*Стоматолошки факултет у Београду*

# ЗУБНА ТКИВА ПАЦОВА ЈЕДНОКРАТНО ТРЕТИРАНИХ ЕСТРОГЕНОМ

Живковић А., С. Седлецки

*У раду се износе резултати проучавања одонтобласта и везивних ћелија пулпе првог и другог молара, горње и доње вилице, пацова третираних полним стероидима. Животиње су неонатално инјициране 3. дана живота s/c са 30 μ Ci $^3$H тимидина и са 30 μ Ci $^3$H тимидина и 1000 гама OeDP. Животиње су жртвоване 38. дана живота. Методом аутохисторадиографије установљено је да број маркираних одонтобласта и везивних ћелија пулпе је већи у животиња третираних полним стероидима.*

Молари пацова се најчешће користе код испитивања експерименталног утицаја на зубе. Они пролазе кроз све развојне фазе слично хуманом типу зуба и због тога су веома погодни за испитивања и упоређења. Имајући ово у виду, експериментални утицајем многих фактора могу се објаснити појаве аномалија у развоју зуба и вилица.

По мишљењу Schour-а и Massler-а (1962) целуларна активност почиње на одређеним местима, центрима раста, што код зуба чине квржица и збива се ритмично све дотле док траје животни циклус формативних ћелија.

Проучавајући животни циклус и обнављање ћелија меких зубних ткива, већи број аутора (Tasumi 1966; Smith и Warchawsky, 1975, 1977; Orlowski 1977) користи могућност експерименталног рада на пацовима, примењујући једну од хистохемијских метода – аутохисторадиографију, са трицираним тимидином као радиоактивним елементом. Из радова ових аутора познате су чињенице које говоре о развоју глеђног органа за време интраутериног живота, о преображају глеђног органа и диферентовању адамантобласта, одонтобласта и везивних ћелија пулпе. Сва ова испитивања допринела су да се упознају сложени процеси развића зуба, посебно са гледишта брзине формирања и квалитета чврстих зубних ткива.

У пацова 38. дана живота дефинитивно је формирана круница и завршен раст коренова првог и другог моларног зуба. Обзиром да овај период одговара периоду пубертетског развоја човека, где је организам у пуном развоју и као такав изложен многим утицајима, искоришћен је тај период за деловање полног стероидног хормона – естрадиола.

Литературни подаци говоре о естрадиолу као анаболику, о стимулативном деловању естрадиола на синтезу протеина и синтезу RNK (Williams, 1974). Обзиром да естрадиол и у малим количинама има јасно изражено дејство, циљ овог рада је да пратимо његов утицај, у колико га има и да проучимо у којој мери је изражен на ћелије меких зубних ткива – одонтобласте и везивне ћелије пулпе, првог и другог моларног зуба.

## Материјал и метод рада

За ова истраживања коришћено је десет пацова Wistar соја оба пола. Животиње су подељене у две групе:

– контролну групу су чинили младунци од две женке неонатално инјицирани с/ц 3. дана живота са 30 μCi$^3$H тимидина;

– третирану групу су чинили младунци од две женке неонатално инјицирани с/ц 3. дана живота са 30μCi$^3$H тимидина и 1000 гама OeDp.

Животиње су жртвоване 38. дана живота. Изоловани су моларни предели горње и доње вилице, фиксирани у Боуиновој течности и декалцификовани у неутралном 20% EDTA.

Пресеци мезио-дисталног смера, дебљине 5μm су прекривени Илфордовом емулзијом I4, одржаваној на температури +4$^0$C у току шест месеци. развијање је вршено користећи Кодак Д 19 развијач, а фиксирање у киселом фиксиру. Препарати су бојени хематоксилином, а проучавани користећи светлосни микроскоп – Оптон.

Број одонтобласта одређиван је помоћу линеарног окуларног микрометра 1:100 уз објектив 40 X и окулар 10X на дужини од 660 μm у пределима: квржица (K), фисура (F), мезијалних површина (M) и врата зуба (V) првог и другог молара горње и доње вилице.

