

KLINIČKA I HISTOLOŠKA ISPITIVANJA MLADIH TRAJNIH ZUBI NAKON VITALNE AMPUTACIJE PULPE

Nives Mesić-Par, Ančica Pećina-Hrnčević, † Stanko Stipetić*

Zavod za dječju i preventivnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta u Zagrebu

* Zavod za patologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Sažetak

Najbiološkija metoda liječenja komplicirane frakture mladih trajnih zubi je vitalna amputacija pulpe. Kada je proces apeksogeneze i apeksifikacije završen, preporuča se ekstripacija radikularne pulpe zbog sumnje na postojanje degenerativnih i patoloških promjena unutar same pulpe.

Cilj ovog istraživanja bila je histološka analiza pulpe mladih trajnih zubi nakon izvršene vitalne amputacije i završene apeksifikacije.

U tu svrhu obrađeno je 13 uzoraka humane pulpe ekstripirane iz klinički zdravih zubi uspješno liječenih metodom vitalne amputacije, uz primjenu kalcijevog hidroksida. Rezultati su pokazali da unutar pulpa mladih trajnih zuba liječenih vitalnom amputacijom nema promjena u smislu pojave upalnih stanica, kalcifikacija, promjena u broju stanica i količini kolagenih vlakana u usporedbi s pulpom intaktnih zubi ili zubi koji su konzervativno liječeni. Iz navedenog proizlazi zaključak i ujedno uputa za praktičan rad da u slučajevima uspješne terapije frakturiranih mladih trajnih zubi metodom vitalne amputacije pulpe, nije opravdano provođenje vitalne ekstripacije pulpe u preventivne svrhe, uz napomenu da takav zub mora biti klinički i rentgenološki praćen kroz duži vremenski period.

Ključne riječi: komplicirane frakture, mladi trajni zubi, vitalna amputacija pulpe, apeksifikacija, histološka slika pulpe.

UVOD

Traume trajnih zubi najučestalije su kod školske djece između 7 i 10 godina kako to navode Pećina i Vlasac (1). Ako kod takovih mladih trajnih zubi dođe do frakture krune sa otvorenom pulpom, tj. komplicirane frakture, najadekvatnija metoda liječenja u cilju nastavka rasta korijena je vitalna amputacija pulpe. Postojala su različita mišljenja o tome da li se po završetku rasta korijena, nakon uspjele terapije vitalnom amputacijom pulpe, vrši revizija kaviteta, tj. ekstripacija pulpe i definitivno punjenje korijenskog kanala ili ne. Razlozi za to su mogućnost kalcifikacije radi-

kularne pulpe, interna resorpcija i eventualni razvoj periapikalnih procesa, itd. (2).

U svrhu stimulacije odvijanja procesa koji dovode do apeksogeneze i apeksifikacije, upotrebljavale su se razne antiseptičke i antibiotske paste, a s vremenom se sve više davala prednost pastama na bazi kalcijeva hidroksida. Kada CaOH_2 , koji ima pH 12, dođe u kontakt s pulpnim tkivom, njegov kaustični učinak dovodi do površinske nekroze pulpe što iritira pulpu i stimulira je na obranu i reparaciju. Tada preko čitavog niza procesa dolazi do formiranja tvrde tkivne barijere, dentinskog mosta (2).

Cilj našeg istraživanja bio je da histološki analiziramo pulpu zubi liječenih metodom vitalne amputacije kalc. hidroksidom, tj. uočiti eventualne degenerativne i patološke promjene u njoj, te dobivene rezultate komparirati sa histološkim preparatima zdrave pulpe dobivene iz intaktnih zubiju. Ukoliko ne postoje neke značajnije patohistološke promjene u odnosu na zdravu pulpu, postavlja se pitanje ispravnosti terapijske metode, tj. neophodnosti sprovođenja vitalne ekstirpacije pulpe nakon završetka apeksogeneze, odnosno apeksifikacije.

