

* S. Kakehashi
 ** H.R. Stanley
 *** R.J. Fitzgerald

*D.D.S., M.S., B.S.
 Oral Medicine and Surgery Branch
 National Institute of Dental Research
 **D.D.S., M.S., B.S.
 Chief, Oral Medicine and Surgery Branch
 National Institute of Dental Research

***Ph. D., M.S., B.S.
 Chief, Gnotobiotics Section
 Laboratory of Microbiology
 National Institute of Dental Research

Lavoro tradotto

Gli effetti dell'esposizione chirurgica della polpa dentale nei ratti germ-free e in quelli normali

The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats

RIASSUNTO

Scopo di questo studio era quello di osservare i cambiamenti patologici in polpe sperimentalmente esposte e non trattate in ratti germ-free e in ratti normali di controllo che presentavano una normale complessa microflora. I tessuti pulpari di questi ratti sono stati esposti praticando un foro nella superficie occlusale del primo molare mascellare destro con una fresa rotonda al carburo montata su un mandrino d'orecchio. In tempi successivi dopo l'intervento (1-42 giorni) gli animali furono sacrificati ed i tessuti interessati furono sezionati.

Negli animali normali all'ottavo giorno rimaneva tessuto pulpare vitale solo nella parte apicale delle radici. Una totale necrosi pulpare con granuloma e formazione di ascessi si verificava nei campioni più vecchi. In tutti mancavano segni di riparazione.

Al contrario, negli animali germ-free non sono state trovate polpe devitalizzate, granulomi apicali, né ascessi. I ponti dentinali cominciavano a formarsi a 14 giorni e tra il 21° e il 28° giorno risultavano completi a prescindere da qualsiasi angolo o gravità di esposizione.

Questi risultati, anche in presenza di cibi impattati, indicano che la presenza o l'assenza di flora microbica è un fattore importantissimo nella guarigione di polpe esposte nei ratti.

Parola chiave: Biologia pulpare.

SUMMARY

The purpose of this study was to observe the pathologic changes resulting from untreated experimental pulp exposures in germ-free rats as compared with conventional rats with a normally complex microflora. The pulp tissues of these rats were exposed by drilling through the occlusal surface of the maxillary right first molar with a carbide round bur mounted in a jeweler's spindle-topped hand mandrel. After varying postoperative time intervals (1 to 42 days), the animals were killed and the appropriate tissues were serially sectioned.

By the eighth day, vital pulp tissue remained only in the apical half of the roots in the conventional animals. Complete pulpal necrosis with granulomas and abscess formation occurred in all older specimens. Evidence of repair was uniformly lacking.

In contrast, no devitalized pulps, apical granulomas, or abscesses were found in the germ-free animals. Dentinal bridging began at 14 days and by 21 and 28 days was complete, regardless of the angle or severity of the exposure.

These results, even in the face of gross food impactions, indicate that the presence or absence of a microbial flora is the major determinant in the healing of exposed rodent pulps.

Key word: Pulp biology.

INTRODUZIONE

Il problema di mantenere la vitalità di una polpa dentale clinicamente esposta con varie procedure conservative per incoraggiare lo sviluppo di ponti dentinali è stato argomento di numerosi studi. L'imprevedibilità dei risultati di questi interventi, tuttavia, è stata fonte di sgomento per la maggior parte degli operatori. Nei casi in cui le esposizioni pulpari sono state trattate con successo, una considerevole parte di questo successo è stata attribuita allo straordinario

grado di resistenza del tessuto pulpare. Fra le cause di una mancata formazione di un sigillo di tessuto mineralizzato vanno incluse l'età del paziente, il grado di trauma chirurgico, l'eccessiva pressione durante la sigillatura, un'errata scelta di medicazione, l'infezione batterica e una bassa soglia di resistenza dell'ospite.

