99.6	590.7± 122	799.7± 136
3 DC-Fluor 10ppm	133.3±61.5	270.5±99.0	444.0± 117	646.3± 137	859.8± 130
4 DC-Pilocarpina	116.0±46.8	262.3±58.6	411.8± 110	566.3± 154	754.0± 187
5 DC-Fluor-Pilocarpina	163.0±35.4	328.0±29.8	502.0±17.0	702.5±57.3	903.0±79.3
6 DC-Clomipramina (Cl)	79.2±19.2	208.4±52.4	363.7±74.6	559.2±96.0	767.6± 122
7-DC-Cl-Fluor 10	99.2±37.8	219.8±52.4	367.8±64.4	535.3±59.9	707.8±29.7
8-DC-Cl-Pilocarpina	58.0± 8.0	156.6±16.6	292.2±24.2	458.0±34.4	641.2±59.1
9-DC-Cl-Fluor-Piloc	136.5± 6.3	264.5±20.4	442.5±13.4	607.5±22.0	768.5± 107
10-DC-Cl-Top H2O	92.2±37.8	209.4±42.7	369.0±61.0	541.7±55.5	751.8±51.6
11-DC-Cl-Top NaF	102.9±39.7	211.1±39.5	372.3±64.9	539.8±78.2	727.0± 110
12-DC-Cl-Top NaF lip	84.3±28.7	190.4±38.5	349.4±53.5	515.3±32.5	713.3±33.1
13-DC-Cl-Top F-Ca lip	120.5± 2.1	242.4± 5.8	435.5±39.3	616.8±94.1	809.3± 161

Taula 4.3. Mitjana (±DE) de la beguda consumida per rata (ml/rata) dels diferents grups de tractament. Acumulat per setmanes.

En la taula 4.4 observem la quantitat de beguda (ml) consumida per kg de rata i per dia durant cada setmana de l'estudi. En la figura 4.4 representem la quantitat de beguda (ml) consumida per kg de rata i per dia durant tot l'estudi.

En el consum de beguda al llarg de tot l'estudi, els grups d'estudi no tenen homogeneïtat de variàncies (Levene test; $p < 0.0005$). No observem diferències estadísticament significatives ($p = 0.11$) en la comparació global de tots els grups d'estudi (Kruskal-Wallis).

En el consum de beguda en relació al pes, els grups d'estudi tampoc tenen homogeneïtat de variàncies ($p < 0.0005$). Tampoc observem diferències significatives ($p = 0.55$) comparant tots els grups d'estudi (Kruskal-Wallis).



