

Utjecaj infekcije i traume na dentinogenezu

Influence of Infection and Trauma on Dentinogenesis

Goranka Prpić-Mehićić
Dunja Kobler
Dora Najžar-Fleger
Jasna Talan-Hranilović*
Lidija Šuman**

Zavod za dentalnu patologiju, Stomatološki fakultet Zagreb

* Zavod za opću patologiju, Stomatološki fakultet Zagreb

** Eksperimentalna medicina i biologija, Inst. »Ruđer Bošković« Zagreb

Sažetak

Izvršen je morfološki studij dentinogeneze na incizivima štakora u uvjetima nepovoljnog djelovanja operativne traume u kombinaciji s mono i miješanom infekcijom pulpe s bakterijama *Streptococcus mutans* i *Veillonelle*.

Na 72 Zgr-Whistar imunogena štakora, podijeljena u pokusnu (54) i kontrolnu grupu (18), inokulirano je, pod aseptičkim uvjetima, na otvorenu pulpu 0,5 McFarlandove koncentracije čiste i miješane kulture bakterija. U kontrolnoj grupi korištena je fiziološka otopina. Nakon 7, 21 i 52 dana pokusnog razdoblja materijal je fiksiran u 10% neutralnoj otopini formalina, smrznut, rezan na debljinu od oko 5 mikrometara i obojen hematoksilin eozinom, a za prikaz bakterija Braun-Breinovom metodom.

Rezultati su pokazali da poremećaj mineralizacije dentina može biti posljedica operativne traume i infekcije. Jačina poremećaja odgovarala je patogenosti bakterija, a očitovala se hipomineralizacijom, prolaznom ili progresivnom resorpcijom. Najjače oštećenje u obliku resorptivnih inkluzija u dentinu očitovalo se kod miješane infekcije u 52-dnevnom pokusnom razdoblju.

Ključne riječi: infekcija, trauma, dentinogeneza

Acta Stomatologica Croatica
1992; 26: 9-14

IZVORNI
ZNANSTVENI RAD

Primljeno: 11. prosinca 1991.

Uvod

Mnogobrojna klinička iskustva potkrijepljena svestranim eksperimentalnim istraživanjima pokazala su da oštećenje pulpe direktno utječe na proces dentinogeneze. Oštećenje formativnih pulpnih stanica djeluje vrlo nepovoljno na stvaranje, odnosno mineralizaciju dentina (1, 2).

Incizivi štakora mogu vrlo uspješno poslužiti kao pokusni model za praćenje procesa denti-

nogeneze. Značenje tih zubi jest da neprestano rastu i da se mineraliziraju tijekom cijelog životnog vijeka životinje, što im daje osobine koje imaju zubi u razvitku. U fiziološkim uvjetima, u tih se zubi ne odvija proces resorpcije dentina već samo apozicija, pa metabolički status dentina ostaje trajno zabilježen, što se može lijepo pratiti na histološkim preparatima (3, 4, 5).

Shour (6) je opisao razne metode kojima je moguće pratiti proces mineralizacije zubi. Me-

đu njima je histološko ispitivanje vrlo jednostavna i pouzdana metoda, a histološki izgled dentina vrlo osjetljiv pokazatelj procesa mineralizacije. Autor preporučuje da se pritom uzimaju u obzir slijedeći pokazatelji:

1. Širina predentina; normalno iznosi 10–20 mikrometara. Veća širina predentina je direktno proporcionalna stupnju poremećaja mineralizacije. U takvim je slučajevima intermedijarna zona, a to je područje gdje započinje proces mineralizacije, valovita izgleda.

2. Dnevni prirast dentinskog tkiva; normalno iznosi 16 mikrometara. Proširenje tog sloja pokazuje jačinu oštećenja dentinogeneze.

3. Vaskularni pupoljci u dentinu posljedica su iznenadnog prestanka stanične aktivnosti. Njihova pojava je obično u svezi s jakim lokalnim ili općim poremećajima koji uništavaju formativne pulpne stanice prije nego što se završi njihov životni ciklus.