A causa dei frequenti insuccessi avuti dopo l'incappucciamento di polpe dentali con infezione acuta o cronica, a prescindere da tutte le altre condizioni, questi casi particolari non vengono più presi in considerazione per questo tipo di intervento. I microorganismi presenti in queste polpe esposte

Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. Gli effetti dell'esposizione chirurgica della polpa dentale nei ratti germ-free e in quelli normali. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 20 (3): 340-349

con infiammazione acuta o cronica sono ritenuti essere la principale causa di insuccessi dei tentativi di ponti dentinali. Per studiare in modo conclusivo l'influenza dei microorganismi vitali sul destino di una polpa esposta chirurgicamente, è stato condotto uno studio che utilizzava animali germ-free.

MATERIALI E METODI

Trentasei ratti Fisher di 7 settimane, divisi in parti uguali secondo il sesso, sono stati

usati per questo esperimento. Il gruppo era composto di 21 animali germ-free, e di 15 animali normali di controllo. I ratti germ-free sono stati tenuti in un sistema germ-free Reynier. Sia i ratti germ-free che i ratti normali sono stati nutriti con mangime sterilizzato Purina 5010 ed acqua distillata.

Gli animali furono anestetizzati con un'iniezione intraperitoneale di pentobarbitale di sodio (4 mg per ogni 100 g di peso corporeo). Con una fresa rotonda di carburo (1/2 misura), montata su un mandrino d'orecchio è stato effettuato un buco attraverso smalto e dentina occlusale del primo molare mascellare destro per esporre il tessuto pulpare. Si cercava di limitare l'ingresso della fresa alla porzione coronale del dente (Fig. 1-A e B).^{*} In molti casi, però, la corona veniva perforata accidentalmente lateralmente o apicalmente (Fig. 1-C). Nessun tentativo è stato fatto per restaurare o sigillare l'esposizione; pertanto, cibi, detriti, e micro-organismi contaminanti (negli animali normali) potevano essere impattati nei tessuti pulpari. Gli animali venivano sacrificati tra 1 e 42 giorni dopo l'intervento. Quindi veniva rimosso un blocco del quadrante mascellare destro e fissato in formalina. I tessuti venivano sezionati su un piano mesio-distale con uno spessore di 6 micron e colorati con ematossilina-eosina, tricromica di Masson, Giemsa, e Brown e Brenn.

^{*}Tutte le illustrazioni mostrano sezioni microscopiche colorate con ematossilina-eosina se non altrimenti espresso.

RISULTATI

Animali normali di controllo

Le sezioni seriate totali dei 15 animali normali sono state studiate al microscopio. La polpa era esposta sulle superfici occlusali di tutti i primi molari e c'erano perforazioni fino alle superfici prossimali, linguali, o apicali di vari gradi, in 8 campioni.

Tutte le cavità occlusali erano ripiene di cibo e detriti. Campioni presi all'ottavo giorno dell'esperimento mostravano tessuto pulpare vitale soltanto nella parte apicale della radice mentre le parti coronali della polpa risultavano necrotiche e purulente

