

## Aspetti microstrutturali della dentina nella fluorosi grave

S. Arienti, G. Lomurno, G. Urbani, S. Eramo

Università degli Studi di Perugia – Corso di Laurea Specialistica in Odontoiatria e Protesi Dentaria  
Direttore: prof. G. Urbani – Cattedra di Odontoiatria Conservativa – Titolare: prof. S. Eramo

### 1. Introduzione

Gli ioni fluoro ( $F^-$ ) giocano un ruolo chiave nel controllo della carie se assunti durante la formazione dei denti. Considerando, però, che il fluoro, in dosi elevate, può causare un effetto tossico sia a livello dentale sia a livello scheletrico e sistemico, i

meccanismi d'azione degli  $F^-$  sono ancora oggetto di discussione, specialmente per quanto riguarda la fluorosi, per la quale sono state proposte varie teorie (1). Il fluoro è ben conosciuto per la sua capacità di regolare la formazione di cristalli di fosfato di calcio (2): gli ioni  $F^-$  si sostituiscono in una colonna di  $OH^-$

nella struttura dell'apatite, dando luogo a una riduzione del volume del cristallo, che si compatta, e contribuiscono ad aumentare la stabilità chimica della struttura poiché la fluoroapatite è più compatta dell'idrossiapatite (3). Durante la mineralizzazione del dente, si formano prima cristalli di ottacalciofosfato (OCP), che

### Riassunto

**OBIETTIVI.** Benché il fluoruro possa favorire un corretto sviluppo dello smalto, un suo eccesso può essere causa di fluorosi dentale attraverso meccanismi ancora poco conosciuti. Poiché è stato recentemente provato, con mezzi biochimici, che la dentina partecipa al processo fluorotico assieme allo smalto sovrastante, in questo lavoro abbiamo esaminato al microscopio elettronico a scansione (SEM) le alterazioni di smalto e sottostante dentina in denti fortemente fluorotici. Scopo del lavoro è l'identificazione di alterazioni dentinali in corrispondenza dello smalto fluorotico. **MATERIALI E METODI.** Sei elementi con fluorosi grave (grado "severo" della classificazione di Dean) sono stati fratturati e sono state osservate le micro-morfologie di smalto e dentina sia a livello delle chiazze fluorotiche sia a livello dello smalto visivamente "normale". **RISULTATI.** Mentre le immagini ultramicroscopiche a livello delle chiazze fluorotiche mostravano sia smalto

malformato sia oblitterazioni dei tubuli dentinali, a livello delle porzioni clinicamente normali non si manifestavano alterazioni evidenti della micromorfologia della dentina. **CONCLUSIONI.** Le nostre osservazioni sono in accordo con quanto affermato nella letteratura più recente circa la presenza di alterazioni della dentina (costituite dall'oblitterazione sclerotica dei tubuli) in denti fluorotici; esse si manifestano, però, solo nel tessuto dentinale sottostante le zone smaltee che presentano chiazze fluorotiche.

**Parole chiave** [odontoconsult.it](http://odontoconsult.it)

Dentina  
Fluorosi  
Smalto  
Alterazioni dentinali  
Oblitterazione dei tubuli

**Abstract****Microstructural dental findings in severe fluorosis**

**OBJECTIVES.** Although fluoride is important for the healthy development of enamel tissue, its excess may produce dental fluorosis through still unknown mechanisms. Biochemical evidence suggests the participation of the underlying dentin to enamel fluorosis: in this paper, we examine the micromorphology of fluorotic dental tissues by SEM. The aim of the work is the identification of dental alterations corresponding to fluorotic plaques. **MATERIALS AND METHODS.** Six teeth affected by fluorosis (scored "severe" according to 1942 Dean's classification) are fractured and their microstructures observed by SEM. **RESULTS.** The microscopic images of enamel corresponding to fluorotic plates show important underlying dentinal modifications, consisting of marked tubular obliteration. On the contrary,

the dentin lying beneath the "apparently normal" enamel does not show micromorphological alterations. **CONCLUSIONS.** Our data agree with recently reported findings on dental alterations in severe fluorosis and show that the tubular obliteration occurs only in the dentin underneath clinically altered enamel.