4. Gubitak palisadnog poretka odontoblasta znak je poremećene homeostaze, a upala i nekroza pulpe mogu biti prvi vjesnici aktivnog procesa resorpcije.

5. Fronta mineralizacije u ranoj fazi poremećene dentinogeneze veoma je nepravilna, sa širokom zonom interglobularnog dentina.

U ovom smo radu izvršili morfološki studij dentinogeneze na incizivima štakora u uvjetima nepovoljnog djelovanja operativne traume u kombinaciji s mono i miješanom infekcijom zubne pulpe.

Materijal i metoda

U radu smo upotrijebili 72 muška Zgr-Whistar imunogena štakora, koji su podijeljeni u pokusnu (54) i kontrolnu skupinu (18). U aseptičkim uvjetima pulpa je otvorena čeličnim svrdlom br. 018. U pokusnoj grupi je na otvorenu pulpu injicirano 0,5 McFarlandove koncentracije čiste, odnosno miješane kulture *Streptococcus mutans* i *Veillonelle*, a u kontrolnu grupu fiziološka otopina. Nakon toga kavitet je zatvoren karboksilatnim cementom i kompozitom.

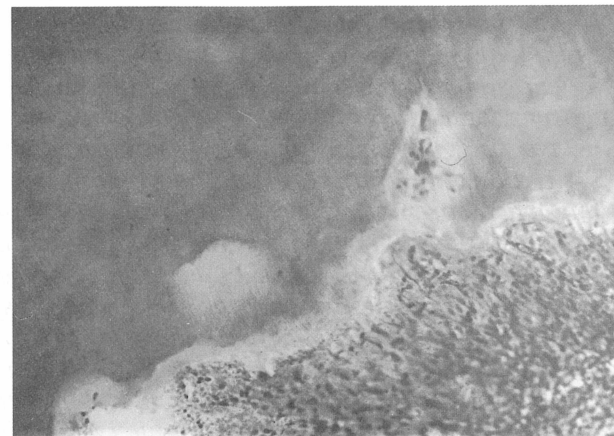
Životinje su žrtvovane nakon 7, 21 i 52 dana pokusnog razdoblja. Na ovom pokusnom modelu razdoblje ispitivanja nije moglo trajati duže zbog funkcijske atricije inciziva na kojima je vršen eksperiment. Materijal je fiksiran u neutralnoj otopini 10% formalina. Za histološko promatranje, koje je vršeno svjetlosnim mikro-

skopom, korištena je tehnika smrzavanja, preparati su rezani na debljinu oko 5 mikrometara, a obojeni hematoksilin-eozinom. Za bojenje mikroorganizama primijenjena je Braun-Breinsonova metoda.

Rezultati

Morfološko promatranje inciziva štakora izloženog infekciji pulpe bakterijama *Streptococcus mutans* i *Veillonella* u obliku mono i miješane infekcije pokazalo je slijedeće:

U svim ispitivanim zubima u području operativne traume nađena su jaka krvarenja i polja nekrotične pulpe. U nekim slučajevima opažena je i resorpcija dentina (sl. 1).



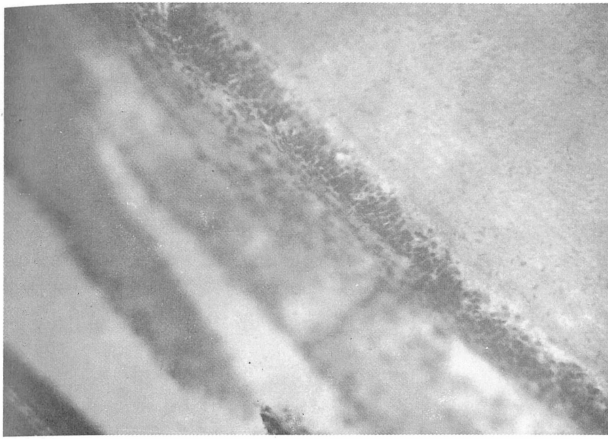
Slika 1. Resorpcija dentina u blizini operativne traume kod infekcije pulpe *Streptococcus mutans*om nakon 7 dana. HE x 200.