UNIVERSITAT DE BARCELONA

Biblioteca

Àrea de Ciències de la Salut
CAMPUS DE BELLVITGE

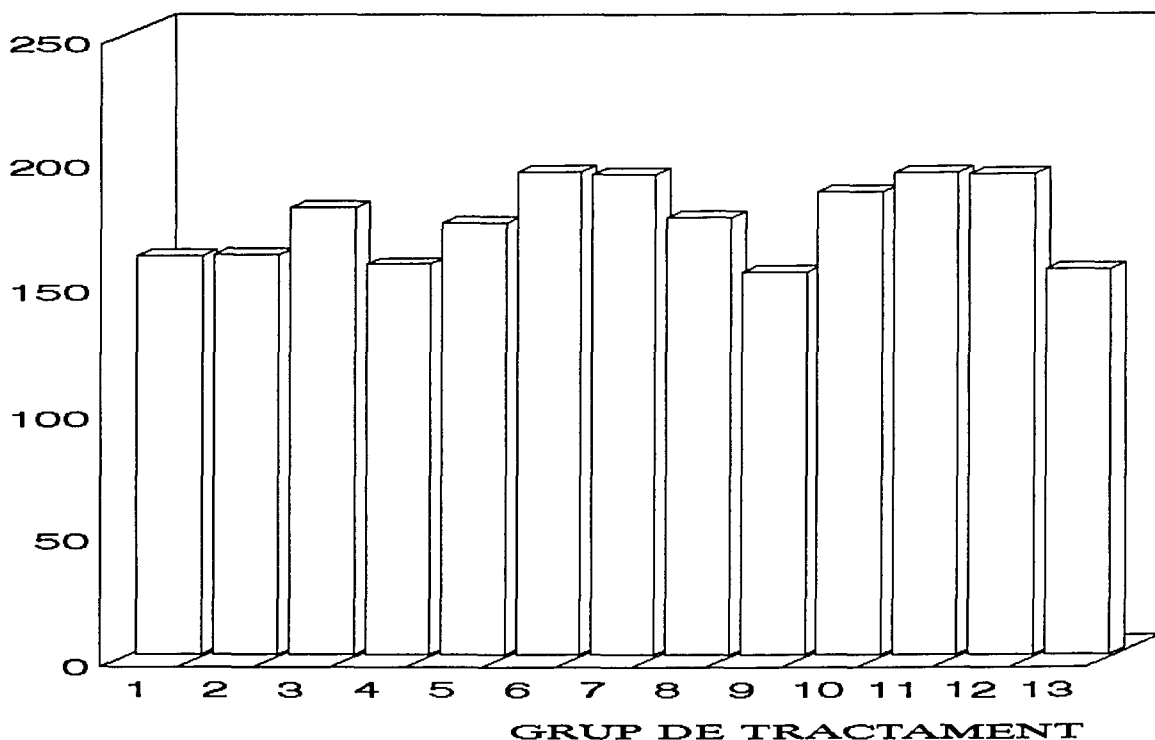


Figura 4.4. Mitjana del consum de beguda en relació al pes i per dia (ml/kg pes/dia) durant el temps tractament

Grup de Tractament	Setm 1	Setm 2	Setm 3	Setm 4	Setm 5
1 Control	213±40	171±12	140±22	139±24	136±10
2 Dieta Cariogènica (DC)	195±46	173±38	137±11	151±16	146±19
3 DC-Fluor 10ppm	237±56	176±15	169±15	163±10	150±28
4 DC-Pilocarpina	208±34	191±29	138±28	119±24	126± 8
5 DC-Fluor-Pilocarpina	249±33	187±25	152±27	152±16	126± 2
6 DC-Clomipramina (Cl)	211±46	219±40	190±24	182±11	165±18
7-DC-Cl-Fluor 10	224±15	212±44	197±37	177±29	151±43
8-DC-Cl-Pilocarpina	171±50	195±56	184±40	170±34	155±30
9-DC-Cl-Fluor-Piloc	206±14	151±13	163± 1	131±20	115±45
10-DC-Cl-Top H2O	202±18	193±61	195±39	169±56	168±54
11-DC-Cl-Top NaF	220±27	178±75	189±65	158±57	172±60
12-DC-Cl-Top NaF lip	184±21	188±60	200±48	169±74	165±66
13 DC-Cl-Top F+Ca lip	176± 1	143±13	173±35	140±40	138±47

Taula 4.4. Mitjana (±DE) del consum de beguda per kg de rata i per dia (ml/kg/dia) en les 5 setmanes.

4.3. Augment de pes

L'augment de pes que han experimentat les rates durant els 42 dies de l'estudi es mostra en la taula 4.5 i figura 4.5. El grup que s'ha alimentat amb dieta normal és el que ha augmentat més pes, i els grups tractats amb clomipramina són els que menys han incrementat el seu pes.

Observem en la figura 4.5 la representació gràfica de l'increment de pes per cada grup de tractament.

La figura 4.6 representa la mitjana del pes dels animals dels diferents grups en cada setmana de tractament.

L'augment de pes de les rates durant tot l'estudi segueix una distribució normal però les variàncies dels diferents grups no són homogènies ($p < 0.001$). Pertant apliquem un test no paramètric (Kruskal-Wallis) per a comparar els grups. Hem observat que existeixen diferències significatives ($p < 0.00005$). Per a comparar els grups dos a dos utilitzem el test de Mann-Whitney i hem trobat diferències significatives entre els grups 1 i 2 ($p = 0.00005$), 2 i 6 ($p = 0.014$), 6 i 7 ($p = 0.0003$), 6 i 9 ($p = 0.013$), 10 i 12 ($p = 0.016$).