**Key words**

Dentine  
Fluorosis  
Enamel  
Dental alteration  
Tubular obliteration

costituiscono la base strutturale su cui l'idrossiapatite si forma in maniera ottimale, per idrolisi del precedente stampo. Il F<sup>-</sup> contribuisce a questo processo in quanto accelera la conversione di OCP in apatite (dato che l'OCP idrolizza facilmente in presenza di F<sup>-</sup>), il che favorisce la formazione del cristallo finale. Il fluoruro richiesto per questo processo varia all'incirca da 0,05 a 0,04 parti per milione (4).

D'altronde, a fronte dei ruoli fisiologici necessari per la corretta formazione dello smalto, eccessi di F<sup>-</sup> durante l'amelogenesi possono essere causa di fluorosi dentale. È stato riportato in letteratura che gli ioni F<sup>-</sup> impedirebbero la rimozione dell'amelogenina (matrice dello smalto) da parte delle proteasi calcio-dipendenti (5) e ostacolerebbero la sintesi di alcune proteine (6); non esiste, però, una prova diretta che il fluoruro a livelli micromolari abbia effetto sulla proliferazione e la differenziazione delle cellule dello smalto e non sembra che lo ione possa esercitare effetti sulle proteine della matrice dello smalto. Probabilmente, il F<sup>-</sup> interferisce indirettamente con l'attività delle protea-

si, facendo diminuire la concentrazione di Ca<sup>2+</sup>. Qualsiasi interferenza con la rimozione della matrice dello smalto può produrre un ritardo nell'apposizione dei cristalli nelle fasi di maturazione; ciò determina la formazione di uno smalto poroso durante l'eruzione del dente; l'entità della porosità è legata alla gravità della patologia.

La formazione dello smalto, infatti, è un meccanismo complesso che coinvolge la proliferazione delle cellule e la differenziazione delle stesse per mezzo di interazioni sequenziali epiteliomesenchimali, secrezione di matrice tessuto-specifica, trasporto di ioni come Ca<sup>2+</sup> e F<sup>-</sup> e precipitazione e allineamento di cristalli dello smalto per mezzo di interazioni multiple tra molecole organiche e inorganiche. Le amelogenine sono il principale prodotto genico dell'ameloblasta e comprendono più del 90% delle proteine secrete da questo tipo di cellula. Il loro compito è depositare lo smalto, ma devono essere rimosse subito dopo per renderlo compatto e stabile. Quando il processo di rimozione delle amelogenine è compromesso da un eccesso di F<sup>-</sup>, rima-

ne un gap tra cristallo e cristallo, anche se il numero e l'orientamento dei cristalli sono normali. L'importanza delle amelogenine è stata verificata in molti studi.

La letteratura indica che le proteine extracellulari dello smalto sono degradate da molte proteasi presenti all'interno dello smalto in momenti precisi dello sviluppo. Studi recenti, effettuati tramite ricombinazione genica, hanno evidenziato due gruppi di proteasi dello smalto: MMP-20 (metalloproteasi secrete durante lo sviluppo dei processi di Tomes) e EMSP1 (una serina-proteasi) (7). Proprio quest'ultima sembra avere un ruolo fondamentale nella degradazione delle proteine della matrice dello smalto durante la transizione e la maturazione delle stesse (8). La degradazione enzimatica delle amelogenine, come pure quella di altre proteine della matrice, avviene subito dopo la loro secrezione, per cui i prodotti di questo clivaggio enzimatico rimangono stabili. Ciò permette la loro ulteriore degradazione, anche dopo la cessazione della produzione della matrice dello smalto; pertanto lo smalto, tramite i processi descritti, acquisisce un alto

grado di mineralizzazione prima dell'eruzione del dente.

In questo senso, è ragionevole considerare che lo smalto possa essere vulnerabile agli effetti del fluoruro libero durante tutto il periodo dell'amelogenesi, piuttosto che in uno specifico periodo. Quando l'amelogenina non è rimossa in tempo, lo smalto, a livello clinico, appare bianco-gessoso, con strie bianche attraverso le perichimazie; l'aspetto è bianco sfaldato e manca di un bordo pulito con smalto inalterato. Il microscopio elettronico conferma che la disposizione dei cristalli dello smalto è normale, ma che gli spazi intercristallini sono aumentati, confermando la tesi dell'amelogenina in situ. Inoltre, studi recenti hanno dimostrato che i denti che presentano un maggior rischio di fluorosi sono gli incisivi centrali superiori e che la sensibilità a piccoli cambi di percentuale di F<sup>-</sup> nell'acqua è maggiore all'età di 1-2 anni (9). Sebbene i meccanismi capaci di generare fluorosi a livello dello smalto siano parzialmente noti,

poche notizie si trovano in letteratura circa l'eventuale partecipazione della sottostante dentina al fenomeno. Sino a pochi anni fa si riteneva che gli effetti sulla dentina fossero riscontrabili solo a concentrazioni molto più alte di quelle richieste per la fluorosi smaltica (10) e che le conseguenze consistessero essenzialmente in ipomineralizzazioni (11) legate soprattutto all'effetto del fluoro sui glicosilamminoglicani (GAG) (12) o sulle fosfoproteine dentinali (13,14).