Figure 1. Dentin resorption adjacently to a surgical trauma in pulp infection with *Streptococcus mutans* after 7 days. HE x 200.

Kod monoinfekcije *Veillonellom*, nakon infekcije u trajanju od 7 dana, nađena je hiperemija pulpe koja se u većini slučajeva povukla nakon 21 dan.

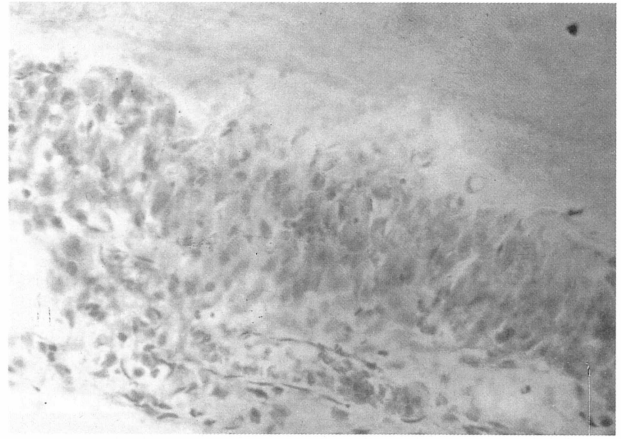
U području pulpodentinskog graničnog kompleksa, a u blizini operativne traume, odontoblasti su mjestimično izgubili svoj palisadni poredak i zonu predentina, što je bilo praćeno slabijom mineralizacijom pojedinih područja dentina, naročito nakon 52. dana pokusnog razdoblja (sl. 2, 3).

Kod monoinfekcije *Streptococcus mutans*om, sedmog dana u svim pulpama nađena je hiperemija. Nakon 21. i 52. dana od početka infekcije, blizu operativne traume nađeni su zna-



Slika 2. Mjestimični gubitak palisadnog poretka odontoblasta i zone predentina kod monoinfekcije *Veillonellom* nakon 7 dana. HE x 100.

Figure 2. Sporadic loss of the palisade arrangement of odontoblasts and the zone of predentin in *Veillonella* monoinfection after 7 days. HE x 100.



Slika 4. Valovita intermedijarna dentinska granica, gubitak zone predentina, djelomični gubitak odontoblasta kod infekcije *S. mutansom* nakon 52 dana. HE x 400.

Figure 4. Undulating intermediary dentin border, loss of the predentin zone, sporadic loss of odontoblasts in infection with *S. mutans* after 52 days. HE x 400.

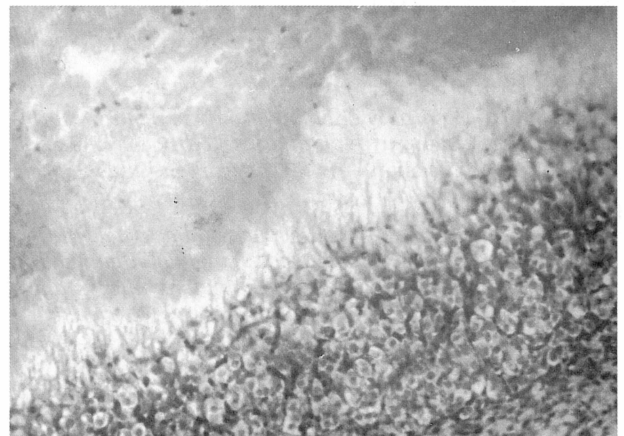


Slika 3. Resorpcija dentina, poprečni presjek kod monoinfekcije *Veillonellom* nakon 52 dana. HE x 400.

Figure 3. Dentin resorption, transversal section in monoinfection with *Veillonella* after 52 days. HE x 400.

kovi upale i nekroza. Apikalno smješteno pulпно tkivo bilo je normalno, hiperemično ili nekrotično, što je ovisilo o trajanju infekcije.