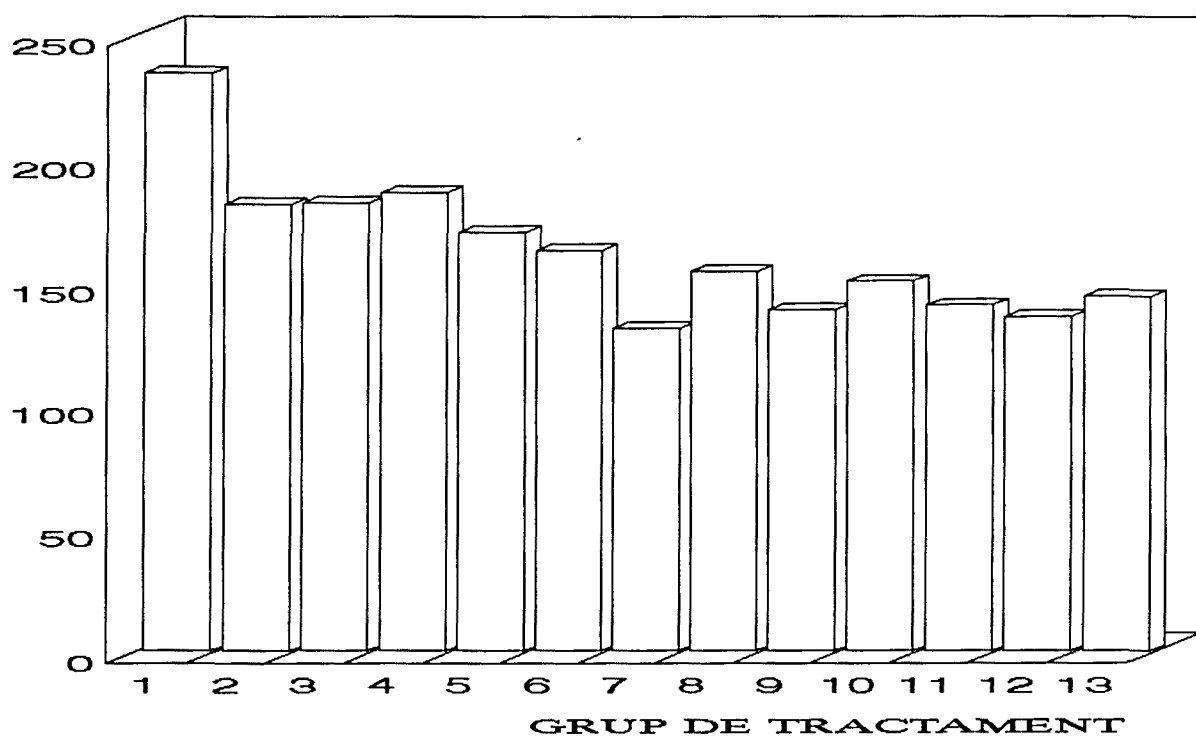


Figura 4.5. Mitjana de l'augment de pes (g) de les rates durant el temps de tractament

Grup de Tractament	Mitjana del pes (g) ± DE
G1 Control	234.58 ± 31.98
G2 Sucre-Control	181.09 ± 23.19
G3 DC-Fluor 10ppm	181.63 ± 11.93
G4 DC-Pilocarpina	185.77 ± 16.46
G5 DC-Fluor-Pilocarpina	170.06 ± 23.26
G6 DC-Clomipramina	162.60 ± 19.24
G7-DC-Clo-Fluor 10	131.38 ± 25.83
G8-DC-Clo-Pilocarpina	154.40 ± 15.87
G9-DC-Clo-Fluor-Piloc	139.19 ± 28.60
G10-DC-Clo-Top H2O	150.63 ± 18.98
G11-DC-Clo-Top NaF	140.79 ± 30.16
G12-DC-Clo-Top NaF lip	135.82 ± 17.42
G13-DC-Clo-Top NaF + Ca lip	144.07 ± 22.79

Taula 4.5. Mitjana (±DE) de l'augment de pes (g) durant tot l'estudi.