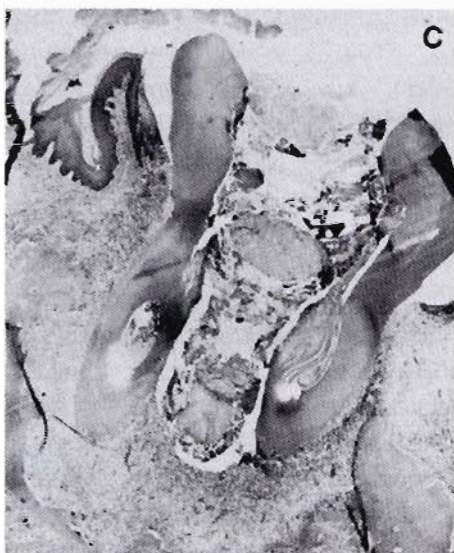
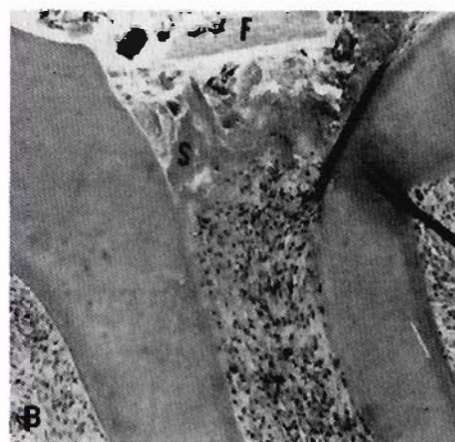
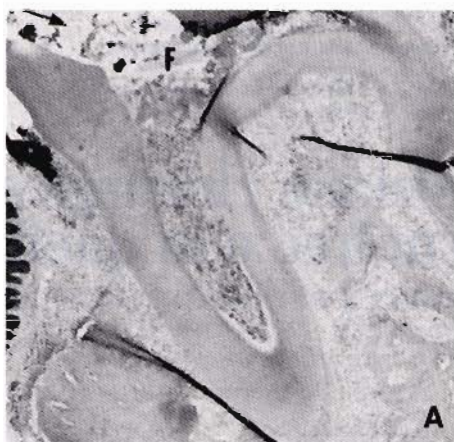
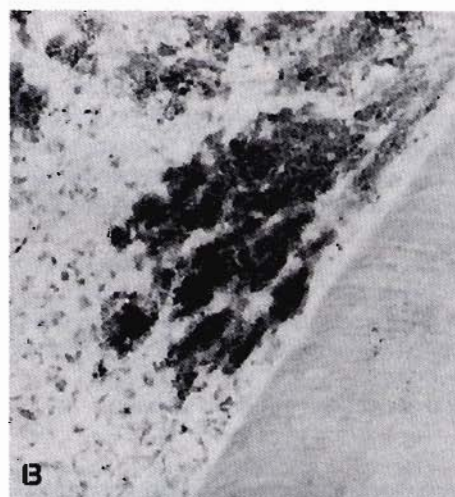


Fig. 1 - A: Campione D63-250-7-15, GFP44, N. 1, a 7 giorni dall'intervento. L'esposizione chirurgica intenzionale (freccia) del primo molare in un campione germ-free. Detriti alimentari sono stati forzati all'interno del dente esposto e nel tessuto pulpare. (Ingrandimento x 40; ridotto 1/4).

B: Maggior ingrandimento del campione mostrato in A. Si vedono detriti alimentari (F) e spicole dentali (S) all'interno della camera pulpare. (Ingrandimento x 100; ridotto 1/4).

C: Campione D63-253-7-6, GFC44, N. 2, a 8 giorni dall'intervento. Campione di controllo con perforazione che attraversa la camera pulpare coronale fino all'area interradicolare. I detriti sono all'altezza degli apici radicolari. (Ingrandimento x 35; ridotto 1/4).



(Fig. 2-A). Spesso si osservavano colonie di micro-organismi (Fig. 2-B).

Le sezioni dei primi molari di tutti i campioni presi dopo l'ottavo giorno mostravano senza eccezioni la totale necrosi della polpa con presenza di tessuto infiammatorio cronico e formazione di ascessi nelle zone apicali (Fig. 3). Alcuni campioni mostravano micro-organismi nei tessuti oltre il forame apicale (Fig. 4). Un campione ha rilevato un pelo incastrato che aveva attraversato il canale pulpare per giungere all'area periapicale (Fig. 5-A). Ascessi sono stati riscontrati

Fig. 2 - A: Campione D63-252-5-15, GFC44, N. 1, a 8 giorni dall'intervento. Campione di controllo dove si vedono l'esposizione pulpare e la radice linguale. Notare l'unione tra tessuto necrotico e vitale nel canale radicolare linguale. Si vedono cellule dell'infiammazione acuta che infiltrano il tessuto necrotico e quello vitale. (Ingrandimento x 100; ridotto 1/4).

B: Una sezione adiacente al campione mostrato in A, colorata con Giemsa per evidenziare colonie di micro-organismi nel tessuto necrotico. (Ingrandimento x 450; ridotto 1/4).

anche ai forami accessori (Fig. 5-B). In un campione cominciava a formarsi uno strato epiteliale all'interno di un granuloma apicale. Sono state viste cellule schiumose simili a quelle trovate nei granulomi dentali dell'uomo (Fig. 6).