Везивне ћелије пулпе бројане су на површини од 4632 μm$^2$ помоћу мрежастог окуларног микрометра (1cm$^2$) уз објектив 40x и окулар 10x. Бројање везивних ћелија пулпе вршено је у централном делу коронарне пулпе првог и другог моларног зуба горње и доње вилице.

Од укупног броја ћелија на одређеној дужини, односно површини, а увек на истим местима, бројане су маркиране ћелије. На основу добијених вредности извршена је статистичка обрада података. Израчуната је средња вредност, стандардна грешка, а статистичка значајност студентовим T–тестом.

## Резултати

Одонтобласти првог и другог молара горње и доње вилице животиња од 38 дана су густо збијени у једном реду са јасно израженим једром.

Средње вредности укупног броја одонтобласта првог горњег и доњег молара су приближно исте (табела 1). Нису уочене разлике у укупном броју ћелија између контролних и третираних животиња. Статистички сигнификантна виша вредност се запажа у пределу квржице горњег првог молара животиња третираних естрадиолом. Маркирани одонтобласти су уочени у свим испитиваним пределима горњег и доњег молара. Статистички значајне више вредности су забележене у пределима квржице и фисуре горњег првог молара и фисуре првог доњег молара животиња третираних естрадиолом.

Одонтобласти другог горњег и доњег молара (табела 2) животиња третираних естрадиолом и животиња инјицираних радиоактивним тимидином (контролне животиње) показују приближно исте средње вредности у укупном броју ћелија. Инкорпорирани радиоактивни тимидин се уочава у свим испитиваним пределима. Средње вредности броја маркираних одонтобласта другог горњег молара су више у животиња третираних естрадиолом у свим испитиваним пределима и статистички сигнификантне у пределима крвржица и фисура. Маркирани одонтобласти другог доњег молара такође показују више средње вредности у животиња третираних естрадиолом, а статистичка сигнификантност је у пределу фисуре зуба.

На хистолошком пресеку пулпе првог и другог моларног зуба горње и доње вилице уочава се велики број везивних ћелија. Ћелије су неправилног облика са претежно овалним једрима и цитоплазматичним продужетцима.

СРЕДЊЕ ВРЕДНОСТИ БРОЈА ОДОНТОБЛАСТА ПРВОГ ГОРЊЕГ И ДОЊЕГ МОЛАРА ИНТАКТНИХ И ЕСТРАДИОЛОМ ТРЕТИРАНИХ ПАЦОВА 38. ДАНА ПО РОЂЕЊУ

Табела 1.

| ГРУПЕ ЖИВОТИЊА | Тачке мерења | Горњи молар: Укупан број ћелија | Горњи молар: Број маркираних ћелија | Доњи молар: Укупан број ћелија | Доњи молар: Број маркираних ћелија |
|---|---|---|---|---|---|
| Х-тимидин ињициран младунцима 3. дана живота | К | 10,9 ± 0,39 | 1,0 ± 0,47 | 12,4 ± 0,30 | 0,4 ± 0,22 |
| | Ф | 11,8 ± 0,66 | 1,2 ± 0,45 | 11,5 ± 0,74 | 2,6 ± 0,62 |
| | М | 10,7 ± 0,47 | 2,4 ± 0,68 | 11,3 ± 0,56 | 3,4 ± 0,73 |
| | В | 10,4 ± 0,48 | 4,0 ± 0,84 | 11,3 ± 0,65 | 3, 4 ± 0,65 |
| $^3$Х-тимидин и ОеДП иницирaн младунцима 3.дана живота | К | 13,2 ± 0,14 | 3,8 ± 0,86 | 14,8 ± 0,95 | 0,8 ± 0,31 |
| | Ф | 14,2 ± 1,03 | 4,7 ± 0,50 | 11,0 ± 0,42 | 6,6 ± 0,44 |
| | М | 12,0 ± 0,79 | 4,1 ± 0,65 | 10,7 ± 0,42 | 3,0 ± 0,69 |
| | В | 11,7 ± 0,73 | 5,4 ± 0,89 | 10,8 ± 0,61 | 4,3 ± 0,40 |