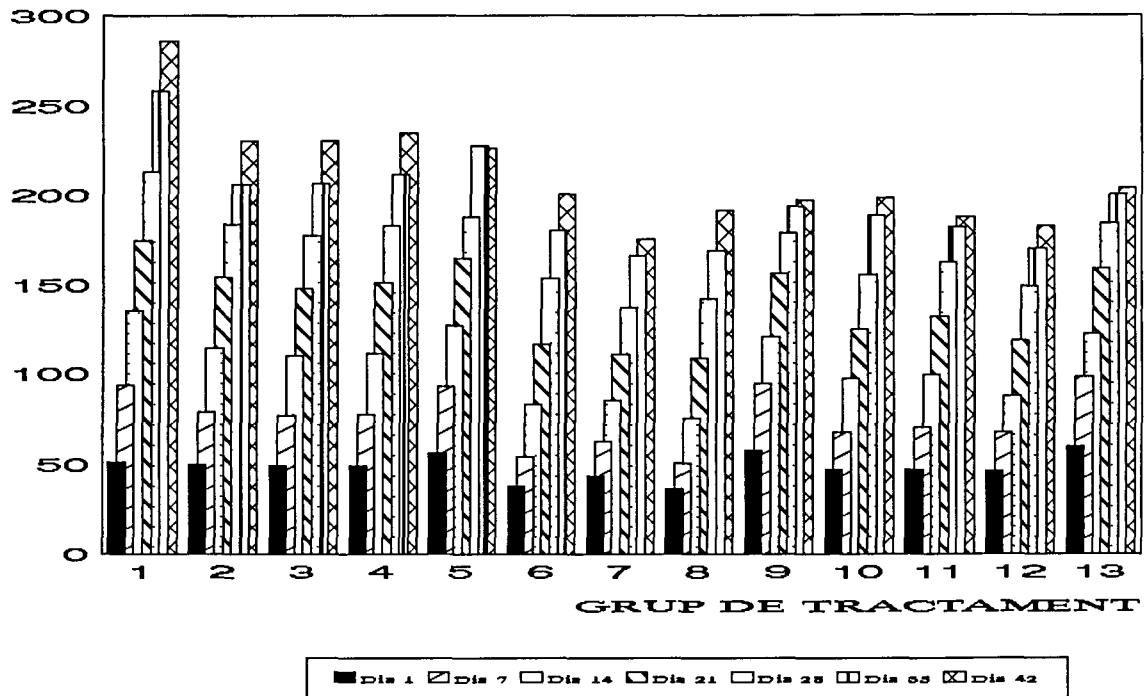


Figura 4.6. Mitjana del pes (g) dels animals en cada setmana del tractament

4.4. Flux salival estimulat

Un cop anestesiades les rates amb uretà, hem administrat pilocarpina (10mg/kg) per via intraperitoneal per a estimular la secreció. En la taula 4.6 presentem la mitjana i la desviació estàndar del flux salival estimulat (ml/15min.) dels grups d'estudi. En la figura 4.7 observem la distribució del flux salival estimulat en els diferents grups d'estudi.

Els diferents grups no tenen homogeneïtat de variàncies (Levene test, $p < 0.0005$). En la comparació dels grups observem diferències significatives (Kruskal-Wallis, $p = 0.01$). Comparant dos a dos els diferents grups només hem trobat diferències entre els grups 2 i 5 (Mann Whitney, $p = 0.03$).