MATERIJAL I METODE

Ispitivanje je vršeno na pacijentima školske i predškolske ambulante DZ »Novi Zagreb« te na pacijentima Zavoda za dječju i preventivnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta u Zagrebu. Ukupno je obrađeno 13 pacijenata u dobi između 6 i 11 godina života — 6 dječaka i 7 djevojčica. Za ispitivanje je korišteno 13 zubi, tj. 13 ekstirpiranih pulpa gornjih mezialnih inciziva, koji su nakon frakture krune uspješno liječeni metodom vitalne amputacije pulpe preparatima CaOH_2 . Načinjeni histološki preparati analizirani su svjetlosnim mikroskopom. Kao kontrolna skupina, tj. za komparaciju s dobivenim rezultatima ispitivane skupine korištene su ekstirpirane pulpe intaktnih donjih prvih premolara ekstrahiranih iz ortodonskih razloga. U ovoj skupini obrađeno je 20 pacijenata u dobi od 11—15 godina, 10 djevojčica i 10 dječaka, te načinjeno 20 histoloških preparata. Kada je završena apeksifikacija, što je potvrđeno Rtg-snimkom pristupilo se vitalnoj ekstirpaciji pulpe. Neposredno nakon ekstirpacije pulpa je fiksirana u 10% neutralno puferiranom formalinu i podvrgnuta postupku za analizu svjetlosnim mikroskopom. Preparati su bojani hemalaun eozinom. Korijenski kanal zuba endodontski je obrađen i punjen, a zub opskrbljen definitivnim ispunom. Ekstirpacija je izvršena 5 do 20 mjeseci nakon amputacije, ovisno o definitivnom završetku rasta korijena i zatvaranja apeksa. Treba naglasiti da su u radu analizirane samo pulpe onih zubi gdje je uspješno nastavljen i završen rast korijena, tj. svih 13 uzoraka su rezultat uspješne terapije metodom VAP-a s klinički posve urednom anamnezom i nepostojanjem upalnih promjena u periapeksu, što je potvrđeno Rtg-snimkom. Kao faktori uzeti u svrhu histološke klasifikacije ispitivanog

materijala bili su: limfociti, plazma stanice, količina veziva i broj stanica, kalcifikacije i zone nekroze.

Pulpe su klasificirane s obzirom na prisutnost i broj upalnih stanica u tri grupe: 1) pulpe bez upalnih stanica, 2) pulpe s malim brojem difuzno razasutih upalnih stanica, 3) pulpe sa infiltracijom upalnih stanica.

S obzirom na broj stanica i zastupljenost kolagenog vezivnog tkiva, pulpe su klasificirane također u dvije grupe: 1) pulpe s normalnim brojem stanica i količinom kolagena, 2) pulpe s umjereno smanjenim brojem stanica i umjereno povećanom količinom kolagenih vlakana.

REZULTATI

U svih 13 pacijenata vitalitet zuba je očuvan a Rtg kontrola je pokazala da je kod 50% ispitanika došlo do apeksifikacije 5 do 6 mjeseci nakon vitalne amputacije pulpe, dok je kod preostalih taj proces trajao nešto duže, tj. 8 do 10 mjeseci, a samo kod jednog pacijenta trajao je 20 mjeseci. Srednji vremenski period apeksifikacije iznosio je 7 mjeseci.

Rezultati histološke analize serijskih rezova pulpnog tkiva prikazani su na tablici 1.

Tablica 1. Rezultati histopatološke analize pulpa liječenih vitalnom amputacijom nakon završetka apeksogeneze i apeksifikacije

Table 1. Results of histopathologic analysis of the pulps treated with vital amputation after the completion of apexogenesis and apexification.

Traumatizirani mladi trajni zubi	11	11	11	21	21	11	11	11	11	21	21	11	21
Faza razvoja korijena	3	2	2	2	3	2	2	3	2	2	2	2	2
Interval od traume do izvršene VAP-a (h)	2	24	3	4	4	72	10	12	48	24	2	24	12
Interval od VAP-a do VEP-a (trajanje apeksifikacije u mj.)	5	12	9	6	6	6	10	5	10	6	6	12	20
Upalne stanice — limfociti	O	O	O	O	O	M	O	M	O	O	O	O	O
Upalne stanice — plazma stanice	O	O	O	O	O	M	O	M	O	O	O	O	O
Kalcifikacije					A							AL	
Broj stanica	N	N	N	N	N	US	N	N	N	N	N	US	US
Količina kolagenih vlakana	N	N	N	N	N	UP	N	N	N	N	N	UP	UP
Zone nekroze	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Legenda uz tablicu 1.