*статистичка значајност

СРЕДЊЕ ВРЕДНОСТИ БРОЈА ОДОНТОБЛАСТА ДРУГОГ ГОРЊЕГ И ДОЊЕГ МОЛАРА ИНТАКТНИХ И ЕСТРАДИОЛОМ ТРЕТИРАНИХ ПАЦОВА 38. ДАНА ПО РОЂЕЊУ

Табела 2

| ГРУПЕ ЖИВОТИЊА | Тачка мерења | Горњи молар: Укупан број ћелија | Горњи молар: Број маркирних ћелија | Доњи молар: Укупан број ћелија | Доњи молар: Број маркираних ћелија |
|---|---|---|---|---|---|
| $^3$Х-тимидин ињициран младунцима 3.дана живота | К | 11,5 ± 0,77 | 2,5 ± 1,29 | 11,6 ± 0,79 | 2,5 ± 1,24 |
| | Ф | 12,4 ± 0,89 | 6,0 ± 1,13 | 11,5 ± 1,06 | 4,9 ± 0,42 |
| | М | 11,0 ± 0,97 | 3,5 ± 0,93 | 10,3 ± 0,91 | 5,5 ± 0,82 |
| | В | 10,5 ± 1,32 | 2,8 ± 0,72 | 10,8 ± 0,47 | 4,7 ± 1,06 |
| $^3$Х-тимидин и ОеДП ињициран младунцима 3. дана живота | К | 13,3 ± 0,80 | 8,0 ± 1,01* | 13,6 ± 0,78 | 0,8 ± 0,41 |
| | Ф | 13,2 ± 0,31 | 9,2 ± 0,81* | 11,0 ± 0,70 | 7,8 ± 0,56 |
| | М | 11,5 ± 0,68 | 5,3 ± 0,86 | 11,2 ± 0,81 | 5,6 ± 0,43 |
| | В | 11,8 ± 0,72 | 5,6 ± 0,80 | 10,2 ± 0,31 | 6,6 ± 1,37 |

*статистичка значајност

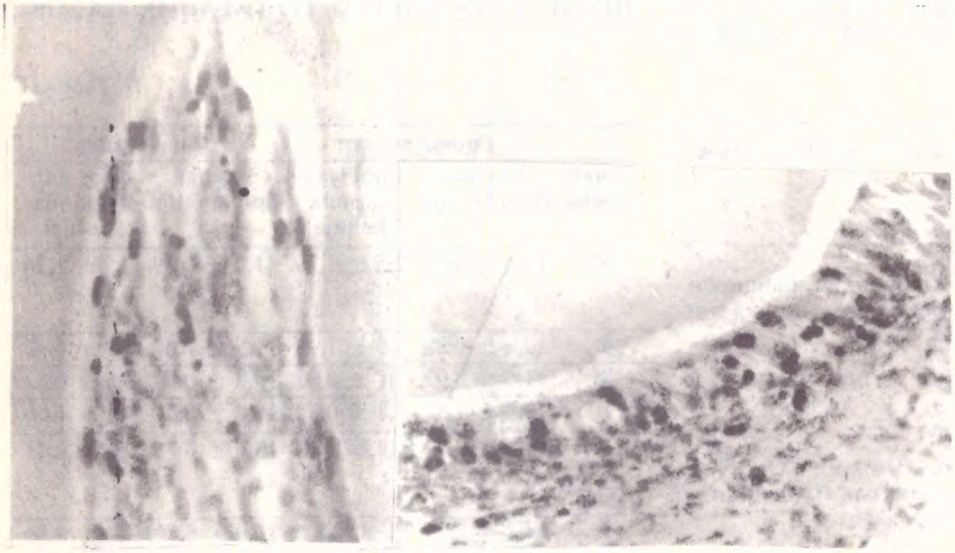
СРЕДЊЕ ВРЕДНОСТИ БРОЈА ВЕЗИВНИХ ЋЕЛИЈА ПУЛПЕ ПРВОГ И ДРУГОГ, ГОРЊЕГ И ДОЊЕГ МОЛАРА ИНТАКТНИХ И ЕСТРАДИОЛОМ ТРЕТИРАНИХ ПАЦОВА 38. ДАНА ПО РОЂЕЊУ