U pulpodentinskom graničnom kompleksu nađeni su svi poremećaji koji odgovaraju slabijoj mineralizaciji ili dentinskoj resorpciji, a to su: valovita intermedijarna dentinska granica, debeli sloj interglobularnog dentina te pupanje kapilara u dentinu (sl. 4, 5). Upala pulpe korespondirala je s gubitkom odontoblasta i preden-

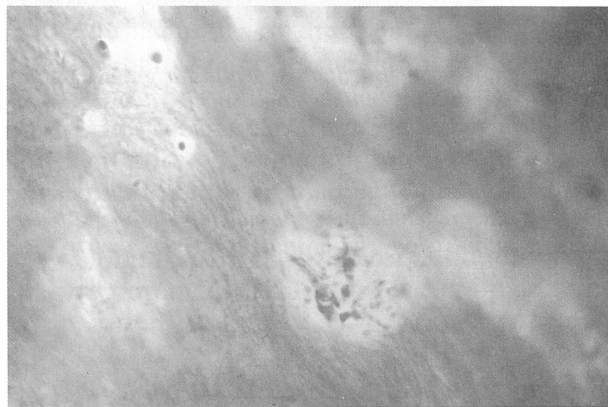
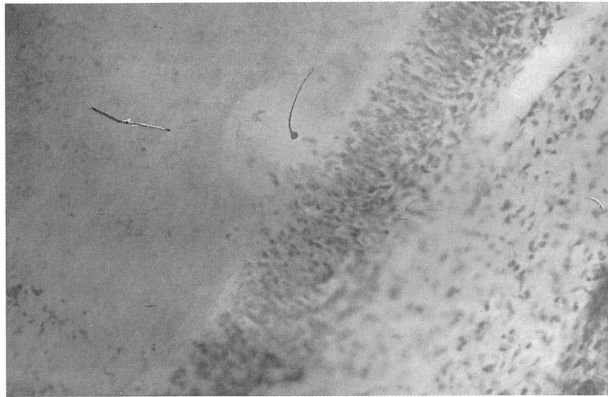


Slika 5. Valovita intermedijarna dentinska granica, djelomični gubitak predentina i odontoblasta i široka zona interglobularnog dentina kod monoinfekcije *S. mutansom* nakon 52 dana. HE x 400.

Figure 5. Undulating intermediary dentin border, partial loss of predentin and odontoblasts, and a wide zone of interglobular dentin in monoinfection with *S. mutans* after 52 days. HE x 400.

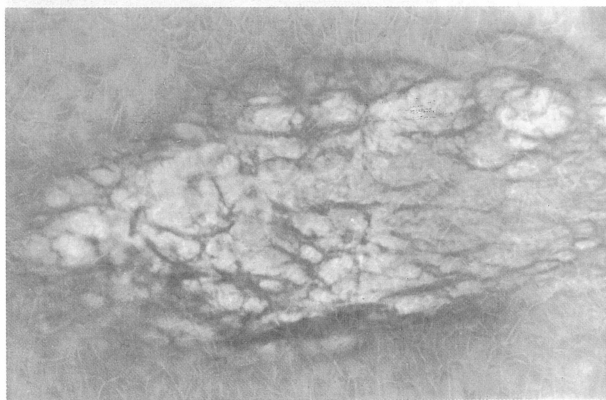
tina, stvaranjem lakuna i aktivnim stanicama tipa dentinoklasta ili dentinoblasta (sl. 6, 6a). Kod nekroze pulpe nađena su široka područja dentinske resorpcije (sl. 7).