In nessun caso i tessuti pulpari lesionati hanno mostrato segni di riparazione. In particolare mancava la formazione della matrice e un inizio di ponti dentinali.

Quando si verificavano delle involontarie perforazioni, la penetrazione di cibi e detriti all'interno dei tessuti parodontali provocava una risposta infiammatoria che iniziava con una proliferazione dei residui epiteliali del Malassez. Queste zone proliferanti di epitelio si univano per avvolgere le sostanze penetrate con formazione di lesioni parodontali e tasche. Le sezioni periferiche di tali lesioni rilevavano una migrazione apicale dell'attacco epiteliale. Simili lesioni parodontali avvenivano anche negli animali germ-free (Fig. 7-A e B).

Animali da esperimento germ-free

Dei ventun animali germ-free 18 sono sopravvissuti agli interventi. Nonostante le esposizioni pulpari e le frequenti grandi perforazioni dei primi molari, non è stata

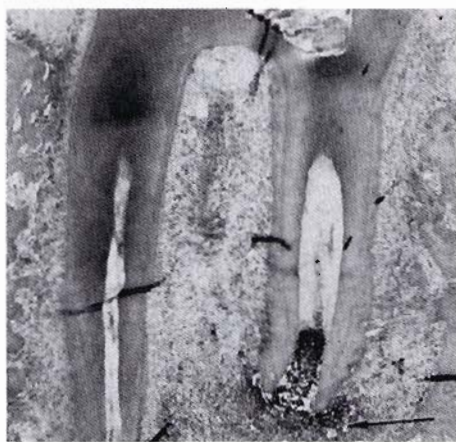


Fig. 3 - Campione D63-266-5-2, GFC44, N.5, a 14 giorni dall'intervento. Un campione di controllo che mostra la totale necrosi pulpare in entrambe le radici con formazione di ascesso apicale (vedi freccia). (Ingrandimento x 40; ridotto 1/4).

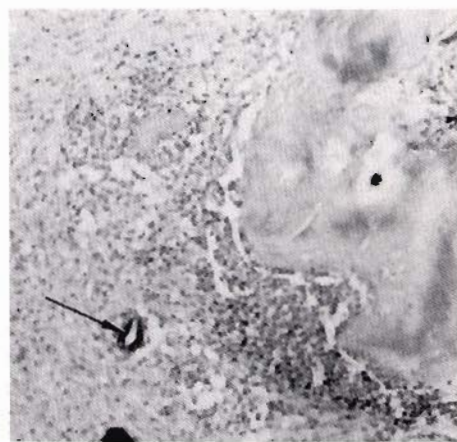


Fig. 4 - Campione D63-285-15, GFC44, N.17, a 41 giorni dall'intervento. Un campione di controllo colorato con Brown e Brenn che evidenzia due colonie di microorganismi nel tessuto periapicale (freccie). (Ingrandimento x 440; ridotto 1/4).

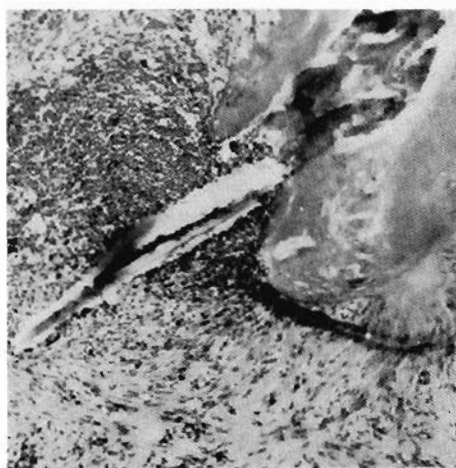
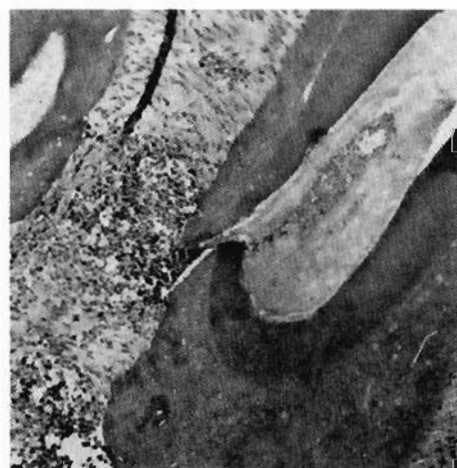


Fig. 5 - A: Campione D63-286-6-11, GFC44, N. 18, a 41 giorni dall'intervento. Un campione di controllo con un pelo sporgente dal forame, apicale e circondato da leucociti. Si vedono masse di microorganismi nel canale radicolare. (Ingrandimento x 100; ridotto 1/4).



