

ΠΡΩΤΟΤΥΠΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ακτινική βλάβη του οδοντικού πολφού σε θεραπευτικές δόσεις ακτινοβολίας-γ. Πειραματική μελέτη σε επίμυες*

Στ. Στεφανίδης¹, Αγ. Γκινάλης², Μ. Δερμεντζοπούλου², Μ. Κανελλάκη- Κυπαρίσση²

¹ Οδοντιατρικό Τμήμα, Ιπποκράτειο Γ.Ν., Θεσσαλονίκη

² Εργαστήριο Ιστολογίας, Εμβρυολογίας και Ανθρωπολογίας, Ιατρικού τμήματος Α.Π.Θ.

Σκοπός της πειραματικής αυτής εργασίας ήταν η εκτίμηση των ιστολογικών αλλοιώσεων στον οδοντικό πολφό, που συσχετίζεται με θεραπευτική δόση ακτινοβολίας-γ. Δεκαέξι ενήλικες επίμυες της φυλής Wistar ακτινοβολήθηκαν με εφάπαξ δόση 2.000 cGy από συσκευή Co-60, στην περιοχή της κάτω γνάθου. Θυσιάστηκαν ανά δύο, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75, και 90 ημέρες μετά την ακτινοβόληση. Αφαιρέθηκαν οι πολφοί από τους τομείς και μονιμοποιήθηκαν σε διάλυμα φρομαλδεϋδης. Οι τομές χρωματίστηκαν με χρώσεις Ηωσίνης - Αιματοδεξιλίνης και Gomori. Παρατηρήθηκαν τα παρακάτω ιστολογικά ευρήματα:

1) Διάχυτο οίδημα του συνδετικού ιστού και του

περιαγγειακού χώρου. 2) Προοδευτική στένωση του αυλού των μικρών αγγείων λόγω πάχυνσης του τοιχώματός τους, μετά την 25^η ημέρα. 3) Απόφραξη του αυλού σε σημαντικό ποσοστό μικρών αγγείων, μετά την 75^η ημέρα. 4) Εμφάνιση νεόπλαστων τριχοειδών αγγείων, κυρίως στην περιφέρεια του πολφού, μετά την 25^η ημέρα. 5) Ο αριθμός των ινοβλαστών και των ινών συνδετικού ιστού στο πολφικό παρέγχυμα παρουσιάσθηκε σημαντικά αυξημένος μετά την 45^η ημέρα. 6) Παρατηρήθηκε υαλοειδής εκφύλιση στο κυτταρόπλαστα των οδοντινοβλαστών, εντοπιζόμενη κυρίως στο επιπολής τμήμα των κυττάρων.

Ιπποκράτεια 2002, 6 (3): 137-141

Τα νεοπλάσματα της τραχηλοπροσωπικής χώρας είναι μετρίως ακτινοευαίσθητα. Τα περισσότερα αντιμετωπίζονται με συνδυασμό χειρουργικής και ακτινοθεραπείας. Η τελευταία χορηγείται συνήθως μετεγχειρητικά και αποσκοπεί στην καταστροφή των νεοπλασματικών κυττάρων που παρέμειναν στα δρια του χειρουργικού πεδίου, καθώς και αυτών που διήθησαν σε υποκλινικό επίπεδο τους επικράτιους λεμφαδένες¹.

Η συνολική δόση της χορηγούμενης ακτινοβολίας κυμαίνεται από 6500 cGy ως 8000 cGy, κατατετμημένη σε συνεδρίες των 180 – 200 cGy^{2,3}.

Η ακτινοβόλος δέσμη εναποθέτει ενέργεια και στους υγιείς ιστούς που περιλαμβάνονται στο ακτινοβολούμενο πεδίο, μεταξύ των οποίων και ο οδοντικός πολφός, προκαλώντας ανεπιθύμητες αντιδράσεις⁴.

Υλικό και μέθοδος

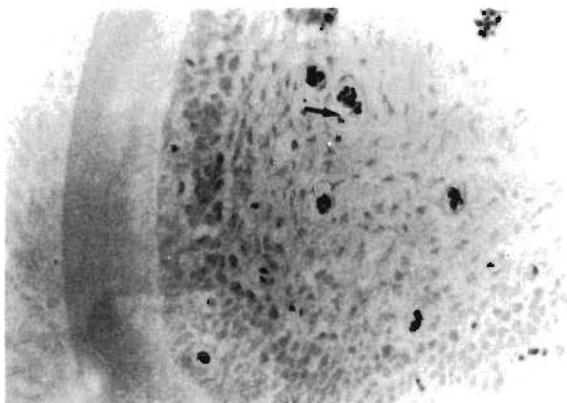
Χρησιμοποιήθηκαν 24 άρρενες λευκοί επίμυες

της φυλής Wistar, ηλικίας 14 εβδομάδων.