Sve se to dogodilo i kod miješane infekcije sa *Streptococcus mutansom* i *Veillonellom*, ali



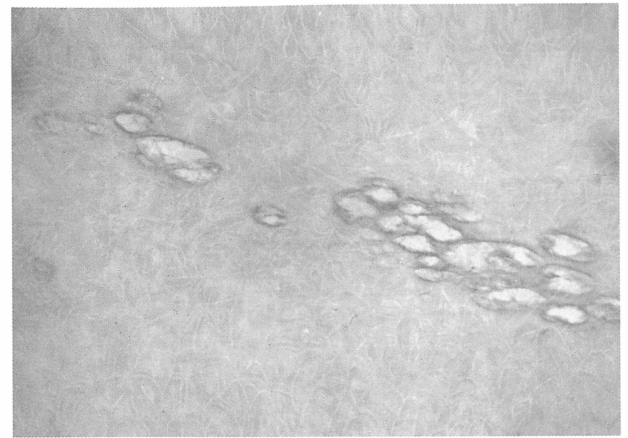
Slika 6. i 6a. Resorptivne lakune i aktivne dentin resorbirajuće stanice (odontoklasti) kod upale pulpe kod monoinfekcije *S. mutans*om nakon 7 dana. HE x 200.

Figure 6 and 6a. Resorptive lacunae and active dentin-resorbing cells (odontoclasts) in pulp inflammation in monoinfection with *S. mutans* after 7 days. HE x 200.



Slika 7. Široko područje dentinske resorpcije kod nekroze pulpe kod monoinfekcije *S. mutans*om nakon 21 dan. HE x 400.

Figure 7. A wide area of dentin resorption in pulp necrosis in monoinfection with *S. mutans* after 21 days. HE x 400.



Slika 8. Zone nekroze u dentinu kod miješane infekcije *S. mutans*om i *Veillonellom* nakon 52 dana. HE x 200.

Figure 8. Necrotic zones in dentin in mixed infection with *S. mutans* and *Veillonella* after 52 days. HE x 200.

mnogo jače i s velikim zonama nekrotičnih inkluzija u dentinu, što se naročito dobro vidjelo na tkivu izloženom infekciji 52 dana.

Operativna trauma bez infekcije (kontrolna grupa) u nekoliko slučajeva u pulpodentinskom graničnom kompleksu također je pokazala poremećaj, a u pulpi hiperemiju, upalu ili nekrozu, koje su bile praćene odgovarajućom slabijom mineralizacijom dentina i prolaznom ili progresivnom resorpcijom. Pregled promjena zubne pulpe eksperimentalnih životinja prikazuje tablica 1.

Tablica 1. Pregled histoloških promjena zubne pulpe eksperimentalnih životinja u pokusu

Table 1. Histologic alterations in dental pulp of experimental animals used in the study

grupa/N	Dani kada su žrtvovane životinje		
	7	21	52
a/18	hiperemija 6/6*	hiperemija 2/6 upala 3/6 nekroza 1/6	nekroza 3/6 hiperemija na periapeksu 1/6
b/18	hiperemija 4/6 upala 2/6	upala 4/6	nekroza 2/6
c/18	hiperemija 5/6 upala 1/6	upala 1/6	nema znakova upale
d/18	hiperemija 6/6	nema znakova upale	nema znakova upale

* – broj pozitivnih nalaza / ukupni broj zuba
a – *S. mutans* apliciran na otvorenu zubnu pulpu

- b – *S. mutans* apliciran zajedno s *Veillonellom* na otvorenu zubnu pulpu
- c – *Veillonella* aplicirana na otvorenu zubnu pulpu
- d – sterilna fiziološka otopina aplicirana na otvorenu zubnu pulpu

Rasprava

Reakcija zubne pulpe, a u svezi s time i dentinogeneza, ovise o mnogim izvanjskim i unutrašnjim činiocima koji se događaju u okvirima fiziološkog i patološkog (7, 8, 9, 10). Funkcija zuba, sama po sebi, neprestano pobuđuje odontoblaste na aktivnost, a očituje se stvaranjem sklerotičnog i sekundarnog dentina, što je ujedno znak velike reaktivnosti formativnih pulpnih stanica i biološke prilagodljivosti zuba na trošenje.