Faza razvoja korijena:

- 1 — prva trećina
- 2 — druga trećina
- 3 — treća trećina

Upalne stanice:

- O — pulpe bez upalnih stanica
- M — pulpe s malim brojem difuzno razasutih stanica

Kalcifikacije:

- I — pulpe s infiltracijom upalnih stanica
- L — dentikli laminarne strukture

- A — dentikli amorfne građe
- D — difuzne kalcifikacije

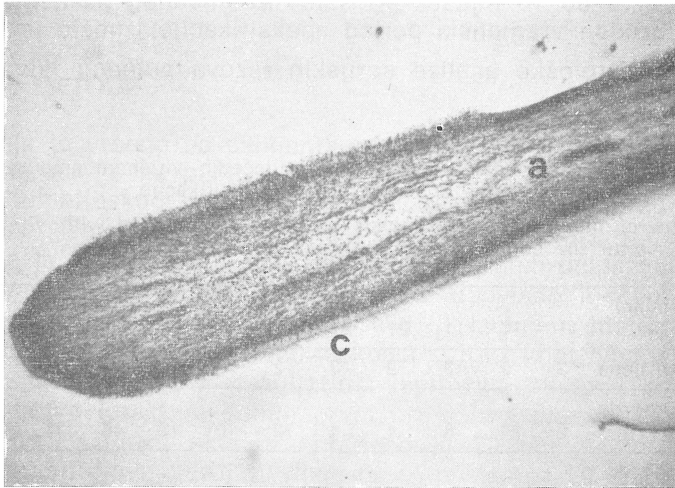
Broj stanica i količina kolagena:

- N — normalan broj stanica i količina kolagena ili približno normalan
- US — umjereno smanjen broj stanica
- UP — umjereno povećana količina kolagena

Zone nekroze:

- »+« vidljiva prisutnost nekrotičnih zuba
- »-« zone nekroze ne postoje

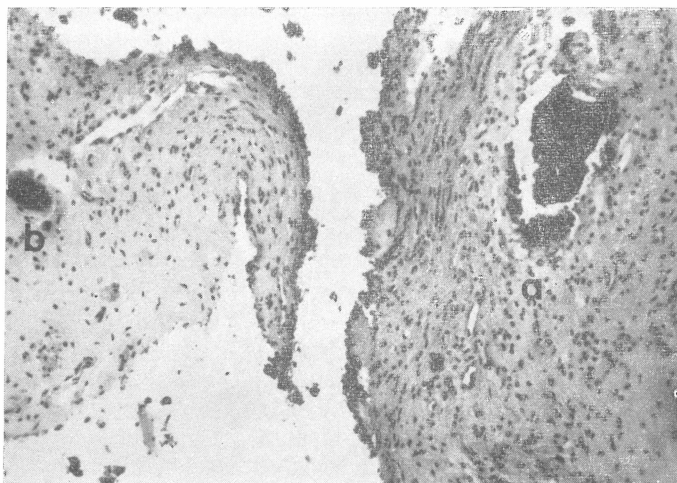
Od ukupno 13 uzoraka pulpe, pojava upalnih stanica vidljiva je u 2 pulpe i to kao mali broj difuzno razasutih limfocita i plazma stanica. (Slika 1). Kalcifikacije su nađene u 2 pulpe. U jednom slučaju bio je to dentikl



Slika 1. Apikalni dio radikularne pulpe s nešto povećanom količinom kolagenih vlakana (a) i malim brojem difuzno razasutih upalnih stanica (b). Na periferiji je vidljiv sloj odontoblasta (c).
a i c povećanje $3,2 \times 5$

Figure 1. Apical portion of radicular pulp with somewhat increased amount of collagenous fibers (a) and a small number of diffusely scattered inflammatory cells (b). A layer of odontoblasts visible peripherally (c).
a and c, magnification 3.2×5

laminarne strukture, dok se u drugom radilo o pseudodentiklu amorfne građe (Slika 2). Broj stanica i količina kolagenih vlakana bili su normalni,



