

University of Groningen

Oral health benefits of chewing gum

Wessel, Stefan

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2016

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Wessel, S. (2016). *Oral health benefits of chewing gum*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

De vorming van een orale biofilm, ofwel tandplak, is de oorzaak van de meeste orale ziekten, waaronder cariës, gingivitis en parodontitis. Om deze ziekten te voorkomen is het noodzakelijk om de biofilm dagelijks te verwijderen. Traditionele mondverzorgingsproducten zijn de tandenborstel, mondspoelmiddelen, tandenstokers en flosdraad. Maar sinds de jaren 70 heeft ook kauwgom zich ontwikkeld van snoepgoed tot een mondverzorgingsproduct. De voornaamste orale gezondheidsvoordelen van het kauwen van suikervrije kauwgom centreren zich rond de stimulatie van de speekselvloed door de kauwbeweging, tevens worden er ook verscheidene ingrediënten toegevoegd aan kauwgom met als doel om de gezondheidsvoordelen verder uit te breiden.

In **hoofdstuk 1** stellen we als doel van dit proefschrift om nieuwe mogelijkheden te ontdekken om de orale gezondheidsvoordelen van kauwgom verder uit te breiden.

Hiertoe bespreken we allereerst in **hoofdstuk 2** het huidige bewijs voor de gezondheidsvoordelen van kauwgom, met de nadruk op het identificeren van toegevoegde ingrediënten die preventie van de vorming en verwijdering van orale biofilm moeten vergemakkelijken. Hierin werd gevonden dat het kauwen van suikervrije kauwgom voordelen oplevert met betrekking tot het verwijderen van voedselresten tussen de tanden, vermindering van een droge mond en de hoeveelheid biofilm op de kauwvlakken van de tanden. Deze “basiseffecten” kunnen worden toegeschreven aan de kauwbeweging en de gestimuleerde speekselvloed. Het doel van toegevoegde ingrediënten aan kauwgom is om deze voordelen uit te breiden tot het voorkomen van extrinsieke tandverkleuring en tandsteenvorming, stimulatie van de remineralisatie van tandglazuur, reductie van het aantal bacteriën in speeksel en de hoeveelheid orale biofilm, neutralisatie van de pH in de biofilm en tot slot een reductie van vluchtige zwavelverbindingen, die geassocieerd zijn met een slechte adem. Echter, de klinische voordelen van deze ingrediënten zijn vaak moeilijk te bewijzen, aangezien de effecten gemakkelijk overschaduw worden door de “basiseffecten” van kauwen en bovendien het dagelijks gebruik van kauwgom op een langere termijn vereisen. Daarom concluderen we dat het dagelijks kauwen van suikervrije kauwgom zeker gezondheidsvoordelen voor de mond kan opleveren, maar dat de effecten van toegevoegde ingrediënten moeilijk te bewijzen zijn naast de “basiseffecten” van kauwen.

Het dagelijks gebruik van kauwgom met twee verschillende toegevoegde ingrediënten; extract van de schors van de *Magnolia officinalis* plant (MBE) en natriumhexametafosfaat (SHMP), werd geëvalueerd in **hoofdstuk 3**. Het kauwen van de kauwgom werd geëvalueerd over een langere tijdsperiode waarbij gekeken is naar zowel het totaal aantal bacteriën in de orale biofilm als de samenstelling van de biofilm. Hiertoe werden er monsters genomen van de orale biofilm bij tien gezonde vrijwilligers die vier

weken lang, drie maal daags, kauwgom kauwden met en zonder toegevoegde ingrediënten. Vervolgens werd het totaal aantal, de levensvatbaarheid en de samenstelling van de bacteriën in de biofilm bepaald. Er werd gevonden dat gedurende de vier weken van kauwgomgebruik, voor zowel de kauwgom met als zonder toegevoegde ingrediënten er geen significante daling was in zowel het totaal aantal bacteriën als hun levensvatbaarheid in de biofilm. Desalniettemin werd er voor alle geteste kauwgoms, ook zonder toegevoegde ingrediënten, wel een trend gevonden van toenemende diversiteit in de bacteriële samenstelling van de biofilm. Hieruit werd geconcludeerd dat het dagelijks kauwen van suikervrije kauwgom voor een langere tijd er voor kan zorgen dat de bacteriële samenstelling van de orale biofilm verschuift in een meer diverse en daarmee gezondere richting. Een effect van MBE en SHMP hierop kon niet worden geobserveerd.