Την 1^η ημέρα του πειράματος, 16 πειραματόζωα ακτινοβολήθηκαν στη περιοχή της κάτω γνάθου με εφάπαξ δόση 2000 cGy ακτινοβολίας- γ προερχόμενης από συσκευή Co-60, με ωυθμό δόσης 198 cGy / min και απόσταση πηγής- δέρματος (SSD) 80 cm. Ο χρόνος ακτινοβόλησης ήταν 10 min και 6 sec σε πεδίο διαστάσεων 16 X 16 cm. Χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Alcyon II του οίκου General Electric, του Θεαγενείου A.N. Θεσσαλονίκης.

Τα πειραματόζωα αναισθητοποιήθηκαν και ακινητοποιήθηκαν ανά τετράδες σε ειδικά σχεδιασμένη συσκευή, η οποία έφερε θωράκιση μολύβδου πάχους 60 mm, αφήνοντας εκτεθειμένη στην ακτινοβόλο δέσμη αποκλειστικά την περιοχή της κάτω γνάθου. Ως αναισθητικό χρησιμοποιήθηκε νατριούχος θειοπεντάλη σε δόση 5 mg / 100 gr βάρους σωμάτος (Pentothal, του οίκου Abbott).

* Η πειραματική μελέτη εκπονήθηκε βάσει της 17/14-6-99 Απόφασης του Δ.Σ. του Ιπποκράτειου Γ.Ν.Θ. Μέρος των αποτελεσμάτων της δημοσιεύονται με την παρούσα εργασία.



Εικόνα 1. Οίδημα στον περιαγγειακό χώρο (15^η ημέρα) Αιματοξυλίνη - Ηωσίνη X 160

Η μέγιστη απορρόφηση από τους μαλακούς ιστούς, της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από συσκευή Co-60, λαμβάνει χώρα σε βάθος 5 mm περίπου από την επιφάνεια του δέρματος⁵. Έτσι, υπολογίζόμενον του πάχους των μαλακών μορίων που καλύπτουν τη κάτω γνάθο του επίμυος σε 4 mm και τοποθετούμενων των πειραματόζωων με την αριστερή πλευρά απέναντι από τη πηγή, το δεξιό ημιμόριο της γνάθου απορροφούσε το σύνολο της δόσης.

Για τον υπολογισμό της εφάπαξ δόσης χρησιμοποιήθηκε η έννοια της Nominal Standard Dose (NSD) η οποία βάσει του τύπου:

$$D = NSD \times N^{0.24} \times T^{0.11}$$

όπου: D : η συνολική δόση

N : ο αριθμός των συνεδριών

T : η συνολική διάρκεια της ακτινοθεραπείας σε ημέρες

είναι η εφάπαξ δόση που προκαλεί το αυτό βιολογικό αποτέλεσμα στους υγιείς ιστούς με μία συνολική δόση κατατετμένη σε συνεδρίες^{6,7}. Σύμφωνα με τα παραπάνω, η εφάπαξ δόση των 2000 cGy έχει το αυτό βιολογικό αποτέλεσμα στους υγιείς ιστούς με συνολική δόση 7400 cGy, χορηγούμενη με ρυθμό 200 cGy ανά συνεδρία και με 5 συνεδρίες την εβδομάδα.

Τα πειραματόζωα θυσιάστηκαν ανά 2 την 15^η, 20^η, 25^η, 30^η, 45^η, 60^η, 75^η και 90^η ημέρα του πειράματος.

Οκτώ πειραματόζωα χρησιμοποιήθηκαν σαν μάρτυρες και θυσιάστηκαν ανά ένα τις παραπάνω μέρες αντίστοιχα.