Табела 3

| ГРУПЕ ЖИВОТИЊА | | Горњи молар | | Доњи молар | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Укупан број ћелија | Број маркираних ћелија | Укупан број ћелија | Број маркираних ћелија |
| $^3$Х–тимидин ињициран младунцима 3.дана живота | први молар | 20,6 ± 2,82 | 3,7 ± 0,83 | 20,4 ± 1,80 | 4,1 ± 0,28 |
| | други молар | 25,3 ± 1,28 | 4,9 ± 0,54 | 21,7 ± 1,78 | 5,3 ± 1,09 |
| $^3$Х–тимидин и ОеДП ињициран младунцима 3.дана живота | први молар | 18,7 ± 1,51 | 4,8 ± 0,64 | 18,7 ± 0,86 | 7,5 ± 3,53 |
| | други молар | 22,3 ± 2,08 | 4,2 ± 0,53 | 20,3 ± 1,38 | 6,4 ± 1,46 |

* статистичка значајност

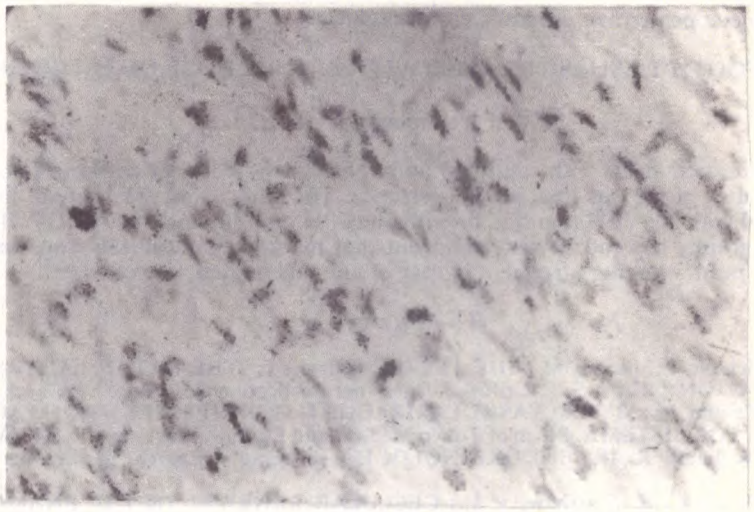
Средње вредности укупног броја везивних ћелија пулпе првог горњег и доњег молара су потпуно идентичне, а средње вредности броја маркираних ћелија су знатно веће у доњих молара (табела 3). Статистички значајних разлика у укупном броју и броју маркираних ћелија у горњем и доњем молару није било у животиња третираних естрадиолом као и контролних.



Сл.1. Одонтобласти предела квржице првог горњег моларног зуба пацова 38.дана живота третираног у неонаталном периоду са ОеDP.

Сл.2. Одонтобласти предела фисуре првог горњег моларног зуба пацова 38. дана живота третираног у неонаталном периоду са ОеDP.

Средње вредности укупног броја везивних ћелија пулпе другог моларног зуба горње и доње вилице су приближно исте у животиња инјицираних радиоактивним тимидином и животиња третираних естрадиолом (табела 3). У броју маркираних ћелија горњег и доњег молара статистичка разлика није запажена, мада су средње вредности броја маркираних ћелија нешто више у доњем молару.



Сл.3. Везивне ћелије пулпе првог горњег молара пацова 38. дана живота третираног у неонаталном периоду са ОеДР.

## Дискусија и закључак

Анализирајући добијене резултате уочено је да у контрола укупан број одонтобласта приближно је исти код првог горњег и доњег молара у свим испитиваним пределима. Број маркираних ћелија у истој групи експерименталних животиња је највећи у пределу врата првог горњег молара.

Укупан број одонтобласта у животиња третираних естрадиолом је приближан броју ћелија контролне групе. Међутим број маркираних ћелија огледне групе је већи у односу на контролну и статистички су значајне у пределима квржице и фисуре зуба првог горњег молара и фисуре зуба доњег молара.