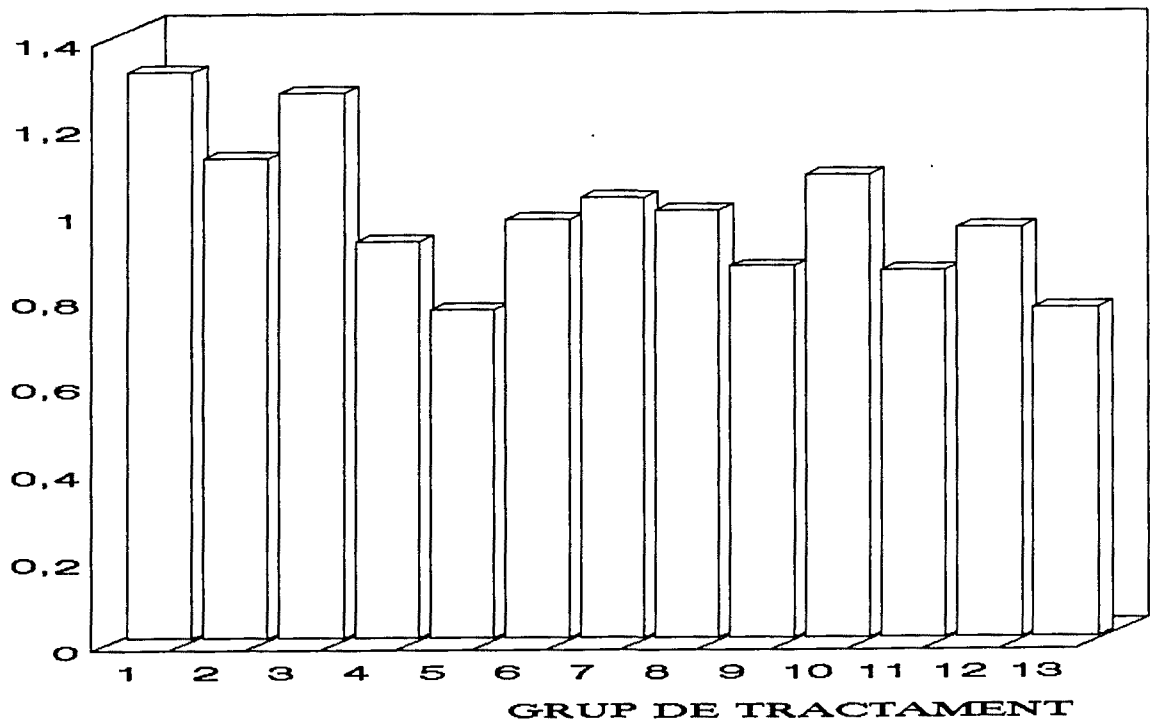


Figura 4.7. Mitjana del flux salival estimulat (ml/15 min) per rata

Grup de Tractament	Flux salival \pm DS
1 Control	1.31 \pm 0.22
2 Dieta Cariogènica (DC)	1.11 \pm 0.32
3 DC-Fluor 10ppm	1.26 \pm 0.35
4 DC-Pilocarpina	0.92 \pm 0.35
5 DC-Fluor-Pilocarpina	0.76 \pm 0.33
6 DC-Clomipramina (Cl)	0.97 \pm 0.36
7-DC-Cl-Fluor 10	1.02 \pm 0.34
8-DC-Cl-Pilocarpina	0.99 \pm 0.30
9-DC-Cl-Fluor-Piloc	0.86 \pm 0.47
10-DC-Cl-Top H2O	1.07 \pm 0.36
11-DC-Cl-Top NaF	0.85 \pm 0.53
12-DC-Cl-Top NaF lip	0.95 \pm 0.56
13-DC-Cl-Top NaF+Ca lip	0.76 \pm 0.27

Taula 4.6. Mitjana (\pm DE) del flux salival estimulat (ml/15min.) dels diferents grups d'estudi.

4.5. Concentració de fluor en saliva

En la taula 4.7 observem la mitjana de la concentració de fluor en saliva dels grups. Els grups que tenen una concentració més elevada són els tractats amb clomipramina i/o fluor. Els que tenen una concentració més baixa són els tractats crònicament amb pilocarpina (5mg/kg). En la figura 4.8 representem la distribució de la concentració de fluor (ppm) en saliva dels diferents grups d'estudi.