De geadsorbeerde speeksellaag op tandoppervlakken is een belangrijke factor voor de bevochtigbaarheid van het tandoppervlak en het mondgevoel. Met de opzet van de studie uit hoofdstuk 3 als basis, ligt de focus van **hoofdstuk 4** op de effecten van kauwgom met en zonder MBE en SHMP op de bevochtigbaarheid van de tanden en de perceptie van het mondgevoel onder vrijwilligers. Gedurende de vier weken dat vrijwilligers kauwgom kauwden werd de perceptie van het mondgevoel bepaald middels een vragenlijst en de intra-orale water randhoeken gemeten, beide zowel voor het kauwen als tot en met 60 minuten na het kauwen. Er werd gevonden dat de perceptie van het mondgevoel direct na het kauwen van kauwgom significant beter was dan voor het kauwen, hetgeen tot 60 minuten lang kon duren. Tegelijkertijd daalden de intra-orale water randhoeken ook significant direct na het kauwen, wat een teken is van een meer hydrofiel tandoppervlak. Deze resultaten waren wederom ongeacht de toevoeging van MBE en SHMP. Een positieve perceptie van het mondgevoel zou een stimulans voor mensen kunnen zijn om kauwgom te kauwen en zodanig de speekselvloed te stimuleren en de daarmee geassocieerde gezondheidsvoordelen te benutten.

In de volgende hoofdstukken beginnen we met het ontdekken van nieuwe mogelijkheden om de orale gezondheidsvoordelen van kauwgom verder uit te breiden. Daarvoor gaan we in **hoofdstuk 5** eerst terug naar de basis van de vorming van de orale biofilm, waarbij er gekeken wordt naar de hechtingkrachten van bacteriën in de mondholte in relatie tot de bacteriële samenstelling van het orale microbiom. Het orale microbiom bestaat uit het planktonisch microbiom; de samenstelling van bacteriën in speeksel, en het hechtende microbiom; de bacteriën die voorkomen in de biofilm die hechten aan harde en zachte orale weefsels. De hypothese in dit hoofdstuk is dat mogelijke verschillen in bacteriële samenstelling van het planktonische en hechtende microbiom gerelateerd zijn aan de hechtingskrachten waarmee de verschillende bacteriën worden aangetrokken

tot het tandoppervlak. Hiertoe werd de relatieve aanwezigheid van zeven orale bacteriële soorten tweemaal bepaald in speeksel en biofilm van tien gezonde vrijwilligers middels denaturerende gradient gel elektroforese. Analyse liet een complete scheiding zien in de bacteriële samenstelling van het planktonische microbiom ten opzichte van het hechtende microbiom. Vervolgens werden de hechtingskrachten van bijbehorende bacteriële stammen gemeten op, een met speeksel bedekt, oppervlak van tandglazuur middels atomaire krachtmicroscopie. Bacteriële soorten die voornamelijk in het hechtende microbiom werden gevonden hadden significant hogere hechtingskrachten richting tandglazuur met een speeksellaag (-0.60 to -1.05 nN) dan soorten die voornamelijk aanwezig waren in het planktonisch microbiom (-0.40 to -0.55 nN). Hieruit werd geconcludeerd dat verschillen in de bacteriële samenstelling van het planktonische en hechtende microbiom zouden kunnen worden toegeschreven aan de kleine verschillen in hechtingskracht waarmee bacteriën worden aangetrokken tot tandglazuur met een speeksellaag. Dit is een belangrijke stap in het begrijpen van de plaats- en materiaalafhankelijke verschillen in de bacteriële samenstelling van de orale biofilm.

In **hoofdstuk 6** werd onderzocht of een stukje kauwgom gebruikt kan worden voor het “vangen” van orale bacteriën om deze hiermee uit de mondholte te verwijderen. Om dit te testen zijn er twee methoden ontwikkeld om het aantal bacteriën dat gevangen wordt middels een stukje kauwgom te kwantificeren. In het geval van de eerste methode werden bekende aantallen bacteriën in een stukje kauwgom “gekneet”, dit werd vervolgens gevormd naar een standaard afmeting, gesonificeerd en uitgeplaat om het aantal kolonievormende eenheden te bepalen. De hieruit voortkomende ijklijnen tonen het aantal verkregen kolonievormende eenheden *versus* het aantal “ingeknede” bacteriën. Voor de tweede methode werden de ijklijnen verkregen door wederom bekende aantallen bacteriën in een stukje kauwgom te kneden en vervolgens de kauwgom op te lossen in een mengsel van chloroform en (tris)-ethyleendiaminetetra-azijnzuur (TE)-buffer. De TE-buffer werd geanalyseerd middels kwantitatieve polymerase kettingreactie (qPCR), hetgeen ijklijnen voortbracht voor het totaal aantal bacteriën *versus* het aantal “ingeknede” bacteriën. Vervolgens werden vijf vrijwilligers gevraagd om tot tien minuten lang kauwgom te kauwen waarna het aantal kolonievormende eenheden en het totaal aantal bacteriën dat gevangen was in het stukje gekauwde kauwgom werd bepaald middels de bovengenoemde methodes. De qPCR methode, die zowel levende als dode bacteriën betreft, toonde hogere aantallen gevangen bacteriën dan de kolonievormende eenheden methode, die enkel levende bacteriën betreft. Het aantal gevangen bacteriën was maximaal vlak na het starten van het kauwen waarna het aantal langzaam afnam naarmate er langer werd gekauwd. Ongeveer 10^8 bacteriën per stukje gekauwde kauwgom