Slika 2. Dentikl laminarne strukture (a) i pseudodentikl amorfnе građe (b) u blizini krvne žile, smješteni unutar pulpe s normalnim brojem stanica i količinom kolagena. Vidljiva je bogata vaskularizacija (povećanje 10×5)

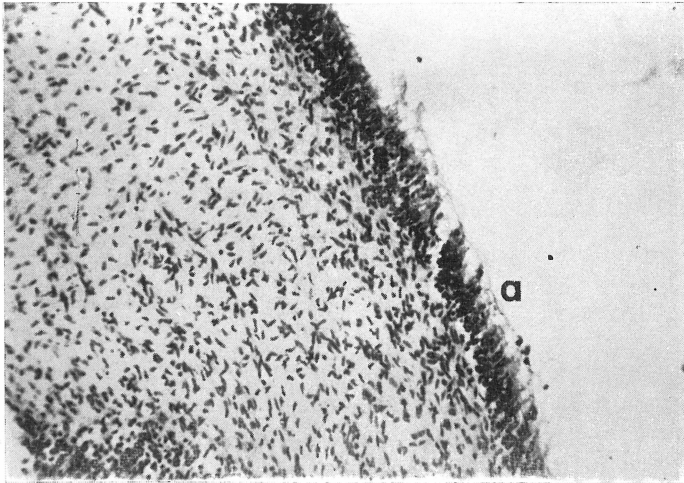
Figure 2. A denticle of laminar structure (a) and a pseudodenticle of amorphous structure (b) close to a blood vessel, within the pulp with a normal number of cells and amount of collagen. Rich vascularization visible (magnification, 10×5)

ili u granicama normalnog stanja, u 10 pulpi. Umjereno povećana količina kolagenih vlakana sa smanjenim brojem stanica, zapažena je kod 3 pulpe i to u apikalnom dijelu. Druge degenerativne i patološke pojave nisu pronađene.

Usprkos vrlo pažljivom radu pri ekstirpaciji pulpe i njenoj daljnjoj obradi, došlo je do oštećenja u zoni odontoblasta, tako da je njihova prisutnost vidljiva na malom broju preparata i u tim područjima odontoblasta nema degenerativnih promjena (Slika 3). Kod svih 13 preparata ispitivanog pulpnog tkiva vidljiva je bogata opskrbljenost krvnim žilama i kapilarama, a u njihovoj okolini nisu zapažene promjene u smislu upale.

RASPRAVA

Analizirajući podatke dobivene histološkom analizom obrađenog materijala, odnosno zapažene promjene na pulpama u smislu pojave upalnih stanica, kalcifikacija, te promjena u broju stanica i količini kolagenih vlakana, može se općenito reći da nisu pronađene veće razlike u odnosu



Slika 3. Apikalni dio radikularne pulpe s normalnom strukturom tkiva i vidljivom zonom odontoblasta na periferiji (a)
(povećanje 10×5)

Figure 3. Apical portion of radicular pulp with normal tissue structure and visible zone of odontoblasts peripherally (a)
(magnification, 10×5)

na pulpu intaktnih zubi, gdje se ove promjene mogu naći kao normalna histološka varijacija ili u odnosu na pulpu konzervativno liječenih zuba. Gvozdenović-Sedlecki i sur. (4), Sedlecki (5) navode da je nalaz histološki potpuno zdrave zubne pulpe veoma rijedak, te da se u najvećem broju slučajeva mogu uočiti različite regresivne i degenerativne promjene unutar pulpe intaktnog zuba, naročito kod starijih osoba. Te su promjene odraz fiziološkog procesa starenja (6), a mogu biti i posljedica konzervativnog tretmana zuba (7).