B: Campione D63-286-2-28, GFC44, N. 20, a 41 giorni dall'intervento. Un campione di controllo con polpa necrotica collegata ad un ascesso del legamento parodontale attraverso un canale accessorio. (Ingrandimento x 100; ridotto 1/4).

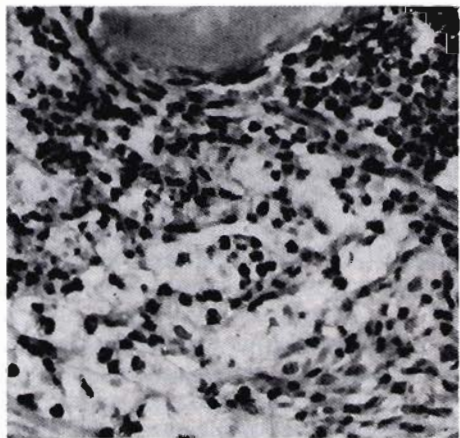


Fig. 6 - Campione D63-286-14-5, GFC44, N. 18, a 41 giorni dall'intervento. Un campione di controllo con una lesione apicale che mostra le tipiche cellule schiumose così frequentemente osservate nei granulomi dentali dell'uomo. (Ingrandimento x 440; ridotto 1/4).

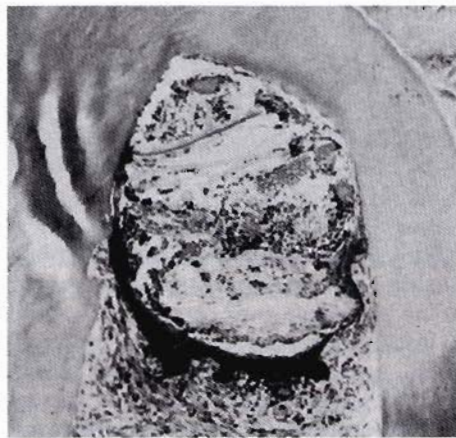
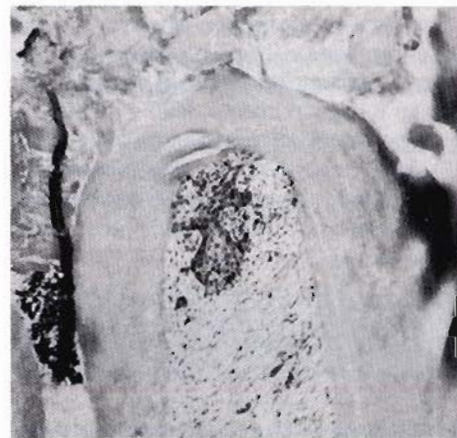


Fig. 7 - A : Campione 630631-1-5, GFP44, N.4 a, 14 giorni dall'intervento. Un campione germ-free nel quale la perforazione del fondo della camera ha permesso al cibo e detriti di impattarsi nell'area interradicolare e ha stimolato la proliferazione di epitelio. (Ingrandimento x 100; ridotto 1/4).



B: Campione 630643-11-8, GFC44, N.10, a 28 giorni dall'intervento. Un campione di controllo nel quale la perforazione del fondo della camera ha stimolato la proliferazione di epitelio.

osservata nessuna polpa completamente devitalizzata in nessuno degli animali germ-free. L'infiammazione pulpale che risultava dopo l'esposizione era minima in ogni campione. Non è stato trovato nessun ascesso apicale.