Ελήφθη το παρασκεύασμα της κάτω γνάθου από το κάθε πειραματόζωο. Το παρασκεύασμα διαχωρίστηκε στα δύο ημιμόρια και στο δεξιό ημιμόριο



Εικόνα 2. Οίδημα στον συνδετικό ιστό του πολφού (30^η ημέρα) Αιματοξυλίνη - Ηωσίνη X 160

ακολούθησε κάθετη τομή, εγγύς του πρώτου γομφίου, που επέτρεπε προσπέλαση στο ακρορροϊο του τομέα. Ακολούθησε έγχυση στην πολφική κοιλότητα διαλύματος γλουταραλδεϋδης 5%. Μετά από 30 sec ο πολφικός ιστός αποκτούσε σχληρή υφή και αφαιρείτο με χρήση πολφούλκου No 15. Τα παρασκευάσματα του πολφικού ιστού μονιμοποιήθηκαν σε υδατικό διάλυμα φορμαλδεϋδης 10%. Ελήφθησαν εγκάρσιες τομές πάχους 6 μ. Χρωματίστηκαν με χρώσεις Αιματοξυλίνης - Ηωσίνης και Gomori. Παρατηρήθηκαν στο οπτικό μικροσκόπιο και ελήφθησαν φωτογραφίες.

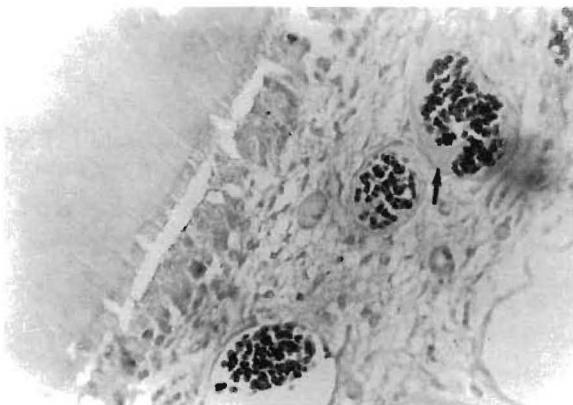
Αποτελέσματα

Από την ιστολογική εξέταση προέκυψαν τα παρακάτω ευρήματα:

- 1) Διάχυτο μεσοκυττάριο οίδημα του πολφού που υποχώρησε σταδιακά μετά την 30^η ημέρα (εικόνες 1,2). 2) Σταδιακή πάχυνση του τοιχώματος των αρτηριδίων από την 20^η ημέρα με προοδευτική στένωση και απόφραξη των αυλών μετά την 75^η ημέρα (εικόνες 3,4 και 5). 3) Εμφάνιση νεόπλαστων τριχοειδών αγγείων στην περιφέρεια του πολφού μετά την 25^η ημέρα (εικόνα 6). 4) Κυτταροβρίθεια στο συνδετικό υπόστρωμα από την 20^η ημέρα με ινοβλαστική δραστηριότητα που προκάλεσε αύξηση της πυκνότητας των δικτυωτών ινών μετά την 45^η ημέρα (εικόνα 7). 5) Υαλοειδής εκφύλιση στο κυτταρόπλασμα των οδοντινοβλαστών, εντοπιζόμενη κυρίως στο επιπλήγτικο τριτημόριο (εικόνες 3,7).

Συζήτηση

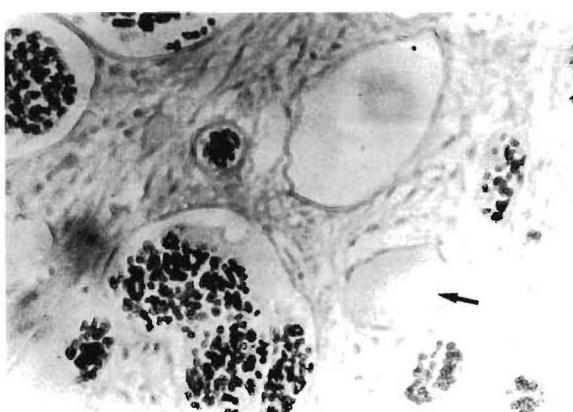
Η ιστοπαθολογική αλληλουχία των μεταβολών σε έναν ιστό μετά από ακτινοβόληση, διαχρίνεται κατά τους Rubin και Cassaret⁹ σε τέσσερις φάσεις. Η φάση I χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη οξείας