Među izvanjskim utjecajima koji oštećuju pulpu i remete ili zaustavljaju proces dentinogeneze, najčešće se susrećemo s podražajima infektivnog podrijetla. Međutim, podražavajući materijali i operativni zahvati koje primjenjujemo u našoj struci dovode također do mehaničkog, kemijskog ili fizikalnog oštećenja pulpe, pri čemu se dentinogeneza događa nepravilno ili se potpuno zaustavlja. Akutna trauma je teška noksa za zub jer uvelike narušava ili potpuno prekida dentinogenezu s mogućim resorptivnim procesima.

Hoće li resorpcija postati progresivna ili će doći do reparacije ovisi o sposobnosti vezivnog tkivnog dijela pulpe da izdiferencira nove odontoblaste s primjerenom sekretornom funkcijom.

Proces dentinogeneze može se lijepo pratiti na pokusnom modelu koji je izradio Shour (6), zato što se mogu pratiti sve razvojne faze, počevši od širine i oblika nemineraliziranog pre-dentina, intermedijarne dentinske zone, preko stvaranja interglobularnog dentina, do ritmičkog poremećaja stratifikacije i formiranja normalnog pokrovnog dentina.

U našem smo se radu uspješno koristili ovom metodom i ustanovili da je stupanj poremećaja dentinogeneze ovisio o patogenosti inokuliranog mikroorganizma i dužini trajanja infekcije. Ustanovili smo da miješana infekcija teže narušava dentinogenezu zuba od monoinfekcije, što je vrlo važna spoznaja za kliničku praksu, jer se u našoj kazuistici najčešće susrećemo s miješanim infekcijama. Također je nađeno da je težina poremećaja ovisila o udaljenosti od operativne traume. U blizini operativne traume nađe-

ne su veće zone resorpcijskih lakuna nego što je nađeno na perifernim predjelima, što potvrđuje činjenicu da je operativna trauma, sama po sebi, vrlo teška noksa za pulpu i dentinogenezu. Razlike u nalazima unutar pojedinih pokusnih grupa mogu se pripisati individualnoj reaktivnosti pulpnog organa u pojedinim životinja.

Brooks (11) je opisao unutrašnje resorpcije korijena molara i premolara neiznikulih zubi s patohistološkom slikom kroničnog pulpitisa i aktivacijom multinuklearnih gigantskih stanica. U slučaju premolara one se mogu povezati s intoksikacijom preko nepovrijeđene cakline u koje još nije dovršeno konačno sazrijevanje, pa postoji mogućnost kemijsko-toksičnih podražaja. Međutim, još nema objašnjenja za takve slučajeve u trajnih molara iznad kojih se ne nalaze mliječni zubi koji bi se mogli okriviti kao izvor intoksikacije. Walton (12) opisuje pre-eruptivnu intrakoronarnu resorpciju s patološkim nakupljanjem prekolagenih niti, nekrozom vezivnog tkiva i nekrotičnim inkluzijama u dentinu. To govori u prilog mišljenja da se u resorptivnim lezijama zubi u razvitku susrećemo s različitom patogeneozom, koja nije do kraja objašnjena (13).

U svezi s time mogli bismo pojavu nekrotičnih inkluzija u našim nalazima povezati s pojačanom kolagenolitičkom aktivnošću *Veillonelle*, koja se nalazi u metaboličkoj povezanosti sa *S. mutansom* kod miješane infekcije (14).

Zaključak

Na temelju morfološkog promatranja dentinogeneze na incizivima štakora, u uvjetima nepovoljnog djelovanja operativne traume i infekcije zubne pulpe, možemo donijeti slijedeće zaključke:

- poremećaj mineralizacije dentina može biti posljedica operativne traume same ili kumulativnog djelovanja operativne traume i infekcije;
- jačina poremećaja odgovara jačini i trajanju nepovoljnog utjecaja na pulpu, a očituje se u obliku hipomineralizacije, te prolazne ili progresivne resorpcije;
- najjače oštećenje kako u pulpi, tako i u mineralizaciji dentina, uzrokovano je kumulativnim djelovanjem operativne traume i miješane infekcije sa *Streptococcus mutansom* i *Veillonellom*, koje je naročito došlo do izražaja u 52-dnevnom pokusnom razdoblju.