Els diferents grups d'estudi no tenen homogeneïtat de variàncies en la concentració de fluor en saliva. Observem diferències estadísticament significatives (Kruskal Wallis, $p < 0.00005$) en la comparació global de tots els grups. Les principals diferències les trobem entre els grups 2 i 3 (Mann Whitney, $p = 0.0007$) i entre els grups 2 i 4 ($p = 0.004$).

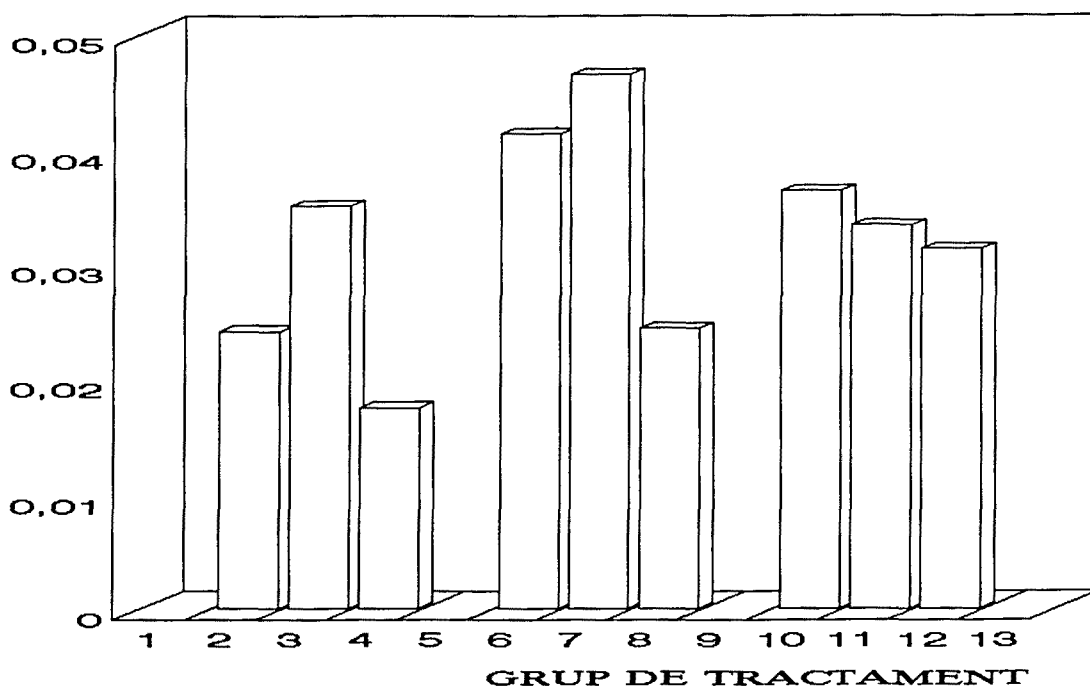


Figura 4.8. Mitjana de la concentració de fluor (ppm) en saliva per rata

Grup de Tractament	Fluor en saliva \pm DS
1 Control	
2 Dieta Cariogènica (DC)	23.98 \pm 4.64
3 DC-Fluor 10ppm	35.08 \pm 5.38
4 DC-Pilocarpina	17.38 \pm 1.72
5 DC-Fluor-Pilocarpina	
6 DC-Clomipramina (Cl)	41.34 \pm 38.06
7-DC-Cl-Fluor 10	46.40 \pm 15.32
8-DC-Cl-Pilocarpina	24.31 \pm 16.19
9-DC-Cl-Fluor-Piloc	
10-DC-Cl-Top H2O	36.42 \pm 17.23
11-DC-Cl-Top NaF	33.34 \pm 4.22
12-DC-Cl-Top NaF lip	31.23 \pm 4.88
13-DC-Cl-Top NaF + Ca lip	

Taula 4.7. Mitjana (\pm DE) de la concentració de fluor (10^{-9} g de F/ml) en saliva dels diferents grups d'estudi.