Pojava upalnih stanica tipa limfocita i plazma stanica primijećena je u 2 slučaja i to 2 do 3 mjeseca nakon amputacije i prekrivanja sa kalcijevim hidroksidom. Schröder (8) bilježi migraciju upalnih stanica iz krvotoka unutar oštećenog područja između 6 sati i nekoliko dana nakon aplikacije CaOH_2 . Seltzer (9) u radu na psima, navodi da se upalne stanice mogu naći u pulpi i nekoliko mjeseci nakon upale, odnosno ozljede bilo koje etiologije. Prisutnost kalcifikacija unutar pulpa intaktnih zubi normalna je pojava i javlja se sa vrlo velikom učestalošću. Willman i Hill (10) navode njihovo postojanje u 66% svih zubi u dobi od 10—20 godina starosti. U našem slučaju oni su prisutni u dvije pulpe, a njihova pojava može biti posljedica neznatnog poremećaja u opskrbi krvlju neposredno poslije djelovanja traume, što može dovesti do hijalinizacije koja postaje centar za formaciju dentikla. Nešto povećana količina kolagena u apikal-

nom dijelu radikularne pulpe u odnosu na koronarni dio, normalna je pojava u histološkoj slici intaktnog zuba, o čemu govore brojna ispitivanja. Stoga se naš nalaz umjereno povećane količine kolagenih vlakana u apikalnom predjelu kod tri pulpe, može smatrati normalnim. Radova koji se bave histološkom analizom pulpnog tkiva mladih trajnih zubiju uspješno liječenih metodom vitalne amputacije izuzetno je malo. Mc Cormick (12) navodi prikaz slučaja, gdje je nakon amputacije pulpe i apliciranja CaOH_2 , uslijedilo formiranje dentinskog mosta, nastavak apeksogeneze i apeksifikacije na gornjem incizivu, koji je potom praćen 19 godina kao klinički i rentgenološki zdravi zub.

Kostić-Černom (13) navodi pozitivne kliničke rezultate kod više pacijenata koji su praćeni 17 godina. Pećina-Hrnčević (14) navodi kliničke rezultate uz Rtg kontrolu kod 48 mladih trajnih zubi, gdje je kod 18 pacijenata izvršena vitalna amputacija pulpe, nakon koje je u 17 slučajeva došlo do apeksogeneze sa apeksifikacijom, dok je samo kod jednog zuba apeksifikacija izostala, zbog pogrešno postavljene indikacije za primjenu vitalne amputacije. Kod preostalih 20 pacijenata izvršena je vitalna ekstirpacija pulpe nakon koje je do apeksogeneze i apeksifikacije došlo kod 12 pacijenata, a kod preostalih 8 apeksifikacija je izostala. Rezultati pokazuju da je vitalna amputacija pulpe najadekvatnija metoda u cilju procesa apeksifikacije nakon kompliciranih ozljeda mladih trajnih zubi. Mišljenje da CaOH_2 , uslijed svoje moguće resorpcije i izazivanja imunološke reakcije, te zbog nepoznatog mehanizma djelovanja, može dovesti do degenerativno patoloških promjena unutar pulpe, glavno su polazište zagovornika primjene vitalne ekstirpacije pulpe nakon završetka uspješnog liječenja mladog trajnog zuba. Naime, Patterson (15) i grupa autora zabilježili su pojavu interne resorpcije sa vrlo visokom učestalošću kod primjene CaOH_2 nakon amputacije na mliječnim molarima. Tada je ovakva tkivna reakcija proglašena posljedicom učinka CaOH_2 . Mnogi autori, u brojnim eksperimentalnim radovima dokazali su da ova tvrdnja nije točna. Granath i Hagman (16) kao mogući uzrok interne resorpcije navode prisustvo ekstra pulpnih krvnih ugrušaka, a ne djelovanje samog CaOH_2 . Osim toga poznato je, da je djelovanje CaOH_2 na pulpu mliječnog zuba drugačije nego njegov učinak na pulpu trajnog zuba. Frank (17), Zander (18), Schröder (8), Bronner (19) i mnogi drugi govore o pozitivnom djelovanju CaOH_2 na pulpno tkivo trajnog zuba, naročito u slučaju njegove primjene u svrhu liječenja frakturiranog mladog trajnog zuba, nakon izvedene vitalne amputacije.