INFLUENCE OF INFECTION AND TRAUMA ON DENTINOGENESIS

Adresa za korespondenciju:
Address for correspondence:

Summary

A morphological study of dentinogenesis was done on rats incisors under conditions of unfavorable operative trauma acting in combination with mono and mixed pulp infection with the bacteria: Streptococcus mutans and Veillonella.

In a group of 72 Zgr – Whistar imunogene rats, divided into a test (54) and control (18) group, 0,5 McFarland concentrate of pure and mixed bacteria culture was inoculated into open pulp under aseptic conditions. Saline solution was used in the control group. After 7, 21 and 52 day-test-period the material was fixed in a 10% neutral formaline solution, frozen, cut app. 5 micrometers thick, and stained with HE for the purpose of bacteria being shown by the Brown-Brain method.

The results show that dentine mineralisation disturbance may be due to operative trauma and infection. The disturbance extent was proportional to bacteria pathogenecity and was manifested through hypomineralisation, temporary or progressive resorption. The strongest mutilation in a form of resorptive inclusions in the dentine was manifested in the 52-day-test-period mixed infection.

Key words: *infection, trauma, dentinogenesis*

Dr. Goranka Prpić
Zavod za dentalnu patologiju
Stomatološki fakultet
Zagreb
Gundulićeva 5

Literatura

1. TRONSTAD L. Root resorption-etiology, terminology and clinical manifestation. *Endod Dent Traumatol* 1988; 4: 241–252.
2. PIERCE A M. Experimental basis for the management of dental resorption. *Endod Dent Traumatol* 1989; 5: 255–265.
3. BAKER H J, LINDSEY J R, WEISBOOTH S K. The laboratory rat. Academic Press, London 1980.
4. DREIZEN S, LEVY B M. Handbook of experimental stomatology. CRC Press, Boca Raton 1981.
5. ADAMS D. The blood supply to the enamel organ of the rodent incisors. *Arch Oral Biol* 1962; 7: 279–289.
6. SCHOUR I, MASSLER M. The teeth. In *The rat in Laboratory investigations*. Hafner, New York 1949 (EJ Faris & Griffith ed.).
7. FLEGER D, PRPIĆ G, KOBLER D, HRANILOVIĆ J, ŠUMAN L. Experimental internal root resorption caused by *Streptococcus mutans* and *Veillonella*. *Int Endod J* 1990, 23:53.
8. WATS H, PATERSON R C. Detection of bacteria in histological sections of the dental pulp. *Int Endod J* 1990; 23: 1–12.
9. MERYON S D, BROOK A M. Penetration of dentin by three oral bacteria in vitro and their associated cytotoxicity. *Int Endod J* 1990; 23: 196–202.
10. YANAGISAWA T, OGIVARA H, KUMAMATO Y, SAWADA T, TAKUMA S. Electron microscopic study of osteodentin-forming cells induced in experimentally exposed rat-molar pulps and of their acid-and alkaline-phosphatase activity. *Bull Tokyo dent Coll* 1988; 29: 165–173.
11. BROOKS J. Detection of intracoronal resorption in an unerupted developing premolar: report of case. *JADA* 1988; 16: 857–859.
12. WALTON J L. Dentin radiolucences in unerupted teeth: report of two cases. *J Dent Children* 1980; 47: 35–38.
13. TAHICI K, INONE T, SHIMONO M, JAMAMURA K. An experimental study of dentinogenesis in autografted dental pulp in rats. *Bull. Tokyo Coll.* 1988; 29: 9–19.
14. PRPIĆ G, BUNTAK-KOBLER D, NAJŽAR-FLEGER D, ŠUMAN L, STIPETIĆ S. Pulp response to *Streptococcus mutans* placed on exposed dentin and exposed pulp in rat incisors. *Period Biol* 1988; 90: 93–96.