Ponti dentinali erano già evidenti a 14 giorni, accompagnati da una notevole quantità di formazione di matrice (Fig. 8-A e B). I campioni più vecchi presentavano la formazione della matrice che copriva o sigillava completamente l'esposizione. In tutti i casi il tessuto pulpale rimaneva vitale sotto il ponte dentinale riparativo appena formato. I ponti si formavano sempre indifferentemente dall'angolo o dalla severità dell'esposizione (Fig. 9-A e B). Man mano che aumentava il tempo dall'intervento, veniva osservata una graduale riduzione della camera pulpale con nuova matrice, che conteneva molte inclusioni cellulari (Fig. 10-A). I campioni post-intervento più vecchi mostravano depositi di matrice che riempivano l'intera camera coronale ed i canali radicolari. Alle volte persino i canali laterali nella zona apicale della radice come risposta all'esposizione occlusale (Fig. 10-B).

Nei casi in cui si tagliava di netto una radice durante le manovre di esposizione pulpale, la polpa della radice staccata manteneva la sua vitalità (Fig. 11). Quando le perforazioni permettevano la penetrazione di cibi e detriti nel profondo del tessuto parodontale, le risposte infiammatorie che si avevano causavano il riassorbimento delle radici anche se la polpa radicolare rimaneva vitale (Fig. 12). Man mano che la radice si riassorbiva, nuova matrice ossea veniva depositata per compensare la riduzione della grandezza della radice.

DISCUSSIONE

Il limitato successo del trattamento di polpe esposte con tecniche di incappucciamento ha ridotto la scelta dei denti per questa terapia alla sola dentizione negli adolescenti. I successi a quest'età sono stati attribuiti in prevalenza alla presenza di un'abbondante irrorazione sanguigna pulpale dovuta alla incompleta formazione radicolare.

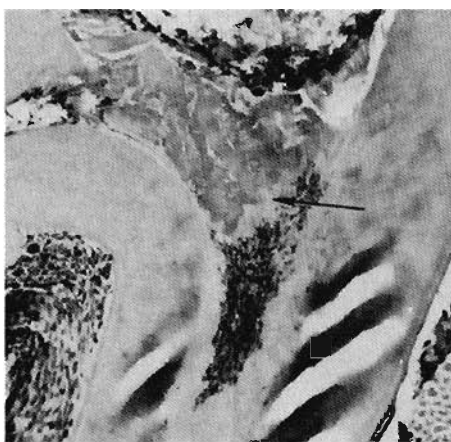
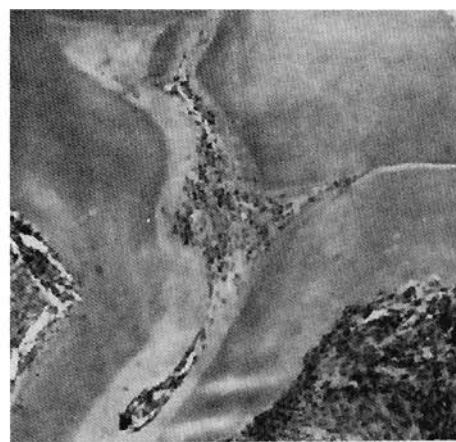


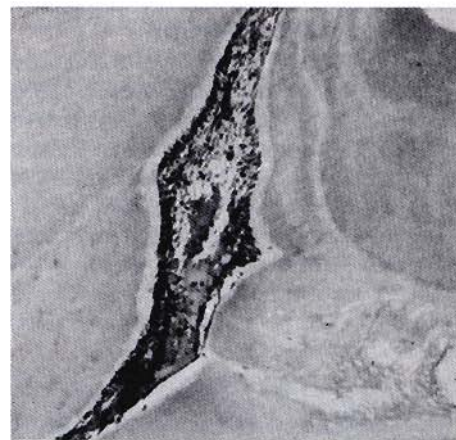
Fig. 8 - A: Campione 630630-4-2, GFP44, N. 3, a 14 giorni dall'intervento. Un campione germ-free con cibo e detriti nell'esposizione occlusale. Si vedono dettagli del nucleo di tessuto pulpale sopravvissuto al di sotto del ponte di frammenti dentinali uniti da nuova matrice (freccia). (Ingrandimento $\times 100$; ridotto 1/4).