Invece, più recentemente, Rojas-Sánchez et al. (15) hanno evidenziato che, nelle forme gravi di fluorosi, può essere presente un'ipermineralizzazione della dentina e ciò potrebbe costituire un biomarker dell'esposizione al fluoruro. In base alle suddette considerazioni abbiamo condotto un'osservazione al microscopio elettronico a scansione (SEM) su elementi gravemente fluorotici, per osservare se, al di sotto dello smalto fluorotico, si evidenziasse alterazioni dentinali di tipo ipo o ipermineralizzante.

## 2. Materiali e metodi

I materiali di osservazione sono stati sei elementi dentali anteriori con fluorosi grave, classificabile di grado "severo" secondo Dean (16) (tabella I), perduti per ragioni parodontali da quattro pazienti (tre maschi di 73, 78 e 84 anni e una femmina di 67 anni).

Gli elementi, cui è stata resecata la radice, sono stati ricoperti di uno strato atomico di oro e le loro superfici vestibolari sono state osservate al SEM (Philips XL 30, Eindhoven, Olanda) a ingrandimenti variabili. Successivamente, le corone sono state fratturate seguendo una linea che passava attraverso la porzione centrale delle principali chiazze nere o opache presenti, ma che interessava anche il rimanente smalto "apparentemente normale"; dopo la rinnovata ricopertura dei campioni ottenuti con strato d'oro, sono state osservate al SEM le micromorfologie in sezione dello smalto (differenziato in "apparentemente normale" e "chiazato") e della

**Tabella I** Casistica

Grado	Criteri
Normale	Lo smalto presenta l'usuale tipo di struttura, traslucida e semivetriforme. La superficie è liscia, vetrosa e usualmente di un pallido colore bianco crema
Dubbio	Lo smalto manifesta ridotte aberrazioni della normale traslucenza, che vanno da pochi sfioccamenti bianchi a macchie bianche occasionali. Questo grado è utilizzato quando non è garantita una diagnosi definita "Molto lieve" e una diagnosi "Normale" non è giustificata
Molto lieve	Piccole aree opache, color bianco carta, distribuite irregolarmente sul dente ma che non coinvolgono più del 25% della superficie del dente. Frequentemente inclusi in questa classificazione sono i denti che mostrano soltanto 1-2 mm circa di opacità bianca a partire dalla sommità delle cuspidi di premolari e secondi molari
Lieve	Le aree bianche opache nello smalto del dente sono più estese ma non coinvolgono più del 50% del dente
Moderato	Tutte le superfici smaltate del dente sono interessate e le superfici esposte ad attrito manifestano abrasione. Macchie brune antiestetiche sono di frequente riscontro
Grave	Include denti prima classificati di grado "Moderatamente severo e severo". Tutte le superfici smaltate sono interessate e l'ipoplasia è così marcata che la stessa forma generale del dente può esserne segnata. Il maggiore segno diagnostico di questo grado è la picchiettatura discreta o confluenta. Macchie scure sono diffuse e i denti spesso presentano un'apparenza similcorrosa

Fonte: Dean HT. The investigation of physiological effects by the epidemiological method. In: Moulton FR (ed). Washington, DC: AAS, 1942:23-31.

dentina sottostante. Nella *fig. 1* è esemplificata la modalità della suddetta procedura.

### 3. Risultati

Sono state ottenute numerose immagini al SEM, sia di superficie sia in sezione, di cui riportiamo una serie esemplificativa degli aspetti costantemente riscontrati.

La *fig. 2* mostra l'aspetto della superficie di una delle chiazze fluorotiche considerate. Si noti come la chiazza appaia come

una superficie concava dal fondo del tutto irregolare e attraversata da fratture.