Patterson i Mitchell (20) i Patterson (15) opisali su tzv. kalcifikacijsku metamorfozu pulpe kao patološku pojavu kod traumatiziranih zuba, te preporučuju ekstirpaciju pulpe, prije nego do te pojave dođe. Međutim njihova studija nije ograničena samo na zube kod kojih je izvršena amputacija pulpe nakon traume, već se odnosi na sve traumatizirane zube uključujući i one slučajeve gdje je nakon traume došlo do odumiranja pulpe. Međutim, vitalna amputacija pulpe uz upotrebu kalcijevog hidroksida indicirana je samo kod vitalnih zubi sa traumatski otvorenom pulpom, tamo gdje je apeks zuba još široko otvoren i rast korijena nezavršen. Budući da je

ekstirpacija pulpa, analiziranih u ovom radu, vršena odmah nakon završetka apeksifikacije pojedinog zuba, moglo bi se pretpostaviti da je bio prekratak vremenski period za mogućnost manifestacija značajnih degenerativnih, odnosno patoloških procesa unutar pulpnog tkiva. No, ranije navedeni klinički nalazi drugih autora govore da i nakon višegodišnjeg praćenja ovakovih slučajeva nema nekih većih degenerativnih ili patoloških promjena.

Jedan od malobrojnih radova, gdje je vršena histološka analiza pulpe liječene metodom vitalne amputacije, nakon dužeg vremenskog perioda, je studija Cveka i Landberga (10). Autori histološki analiziraju pulpu zubi sa završenim rastom korijena i drugu skupinu pulpa zubi sa nezavršenim rastom korijena u vremenskom razdoblju od godinu dana do 8 godina nakon sprovedene amputacije.

Rezultati analize koji se odnose na skupinu pulpa zubi koji su u trenutku nastanka traume imali nezavršen rast korijena, pokazuju da je histološki nalaz u granicama normale, tj. da nema većeg odstupanja od slike zdrave pulpe. Zanimljivo je da je prisutnost upalnih stanica u vrlo malom broju zabilježena u pulpama koje su ekstirpirane čak 5 do 6 godina nakon izvršene amputacije. Dentikli su pak bili u istoj mjeri prisutni i u pulpama sa kraćim periodom nakon amputacije, kao i onih s dužim periodom. Svi analizirani zubi bili su klinički zdravi. Uspoređujući naše rezultate s rezultatima Cveka i Landberga, može se reći da se nalazi u velikoj mjeri podudaraju. U našoj analizi pronađeno je nešto manje kalcifikacija, dok je prisutnost upalnih stanica bila gotovo identična sa njihovim nalazom, kao i kvantitativne promjene stanica i veziva. Sve navedene histološke promjene, nisu imale veći značaj, niti su kvantitativno i kvalitativno bitnije odstupale od histološke slike zdrave pulpe intaktnog zuba.

ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata naših istraživanja može se zaključiti:

Unutar pulpnog tkiva svih 13 uzoraka nisu zapažene promjene u smislu pojave upalnih stanica, kalcifikacija, promjena u broju stanica i količini kolagenih vlakana u daleko većem obimu nego što je to prisutno i kod pulpi intaktnih zubi ili zubi koji su konzervativno liječeni. Iz navedenog proizlazi zaključak, što je ujedno i uputa za praktičan rad.

U slučajevima uspješno završene terapije frakturiranih mladih trajnih zubi metodom vitalne amputacije pulpe, nije opravdano rutinsko sprovođenje vitalne ekstirpacije pulpe u preventivne svrhe, te stoga taj postupak treba izbaciti iz svakodnevne prakse.

Pulpa koja ima tako snažnu obrambenu moć da se može oduprijeti djelovanju traume, medikamenta i samog kirurškog zahvata, te nakon toga izvršiti svoju funkciju u apeksogenezi i apeksifikaciji zuba, a uz to pokazuje još i kliničke znakove zdravlja, svakako je najidealnije, najbiološkije i najvjerodostojnije punjenje toga zuba.

CLINICAL AND HISTOLOGICAL EXAMINATION OF YOUNG PERMANENT TEETH AFTER VITAL AMPUTATION OF THE PULP

Summary

Nowadays the vital pulpotomy is applied as the most biological therapy method in the therapy of complicated fractures of young permanent teeth. When the process of apexogenesis and apexification is completed, the extirpation of the radicular pulp is recommended, as there are doubts that degenerative and pathological changes might have occurred in the very pulp. The aim of this research was to histologically analyse the pulp of such teeth. To this purpose thirteen samples of human pulp, which were extirpated from clinically healthy teeth, were analysed; these teeth were successfully treated by means of vital amputation.