Укупан број одонтобласта другог молара горње и доње вилице је приближно исти у компарацији са првим моларима у свим испитиваним пределима. Број маркираних ћелија другог горњег и доњег молара је већи у односу на прве моларе, како код контролних, тако и код третираних животиња. Статистички значајне веће вредности добијене су у истим пределима другог горњег и доњег молара, односно у пределима квржица и фисура зуба.

У току наших ранијих испитивања установљено је да највећи број маркираних одонтобласта је у животиња жртвованих 10. дана живота у пределу врата зуба. Ово би се могло објаснити повећаном активношћу ових ћелија у процесу развоја корена зуба. Овај податак није карактеристичан за животиње жртвоване 38. дана живота, пошто је у овом периоду развој зуба завршен.

Упоређујући добијене резултате укупног броја везивних ћелија пулпе и броја маркираних ћелија горњег и доњег молара контролне групе, уочено је да су ове вредности веће код другог моларног зуба. Анализирајући вредности броја везивних ћелија пулпе групе животиња третираних естрадиолом нису уочена значајна одступања у односу на контролну групу, како у укупном броју, тако и у броју маркираних ћелија пулпе.

На основу добијених резултата статистички значајне веће вредности у животиња третираних естрадиолом установљене су и код првог и код другог молара горње и доње вилице. Како је из литературе познато естрогени хормони делују како анаболици, и као такви имају генерализовано дејство на протеине, повећавајући њихово ниво. Исто тако делују стимулативно на синтезу RNK (Williams, 1974) утичући на биосинтезу протеина у ћелијама, чиме би и могли објаснити добијене резултате у овим испитивањима.

## RAT TOOTH TISSUES TREATED WITH SINGLE DOSE OF ESTROGEN


### Summary

The article deals with results of odontoblasts and connective tissue cells of the 1 and 2 molars of the rats treated with estrogen. The animals on the 3 day of life were s/c injected with 30μCi$^3$H tymidin, or with 30μCi$^3$H tymidin and 1000 OeDP. By autohystoradiography method it was found out that marked odontoblasts and connectiv cells of the pulp were more frequent in case of animals treated with estrogen.


### Литература


1. Schour, I. Massler, M.: THE TEETH (poglavlje iz „THE RAT IN LABORATORY INVESTIGATION"). Farris E. J., Griffith J. Q. Hafner Publication Company, New York, 1962.
2. Tasumi, M.: SISTEM VASKULARIZACIJE U GORNJEM SEKUTIĆU PACOVA I RAZVITAK TOG SISTEMA. Bilten of Tokyo Medical and Dental University, 13: 2, 1966.
3. Williams, R. H.: ENDOKRINOLOGIJA, Beograd – Zagreb, Medicinska knjiga, 1974.
4. Smith, C. E., Warshawsky, H.: CELLULAR RENEWAL IN THE ENAMEL ORGAN AND THE ODONTOBLAST LAYER OF THE RAT INCISOR AS FOLLOWED BY RADIOAUTOGRAPHY USING $^3$H–THYMIDINE. The Anatom. Record, vol. 183, N$^0$ 4, 1975.
5. Smith, C. E., Warshawsky, H.: QUANTITATIV ANALYSIS OF CELL TURNOVER IN THE ENAMEL ORGAN OF THE RAT INCISOR EVIDENCE FOR AMELOBLAST DEATH IMMEDIATELY AFTER ENAMEL MATRIX SECRETION. The Anat. Record, vol. 187, N$^0$ 1, 1977.
6. Orlowski W. A.: THE TURNOVER OF COLLAGEN IN THE DENTAL PULP OF RAT INCISOR. J. Dent. Res., vol. 56, N$^0$ 4, 1977.
7. Живковић, А,: ГЕНЕЗА ПУЛПЕ ЗУБА ИНТАКТНИХ И ЕСТРАДИОЛОМ ТРЕТИРАНИХ ПАЦОВА. Магистарски рад, Београд, 1981.