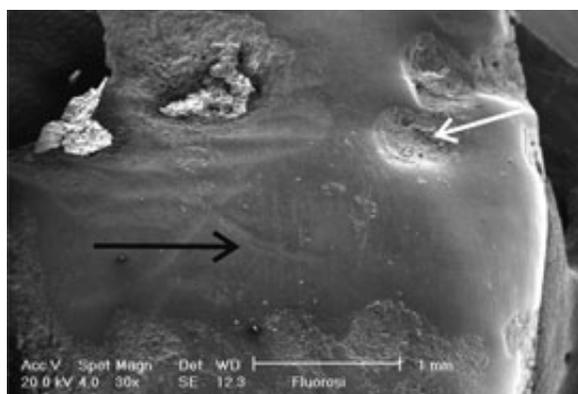
La *fig. 3* mostra un particolare della precedente, che inquadra il punto di confine tra smalto chiazato e smalto apparentemente sano. Si possono notare, a questo ingrandimento, le profonde fratture parcellari che interessano lo smalto della chiazza.

L'immagine della *fig. 4* mostra una delle chiazze fluorotiche smaltee in sezione. Si può osservare la perdita anarchica della classica morfologia prismatica

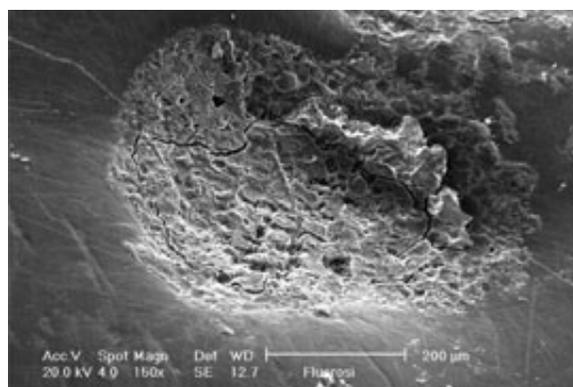
dello smalto, che appare come sfaldato in piani paralleli alla superficie.

La *fig. 5* mostra lo smalto fluorotico "apparentemente normale" in sezione trasversa. In alto a destra si può osservare la superficie smaltea che appare di tessitura nella norma, salvo una diffusa micropicchiatura. L'impalcatura prismatica è mantenuta, anche se appare più irregolare rispetto alla norma.

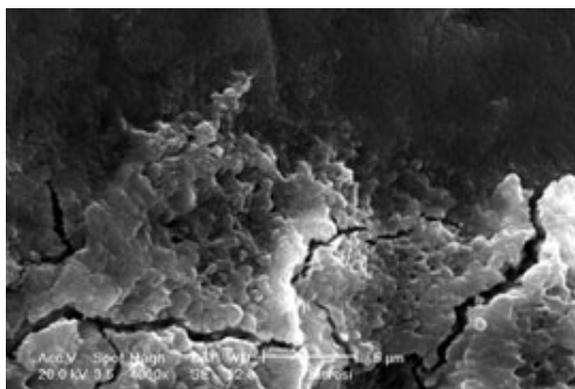
Nell'immagine della *fig. 6* è stata inquadrata, in sezione, la dentina sottostante a una delle chiazze fluorotiche smaltee. È molto



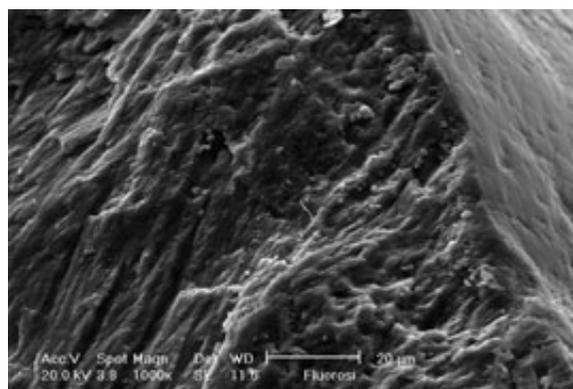
**Fig. 1** È visibile una larga parte della superficie vestibolare di un incisivo centrale inferiore con evidenti chiazze fluorotiche. La freccia bianca indica la zona in cui è stata osservata in sezione la micromorfologia dello smalto chiazato e della dentina sottostante, la freccia nera indica la zona in cui è stata osservata in sezione la micromorfologia dello smalto "apparentemente normale" (30x)