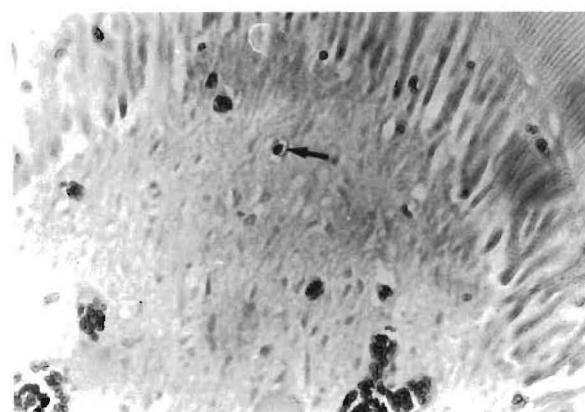
Εικόνα 3. Στένωση του αυλού των αγγείων, ναλοειδής εκφύλιση στο κυπταρόπλασμα των οδοντινοβλαστών (60^η ημέρα) Αιματοξυλίνη – Ηωσίνη X 400



Εικόνα 4. Πάχυνση τοιχώματος αρτηριδίου (45^η ημέρα) Αιματοξυλίνη – Ηωσίνη X 400

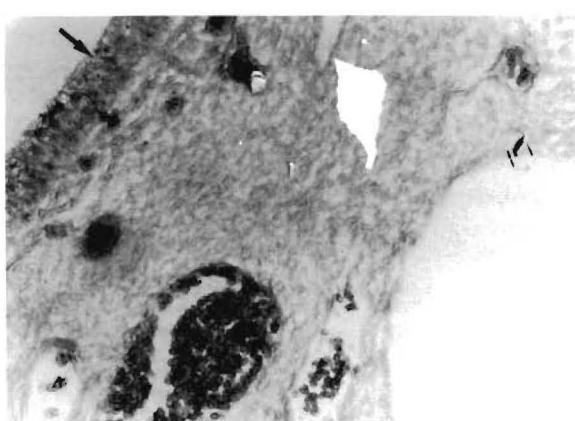


Εικόνα 5. Απόφραξη αυλού αγγείου (90^η ημέρα) Αιματοξυλίνη – Ηωσίνη X 400



Εικόνα 6. Νεόπλαστα τριχοειδή στην περιφέρεια του πολφού (30^η ημέρα) Αιματοξυλίνη – Ηωσίνη X 160

βλάβης των κυττάρων και των ιστών που είναι ευαίσθητοι στη δόση που χρονογήθηκε. Συνυπάρχει βλάβη των μικρών αγγείων και του συνδετικού ιστού. Στη φάση II κυριαρχούν οι διαδικασίες ανάνηψης από την οξεία βλάβη. Παρατηρείται αναγεννητική δραστηριότητα των κυττάρων, τόσο πρωτογενής (αντικατάσταση των καταστραμμένων κυττάρων από κύτταρα του ίδιου τύπου) όσο και δευτερογενής (αντικατάσταση από κύτταρα άλλου τύπου, συνήθως χαμηλότερου βαθμού διαφοροποίησης). Στη φάση III παρατηρείται μικρή ή ανύπαρκτη μεταβολή στο παρέγχυμα, καθώς η αναγεννητική διαδικασία έχει ολοκληρωθεί. Η διάρκεια της φάσης αυτής είναι αντιστρόφως ανάλογη της συνολικής δόσης. Κατά τη φάση IV εμφανίζεται υποπλασία, ατροφία και ίνωση του ιστού ή ταχεία εκφύλιση και νέκρωση. Οι μεταβολές που παρατηρούνται σε αυτή τη φάση είναι αποτέλεσμα της αγγειακής βλάβης και του σχηματισμού ινώδους συνδετικού ιστού.



Εικόνα 7. Υαλοειδής εκφύλιση οδοντινοβλαστών, διάχυτη ίνωση (60^η ημέρα) Gomori X 160

Οι ιστολογικές βλάβες διακρίνονται σε άμεσες, οφειλόμενες στην ακτινική βλάβη των κυττάρων και σε έμμεσες, οφειλόμενες στην ισχαιμία που προκαλείται από το οίδημα και τη στένωση των αρτηριδίων.

Οι αλλοιώσεις μπορούν επίσης να διακριθούν αδρά, σε εκφυλιστικές (ίνωση, υαλοειδής εκφύλιση) και αντιδραστικές (αγγειογένεση).

Στον επίμυ, η ακτινοβολία προκαλεί παροδική διακοπή της λειτουργίας των νεαρών οδοντινοβλαστών και επιβράδυνση ή και διακοπή της διαφοροποίησης των αώρων οδοντινοβλαστών⁸.