Fig. 9 - A: Campione 630631-7-3, Masson GFP44, N. 4, a 14 giorni dall'intervento. In un campione germ-free, nonostante una grande perforazione e l'esposizione pulpale, è evidente un ponte perpendicolare (freccia). Si verifica inoltre, sulle superfici adiacenti la produzione di matrice. (Ingrandimento $\times 100$; ridotto 1/4).



B: Un'altra sezione del campione germ-free illustrato in A, che mostra formazione di matrice che riempie la camera pulpale. Lo stimolo causa la formazione di matrice su tutte le superfici. Si vede un pezzetto di dentina fratturata che contribuisce alla formazione del ponte. (Ingrandimento $\times 100$; ridotto 1/4).



B: Campione 630636-10-4, GFP44, N. 9, a 32 giorni dall'intervento. Nel campione germ-free, si nota la completezza del ponte con presenza di tessuto pulpale vitale non infiammato. Il ponte può formarsi con qualsiasi angolo. (Ingrandimento $\times 100$; ridotto 1/4).

Dall'altra parte, lo studio retrospettivo degli insuccessi delle tecniche di incappucciamento della polpa sono pieni di empirismo. Molti dei fattori supposti cause di insuccesso dovrebbero essere riesaminati criticamente. È interessante notare che in una qualsiasi persona, di qualsiasi età e stato di salute, due denti simili con analoghe storie di insulti al dente, di sintomi clinici e trattamenti, possano prendere due strade diametralmente opposte che vanno da un successo strepitoso alla comparsa di pulpite seguita da necrosi e formazione di ascesso periapicale. È possibile che, nonostante le ovvie similarità tra i due denti, l'operatore non riesca minimamente a spiegarsi i cambiamenti degenerativi della polpa del dente che ha subito un insuccesso. Per il clinico, tuttavia, esiste la possibilità di un'insospettabile infe-

zione batterica dovuta alla condizione patologica presente oppure alle manipolazioni richieste. Negli animali da laboratorio, i classici esperimenti fatti da Boling e Robinson hanno mostrato che l'integrità di una polpa dentale esposta può essere mantenuta dopo un serio insulto solo in assenza di infezione batterica.

Sottolineiamo che per i nostri esperimenti le condizioni sono state create di proposito per confrontare gli effetti sulla guarigione della polpa di due ambienti microbiologici estremi, cioè la totale assenza di batteri da un lato contro un ambiente contaminato dall'altro. Nessun tentativo terapeutico è stato fatto per influenzare il procedimento riparativo. In queste condizioni i risultati indicano il maggior significato del ruolo dei micro-organismi nella riparazione di polpe

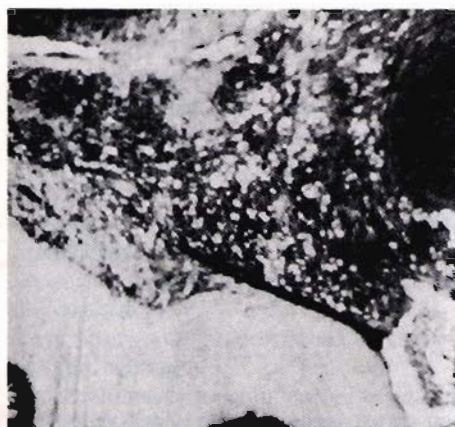
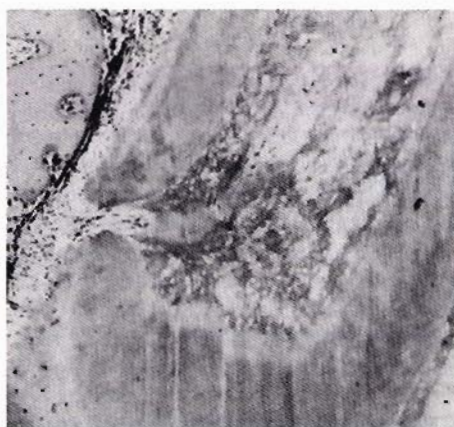


Fig. 10 - A : Campione 630638-12-3, Masson, GFP44, N. 11, a 32 giorni dall'intervento. In un campione germ-free, da notare l'obliterazione della camera pulpare coronale con formazione di matrice e il numero di lacune nelle inclusioni cellulari dentro la matrice. (Ingrandimento x 100; ridotto 1/4).