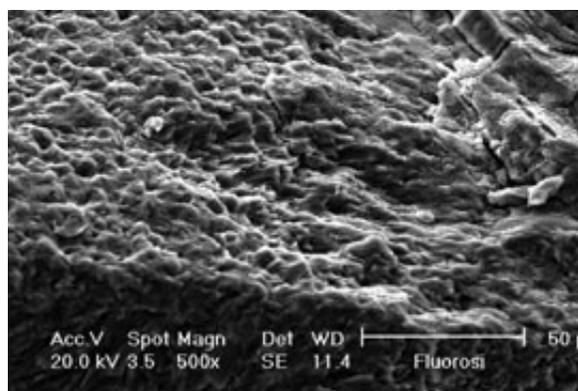
**Fig. 2** Chiazza fluorotica in superficie (150x)



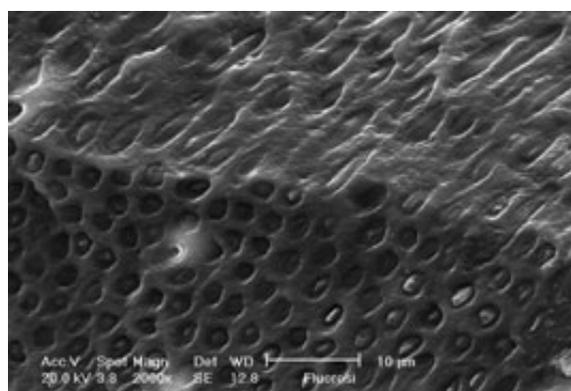
**Fig. 3** Ingrandimento della *fig. 2* (4000x)



**Fig. 4** Chiazza fluorotica in sezione (1000x)



**Fig. 5** Smalto non chiazato in sezione (500x)



**Fig. 6** Dentina sotto lo smalto chiazato (2000x)

evidente la sclerosi tubulare che ha portato alla completa oblitterazione dei lumi tubulari, da molti dei quali fuoriescono anche *sclerotic casts*.

Nell'immagine della *fig. 7* si può osservare la dentina sottostante lo smalto fluorotico "apparentemente normale", vista in sezione. I lumi tubulari appaiono pervi, benché si noti anche un certo grado di sclerosi (presente del resto in tutti i campioni): sul rapporto tra quest'ultimo aspetto e la fluorosi non è possibile trarre conclusioni definitive, perché tutti gli elementi provenivano da pazienti in età avanzata, in cui esiste un inevitabile grado di sclerosi fisiologica.

È dunque possibile affermare, in base all'osservazione delle immagini al SEM (e come ci si attendeva dalle acquisizioni della letteratura), che lo smalto del dente fluorotico appare gravemente compromesso in corrispondenza delle chiazze fluorotiche, che manifesta ipoplasia e perdita di compattezza, mentre non presenta alterazioni micromorfologiche particolarmente evidenti in corrispondenza delle zone non chiazate.

Per quanto riguarda la dentina (considerata, ricordiamolo, negli stessi elementi a pochi millimetri di distanza):

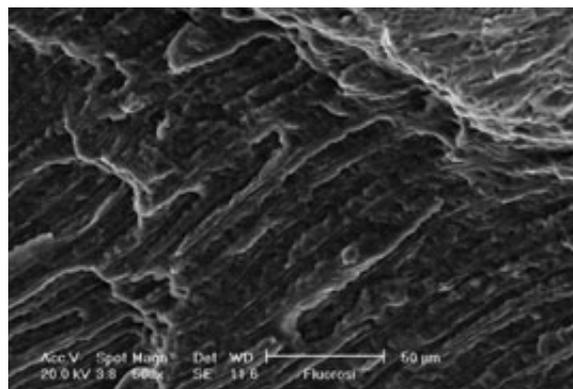
- quella sottesa allo smalto "normale" appare regolare con tubuli pervi seppur ristretti (a tale proposito va considerata anche l'età dei pazienti da cui sono stati ottenuti gli elementi);
- quella sottostante le chiazze fluorotiche mostra un'evidente sclerosi con oblitterazione completa dei tubuli dentinali e presenza di *sclerotic casts*.

#### 4. Conclusioni

È stata osservata un'oblitterazione totale dei tubuli della dentina sottostante le chiazze fluorotiche dello smalto e, quindi, una loro probabile implicazione nel processo fluorotico; tale alterazione micromorfologica non si manifesta nello stesso dente, a brevissima distanza, ma sotto smalto "ap-

parentemente normale". In questo senso, i nostri dati sembrano parzialmente in accordo con quelli istochimici di Rojas-Sánchez et al. (15) che riportano un'ipermineralizzazione della dentina in corrispondenza dello smalto fluorotico, ma sembrano limitare l'estensione dell'alterazione dentinale alle sole zone in cui anche lo smalto appare clinicamente danneggiato.