The results showed that within these pulps there were no changes such as inflamed cells, calcification, changes in the number of cells and in the amount of collagen fibres, to a much greater extent than what would be found in intact teeth or in teeth treated conservatively.

From the above we can draw conclusions, as well as use it as guidance in practical work: in cases of successful therapy of fractured young permanent teeth the vital extirpation of the pulp as preventive measure is not justified. Such a tooth has to be watched clinically and radiographically throughout a longer period of time.

Key words: Complicated fractures, young permanent teeth, vital pulpotomy apexification, histologically analyse of the pulp

Literatura

1. PEĆINA-HRNČEVIĆ A, VLASAC-JURANOVIĆ R. Ozljede zubi u dječjoj dobi. Arhiv ZMD 1986; 30:215—227.
2. THÄTER M, MARECHAUX SC. Induced root apexification following traumatic injuries of the pulp in children: follow-up study. J Dent Child 1988; 55: 190—194.
3. SCHRODER U, GRANATH L. Scanning electron microscopy of hard tissue barrier following experimental pulpotomy of intact human teeth and capping with calcium hydroxide. Odont Rev 1972; 23:211—220.
4. GVOZDENOVIĆ-SEDLACKI S, QUIST V, HANSEN H. Histologic variations in the pulps of intact premolars from young individuals. Scand J Dent Res 1973; 81:433—440.
5. SEDLACKI S, KARADŽOV, JANJETOVIĆ. Histološka ispitivanja vlakana pulpe u osoba raznog doba života. U: Zbornik radova I, VI Kongres stomatologa Jugoslavije. Budva 1976: 419—423.
6. SHAFER G W, HINE K M, LEVY B M. A Textbook of Oral pathology. Toronto: Saunders Co 1983; 325—328.
7. LANGELAND K. Human pulp changes of iatrogenic origin. Oral Surg 1971; 32—918.
8. SCHRODER U. Effects of calcium hydroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation and differentiation. J Dent Res 1985; 64:541—548.
9. SELTZER S, BENDER I B, KAUFMAN I J. Histologic changes in dental pulps of dog and monkeys following application of pressure, drugs, and microorganisms on prepared cavities. Part II. Changes observable more the one month after application of traumatic agents. Oral Surg 1961; 14:856—867.
10. WILLMAN S, HILL D. IN SHAFER G W, HINE K M, LEVY B M. A Textbook of Oral Pathology. Toronto: Saunders Co 1983; 325—328.
11. CVEK M, LANDBERG M. Histological appearance of pulps after exposure by a crown fracture, partial, pulpotomy, and clinical diagnosis of healing. J Endod 1983; 9 (1):8—11.
12. Mc CORMICK F E. Calcium hydroxide pulpotomy: report of a case observed

- from nineteen years. *Journal of dentistry for children* 1981; May-June: 222—225.
13. KOSTIĆ-ČERNON M. Primena VAP-a u terapiji traumatskih fraktura III klase stalnih zuba u dece više časova ili dana od povrede. U: *Zbornik radova II, VI Kongres stomatologa Jugoslavije*. Budva: 1976; 120.
 14. PEĆINA-HRNČEVIĆ A. Značaj vitalne amputacije pulpe u liječenju kompliciranih faktura mladih trajnih zubi. U: *Zbornik sažetaka Stomatološki dani Hrvatske*. Zagreb: 1983; 14.
 15. PATTERSON S S. Pulp calcification due to operative procedures pulpotomy. *Int Dent J* 1967; 17:490—505.
 16. GRANTH L E, HAGMAN G. Experimental pulpotomy in human bicuspid with reference to cutting technique. *Acta Odontol Scand* 1971; 29:155—163.
 17. FRANK L A. Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. *J Amer dent Ass* 1966; 72: 87—93.
 18. ZANDER H A. Reaction of the pulp to calcium hydroxide. *J Dent Res* 1939; 18:373—379.
 19. BRONNER F. Dynamics and function of calcium. In *mineal metabolism: An advanced treatise*. Vol 2 Elements Part A. Academic Press, Inc. New York: 1964
 20. PATTERSON S S, MITCHELL D F. Calcific metamorphosis of the dental pulp. *Oral Surg* 1965; 20:94—101.