B : Campione 630635-19-6, GFP44, N. 8, a



Fig. 11 - Campione 630632-8-4, GFP44, N. 5, a 14 giorni dall'intervento. Un campione germ-free, mostra il distacco della radice. Ciò nonostante, il tessuto pulpare rimasto nella radice staccata è rimasto vitale. Notare i frammenti dentinali che vengono ricoperti da nuova matrice. (Ingrandimento x 100; ridotto 1/4).



32 giorni dall'intervento. In un campione germ-free, si è verificata la graduale oblitterazione della camera pulpare e dei canali radicolari. Qui è evidente l'oblitterazione del canale radicolare che causava la costrizione di un canale accessorio. Notare le tante inclusioni cellulari. (Ingrandimento x 100; ridotto 1/4).

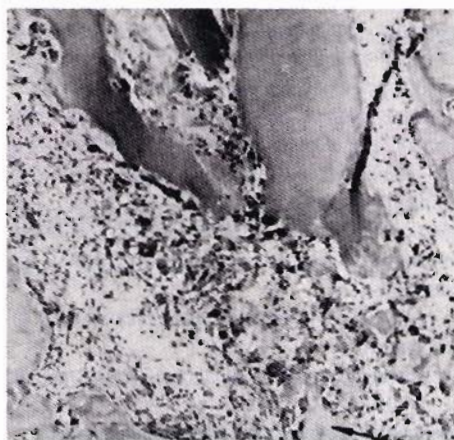


Fig. 12 - Campione D63-251-11-11, GFP44, N. 2, a 7 giorni dall'intervento. Un campione germ-free dove c'è stata una perforazione che ha permesso al cibo e ai detriti di essere incanalati nel tessuto parodontale più profondo. L'infiammazione che ne deriva ha causato il riassorbimento della radice anche se la polpa nel canale radicolare rimane vitale. Man mano che la radice viene riassorbita, nuovo osso alveolare viene depositato (freccia) per compensare la diminuzione di volume della radice. (Ingrandimento x 100; ridotto 1/4).

esposte e gravemente danneggiate. Nonostante il grave trauma chirurgico complicato da cibi e detriti impattati nei tessuti, gli animali germ-free mostravano un recupero e una risposta riparativa con ponti dentinali. Al contrario, negli animali di controllo nelle stesse condizioni, la situazione peggiorava progressivamente da un'iniziale grave infiammazione della polpa a una totale necrosi. Poiché non è possibile dire quali delle molte specie microbiche presenti fossero più responsabili per le situazioni verificatesi, si conclude che le attuali tecniche per trattare una polpa esposta devono essere criticamente revisionate per includere delle metodiche ottimali per eradicare il maggior numero possibile di batteri.

Adattamento di Matteo Capelli.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - Rapoport L, Abramson II. Application of Steroid Hormones in Pulp-capping and Pulpotomy Procedures, *Oral Med Oral Surg Oral Pathol* 1958; 11: 545-548
- 2 - Rosenstein SN. Pulp Capping in Deciduous Teeth. Report of a Ten-year Study, *J Am Dent* 1942; 29: 1632-1643
- 3 - Zander HA. Reaction of the Pulp to Calcium Hydroxide. *JD Res* 1939; 18: 373-379
- 4 - Zander HA, Glass RL. The Healing of Phenolized Pulp Exposures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1949; 2: 803-810
- 5 - Ellis RG. *The Classification and Treatment of Injuries to Teeth of Children*. ed. 4. Chicago: Year Book, Publishers I, 1960
- 6 - Sommer RF, Ostrander FD, Crowley MC. *Clinical Endodontics*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1956
- 7 - Boling LR, Robinson HBG. The Anachoretic Effect in Pulpitis. *Arch Path* 1942; 33: 477