In linea ipotetica, si può pensare che le chiazze smalttee siano l'epifenomeno di danni focali allo strato adamantoblastico, durante la formazione dello smalto, tanto potenti da riverberarsi sulla sottostante dentina in formazione. Il meccanismo responsabile della sclerosi dentinale e i caratteri micromorfologici di tale sclerosi fluorotica necessitano, però, di ulteriori indagini, dato che la let-



**Fig. 7** Dentina sotto lo smalto non chiazato (500x)

teratura prevalente (anche se più datata) propende per la presenza di ipomineralizzazioni (e non di ipermineralizzazioni) dentinali nei casi di fluorosi.

### Conflitto di interessi

Gli autori dichiarano di essere esenti da conflitto di interessi.

### Bibliografia

1. Chen H, Czajka-Jakubowska A, Spencer NJ, Mansfield JF, Robinson C, Clarkson BH. Effects of systemic fluoride and in vitro fluoride treatment on enamel crystals. *J Dent Res* 2006; 85(11):1042-5.
2. Aoba T, Fejerskov O. Dental fluorosis: chemistry and biology. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13(2):155-70.
3. Moreno EC, Kresak M, Zahradnik RT. Fluoridated hydroxyapatite solubility and caries formation. *Nature* 1974; 247(5435):64-5.
4. Mura-Galelli MJ, Voegel JC, Behr S, Bres EF, Schaaf P. Adsorption/desorption of human serum albumin on hydroxyapatite: a critical analysis of the Langmuir model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88(13):5557-61.
5. Xu H, Zhou YL, Zhang JM, Liu H, Jing L, Li GS. Effects of fluoride on the intracellular free  $Ca^{2+}$  and  $Ca^{2+}$ -ATPase of kidney. *Biol Trace Elem Res* 2007; 116(3):279-88.
6. Kubota K, Lee DH, Tsuchiya M, et al. Fluoride induces endoplasmic reticulum stress in ameloblasts responsible for dental enamel formation. *J Biol Chem* 2005;280(24):23194-202.
7. Bartlett JD, Simmer JP. Proteinases in developing dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999;10(4):425-41.
8. Li L. The biochemistry and physiology of metallic fluoride: action, mechanism, and implications. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14(2):100-14.
9. Burt BA, Keels MA, Heller KE. The effects of a break in water fluoridation on the development of dental caries and fluorosis. *J Dent Res* 2000; 79(2): 761-9.
10. Robinson C, Connell S, Kirkham J, Brookes SJ, Shore RC, Smith AM. The effect of fluoride on the developing tooth. *Caries Res* 2004;38(3):268-76.
11. Fejerskov O, Yaeger JA, Thylstrup A. Microradiography of the effect of acute and chronic administration of fluoride on human and rat dentine and enamel. *Arch Oral Biol* 1979; 24(2):123-30.
12. Hall RC, Embury G, Waddington RJ. Modification of the proteoglycans of rat incisor dentin-predentin during in vivo fluorosis. *Eur J Oral Sci* 1996; 104(3):285-91.
13. Milan AM, Waddington RJ, Embury G. Altered phosphorylation of rat dentine phosphoproteins by fluoride in vivo. *Calcif Tissue Int* 1999;64(3):234-8.
14. Milan AM, Waddington RJ, Embury G. Fluoride alters casein kinase II and alkaline phosphatase activity in vitro with potential implications for dentine mineralization. *Arch Oral Biol* 2001;46(4):343-51.
15. Rojas-Sánchez F, Alaminos M, Campos A, Rivera H, Sánchez-Quevedo MC. Dentin in severe fluorosis: a quantitative histochemical study. *J Dent Res* 2007;86(9):857-61.
16. Dean HT. The investigation of physiological effects by the epidemiological method. In: Moulton FR (ed). *Fluorine and Dental Health*. Washington, DC: American Association for the Advancement of Science, 1942:23-31.

*Pervenuto in redazione  
nel mese di agosto 2008*

Simona Arienti  
via Arcadia 76  
06100 Perugia  
sgamonas@hotmail.com