werden gedetecteerd, afhankelijk van de gebruikte methode en de kauwgomsoort. Daarentegen nam het aantal soorten bacteriën dat werd gevangen met een stukje kauwgom toe naarmate er langer werd gekauwd. Gevangen bacteriën konden worden gevisualiseerd in de gekauwde kauwgom middels een rasterelektronenmicroscop. Samenvattend kan gesteld worden dat door middel van nieuwe methodes het mogelijk is gevangen bacteriën in een stukje gekauwde kauwgom te kwantificeren en kwalificeren. Hiermee konden we bevestigen dat kauwgom daadwerkelijk gebruikt kan worden voor het vangen van orale bacteriën en deze hiermee uit de mondholte te verwijderen.

In de preventieve tandheelkunde is er groeiende interesse voor een meer doelgerichte aanpak van specifiek de ziekteverwekkende bacteriën in de mondholte. In tegenstelling tot de huidige conventionele wijze van orale hygiëne, die voornamelijk gericht is op het verwijderen van zo veel mogelijk bacteriën, ongeacht of deze een bijdrage leveren aan gezondheid of ziekte. Het is bekend dat de hydrofobiciteit van het celoppervlak van orale bacteriën veranderd kan worden middels componenten die in mondverzorgingsproducten aanwezig zijn. Een meer hydrofoob celoppervlak stimuleert het verwijderen van bacteriën uit de mondholte middels een hydrofobe ligand. In **hoofdstuk 7** onderzochten we of de blootstelling van orale Gram-positieve en Gram-negatieve bacteriën aan MBE de hydrofobiciteit dusdanig kon veranderen zodat de verwijdering van bacteriën uit een waterige suspensie middels hechting aan hexadecaan vergemakkelijkt werd. Elf orale bacteriestammen werden hiertoe in een waterige oplossing aan verschillende concentraties MBE blootgesteld. Vervolgens werd de verwijdering van bacteriën uit de waterfase door middel van hexadecaan gemeten met de kinetische “microbiële hechting aan koolwaterstoffen” test. De blootstelling van bacteriën aan MBE in een waterige oplossing resulteerde in een verandering van de hydrofobiciteit van Gram-negatieve orale bacteriën volgens een dosis-respons relatie, wat een toename van de verwijdering middels hexadecaan teweegbracht. Dit wekt de suggestie dat een combinatie van MBE en een hydrofobe ligand toepassingen heeft in o.a. kauwgom om de prevalentie van Gram-negatieve bacteriën in de mondholte en mogelijk de daarmee geassocieerde ziekten te reduceren.

In **hoofdstuk 8** worden de vindingen van de vorige drie hoofdstukken verder uiteengezet richting applicaties in kauwgom. Hiertoe identificeren we twee benaderingen voor de doelgerichte aanpak van specifiek de ziekteverwekkende bacteriën in de mondholte. De eerste benadering is gebaseerd op het specifiek binden van ziekteverwekkende bacteriën aan kauwgom. **Hoofdstuk 5 en 6** vormden hiervoor de basis; bacteriële hechtingskrachten spelen een belangrijke rol in de mondholte en bacteriën kunnen (niet specifiek) worden gevangen in een stukje kauwgom en daarmee

worden verwijderd uit de mondholte. Ondanks dat er meer experimenteel werk moet worden verricht, konden we in een aantal proefprojecten aantonen dat bepaalde eigenschappen van kauwgom de hechtingskracht van orale bacteriën aan kauwgom kan beïnvloeden. Derhalve lijkt het plausibel dat kauwgom gebruikt kan worden voor het doelgericht vangen van ziekteverwekkende bacteriën.

De tweede benadering is een uitbreiding van **hoofdstuk 7**, waarin we mogelijkheden voorstellen voor de toevoeging van ingrediënten aan kauwgom die specifiek gericht zijn op de ziekteverwekkende bacteriën. Wederom is er meer onderzoek nodig, maar de bevindingen van dit proefschrift laten zien dat beide benaderingen mogelijk zijn en het kan het kader vormen voor de daadwerkelijke ontwikkeling van dit type kauwgom.