Στα αγγεία, η ακτινοβολία προκαλεί εκφύλιση, διόγκωση και νέκρωση των ενδοθηλιακών κυττάρων με αποτέλεσμα τη στένωση και απόφραξη των τριχοειδών αγγείων. Η νέκρωση των ενδοθηλιακών κυττάρων των μικρών αγγείων επιτρέπει την επαφή του αίματος με τον υπενδοθηλιακό συνδετικό ιστό, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό θρόμβων που μπορεί να αποφράξουν τα μικρά αγγεία. Τα παρακείμενα φυσιολογικά ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται με ταχύ ρυθμό, με σκοπό την αποκατάσταση της βλάβης, αλλά μπορούν να προκαλέσουν και απόφραξη του αυλού των αγγείων⁹.

Η ακτινική βλάβη του ενδοθηλίου προκαλεί υπεραιμία, αύξηση της διαπερατότητας του τοιχώματος των αγγείων, έξοδο υγρού στον εξωαγγειακό χώρο ή σε μεγαλύτερα αγγεία, στον υπενδοθηλιακό ινώδη ιστό και στον μέσο χιτώνα^{7,10}. Η διάμετρος του αυλού των αγγείων μειώνεται και σχηματίζονται θρόμβοι που προκαλούν απόφραξη¹¹. Παρόμοια ευρήματα παρατηρήθηκαν στην παρούσα εργασία, 75 ημέρες μετά την ακτινοβόληση.

Το περιαγγειακό και υπενδοθηλιακό οίδημα ακολουθείται από αυξημένη ινοβλαστική δραστηριότητα, με αποτέλεσμα ίνωση του τοιχώματος των αγγείων, αντικατάσταση του μέσου τοιχώματος αυτών από συνδετικό ιστό, με αποτέλεσμα την στένωση ή και την απόφραξη του αυλού. Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ότι παρατηρείται εκφύλιση των κολλαγόνων ινών και πάχυνση του μέσου χιτώνα των αρτηριδίων¹².

Νεότερες έρευνες έδειξαν ότι η αυξημένη εναπόθεση κολλαγόνου ανιχνεύεται με βιοχημική ανάλυση πριν γίνει ορατή στο οπτικό μικροσκόπιο, είναι ανάλογη της δόσης της ακτινοβολίας και εμφανίζεται μία εβδομάδα μετά την έκθεση^{13,14}. Σύμφωνα με αυτές, η ίνωση είναι μάλλον αποτέλεσμα μίας άμεσης και προοδευτικής εναπόθεσης κολλαγόνου παρά μία απότελεσμα βλάβης.

Είναι πιθανόν η αύξηση του κολλαγόνου να οφείλεται σε φλεγμονώδη αντίδραση, λόγω της αύξησης της διαπερατότητας των τριχοειδών, εξαγγειώσης πρωτεΐνών πλάσματος και εναπόθεσης ινωδο-

γόνου, η οποία διεγείρεται από αντιδράσεις του συμπληρώματος, παραγωγή προσταγλανδινών, ένζυμα των λυσοσωματίων ή άλλες ουσίες που απελευθερώνονται από τα ακτινοβολημένα λεμφοκύτταρα, μακροφάγα και πολυμορφοπόρηνα¹⁵. Στην παρούσα εργασία, αυξημένη παραγωγή ινώδους ιστού, παρατηρήσαμε 45 ημέρες μετά την ακτινοβόληση.

Σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρούνται μακροφάγα με το κυτταρόπλασμά τους πλήρες από κενοτόπια που περιέχουν λιπίδια (foam cells) και θεωρούνται σαν παθογνωμονικά στοιχεία ακτινικής βλάβης⁶. Ο Flemming¹⁶ χρησιμοποίησε τον όρο “αφρώδης εκφύλιση” (foamy degeneration) για την περιγραφή της εκφυλιστικής διαδικασίας ακτινικής αιτιολογίας του αγγειακού ενδοθηλίου. Αντίθετα, τα φλεβίδια δεν φαίνεται να επηρεάζονται από την ακτινοβολία¹⁷. Στο πείραμά μας, παρόμοιες με τις παραπάνω αλλοιώσεις παρατηρήθηκαν στο κυτταρόπλασμα των οδοντινοβλαστών 45 ημέρες μετά την ακτινοβόληση.

SUMMARY

Stefanidis S, Ginalis A, Dermenjopoulos M, Kannelaki-Kyparissi M. Irradiation injury of the dental pulp after therapeutic doses of γ -radiation. Experimental study in rats. Hippokratia, 2002; 6 (3): 137-141

The aim of this experimental study was to evaluate the microscopic alterations in normal dental pulps, associated with therapeutic doses of gamma irradiation. Sixteen adult male Wistar rats were irradiated in the mandibular region with a single dose of 2.000 cGy from a Co-60 source. Groups of two were sacrificed 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75, and 90 days after irradiation. Dental pulps from incisor teeth were removed and fixed in formaldehyde solution and sections were stained with Eosine – Hematoxyline and Gomori techniques. The following histological alterations were observed: 1) Edema in the connective tissue of the pulp and around the blood vessels. 2) Progressively established narrowing of pulp vessels' lumen because of thickening of their wall, observed after the 25th day. 3) Obstruction of the lumen in a significant proportion of vessels, after the 75th day. 4) Appearance of newly developed capillaries, mainly at the periphery of the pulp, observed after the 25th day. 5) The amount of the connective tissue cells and reticular fibers of the pulp was obviously increased after the 45th day. 6) Foamy degeneration of the cytoplasm in the outer region of the odontoblasts.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wang C C. Complications of radiation therapy. In: Radiation therapy for head and neck neoplasms. J. Right P.S.G. Inc. 1983; 247-300
2. Rubin P. The radiographic expression of radiotherapeutic injury: An overview. Seminars in Roentgenology, 1974;9:5-13
3. Lo T C, Salzman F A, Schwarz M R. Radiotherapy for cancer of the head and neck. Otolaryngologic Clinics of North America, 1985;18:521-531
4. Archer W H. Hard and soft tissue radionecrosis. In: Oral and Maxillofacial Surgery, 5th Edition, W.B.Saunders Co. 1975; 2:1822-1825
5. Beumer J, Brady F. Dental management of the irradiated patient. Int J Oral Surg 1978; 208-220
6. Bleehen N M. Prospects from radiography: Fractionation. In: Recent advances in cancer radiotherapeutics. Churchill Livingstone Eds. 1972; 235-237
7. Mettler F A, Moseley R D. Medical effects of ionizing irradiation. Grune and Stratton Inc. 1985;1-179
8. Kimmeldorf D J. Radiation induced alterations odontogenesis and formed teeth. In: Berdjis C C, Pathology of irradiation. The Williams and Wilkins Co. 1970; 278-289
9. Rubin P, Cassaret G W. Clinical Radiation Pathology. W.B. Saunders Co, 1968; Vol. I:153-186
10. Aitasalo K. Bone tissue response to irradiation and treatment model of mandibular irradiation injury. Acta Otolaryngol. 1986; 428: 1-54
11. Marx R E, Johnson R P. Studies in the radiobiology of osteoradionecrosis and their clinical significance. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1987; 64:379-390
12. Archibald D, Shklar G. The effect of calcitonin on experimental osteoradionecrosis in mice. J of Oral Med 1985;40:7-12
13. Panizzon R G, Malkinson F D, Hanson W R, Schwartz D E. A one-year comparative study of postirradiation collagen content and microscopic fibrosis in mouse skin. Br J Radiol 1986; Suppl. 19:54-57
14. Panizzon R G, Hanson W R, Schatz D E, Malkinson F D: Ionizing radiation induces early, sustained increases in collagen biosynthesis. A 48-week study in mouse skin and skin fibroblast cultures. Radiat Res, 1988;116:145-156
15. Cooper J S, Fu K, Marks J, Silverman S. Late effects of radiation therapy in the head and neck region. Int J Rad Oncol Biol Phys, 1995;31:1141-1164
16. Flemming T J. Osteoradionecrosis associated with definitive radiation therapy for head and neck malignancies. J Prosth Dentistry, 1983;49:675-679
17. Rohrer M D, Kim Y, Fayos J D. The effect of Cobalt-60 irradiation on monkey mandibles. Oral Surg Oral Med Oral Path, 1979;48:424-440

Αλληλογραφία:

Σ. Στεφανίδης
Καρόλου Ντηλ 11
546 23 Θεσσαλονίκη

Corresponding author:

Stefanides S
11, Karolou Diehl Str.
546 23 Thessaloniki, Greece