

# Histopatologiske undersøgelser af tænder fra strålebehandlede patienter

Siri Beier Jensen og Anja Weirsøe Dynesen

Alvorlige og hurtigt forløbende destruktions af tænderne hos patienter efter stråleterapi er noget af det vanskeligste man som tandlæge kan komme ud for. I artiklen beskrives en række histopatologiske iagttagelser af de typiske, såkaldt »gummiagtige tænder« man undertiden ser hos patienter efter strålebehandling i hoved- og halsregionen. På baggrund af undersøgelserne foreslås en ny hypotese for patogenesen af denne særlige bivirkning, som tager udgangspunkt i en direkte strålebetiget beskadigelse af de hårde tandvæv. Artiklen understreger nødvendigheden af inden for forskning og forebyggelse at skelne mellem caries i egentlig forstand og de beskrevne, særlig hurtigt forløbende destruktions.

Artiklen er udarbejdet på baggrund af en afløsningsopgave ved Afdeling for Tandsygdomslære, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet. Vejledere: Professor, dr. et lic.odont. Anders Thystrup og adjunkt, ph.d. Lars Bjørndal.

Intensiv stråleterapi i forbindelse med behandling af cancer i hoved- og halsregionen giver undertiden, men langt fra altid, anledning til voldsomme og overraskende hurtigt forløbende destruktions af patienternes tænder. Når klinikere møder problemet, hæfter de sig naturligt nok ved det uforklarligt hurtige forfald af de hårde tandvæv, som kan optræde relativt hurtigt efter stråleterapiens ophør (1-3). Da tilstanden oftest fører til ekstraktion, er det ikke underligt at klinikere har været særligt opmærksomme på fornemmelsen af tændernes ejendommelige, gummiagtige karakter.

Stråleterapi i denne region fører til en række bivirkninger, hvoraf mucositis og varig beskadigelse af spytkirtlernes funktion er generelt forekommende. Hertil kommer knoglenekroses og beskadigelser af det marginale parodontium og altså også fremadskridende destruktions af de hårde tandvæv (3). Der er tale om en række forskydninger i den naturlige balance i det orale miljø, som tilsammen vil kunne føre til en overvækst af mundhulens bakterieflora, og som igen vil kunne øge risikoen for cariesprogression. Fx vil den smertefulde mucositis, som udvikles allerede tidligt i behandlingsforløbet, sammen med den nedsatte spyttproduktion naturligt føre til en ændret kost i form af flydende kulhydratrig føde. Det heraf følgende nedsatte slid øger overvæksten af bakterier i en periode som kan strække sig over flere måneder (3,4). Men eftersom den odontologiske forskning hovedsageligt har koncentreret sig om den nedsatte spyttsekretion, og saliva traditionelt opfattes som afgørende for udvikling af caries, er det naturligt at de observerede destruktions har været forstået som caries, undertiden slet og ret som »strålecaries« (5,6).

Flere hypoteser vedr. årsagerne til destruktions af de hårde tandvæv har hovedsageligt taget udgangspunkt i miljøet, herunder den nedsatte spyttsekretion (5-8). De hypoteser som har fokuseret på tændernes nedsatte resistens, kan inddeles i to underafdelinger. Den første går ud fra at emaljens opløselighed forøges alene pga. mødet med den ioniserende stråling (9-12), mens den anden antager at strålingen forårsager en generel svækkelse af tandens struktur (13,14). Hvis den sidste hypotese er rigtig, er det næppe hensigtsmæssigt, hverken i behandlings- eller forskningsstrategisk henseende, at opretholde terminologien *caries* om alle de destruktions af de hårde tandvæv, som følger efter stråleterapi i hoved- og halsregionen.

Formålet med nærværende undersøgelse var makroskopisk og histologisk at studere ekstraherede tænder, som klinisk var klassificeret som gummiagtige og havde voldsomme destruktions, mhp. at undersøge muligheden af en anden ætiologi og patogenese af denne specielle lidelse end den der skjuler sig bag folkesygdommen caries.

## Materiale og metode

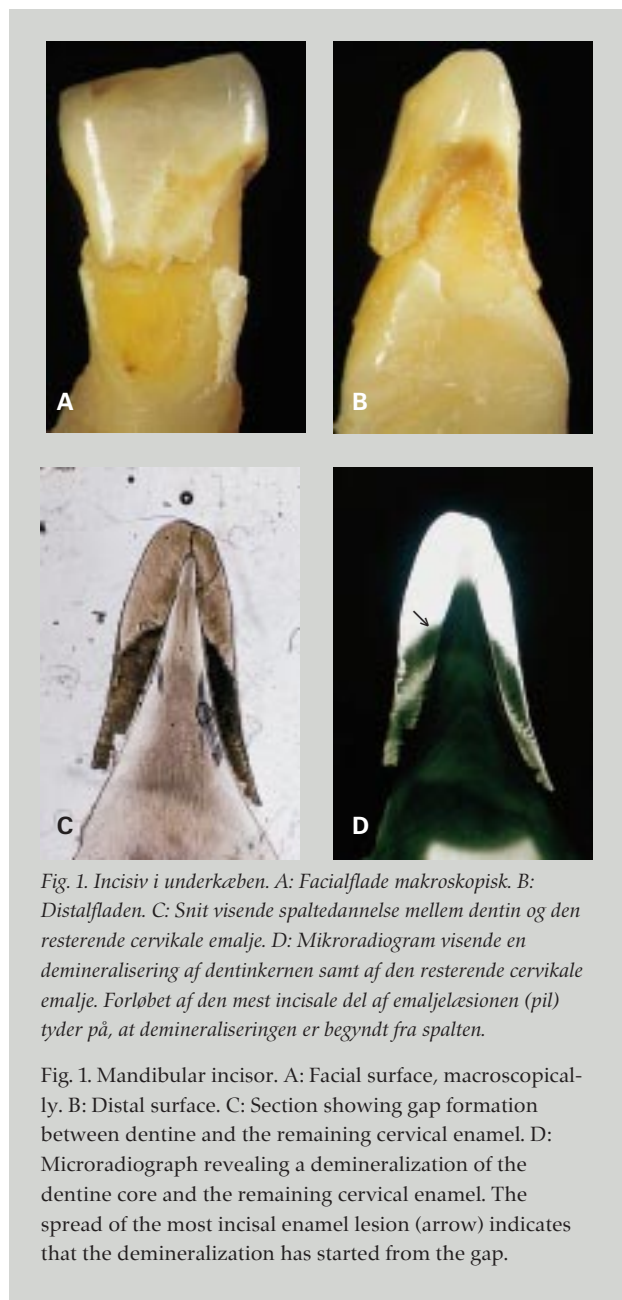
Undersøgelserne er baseret på 26 ekstraherede permanente tænder fra tre patienter, der var behandlet på Rigshospitalets Afdeling for Tand-, Mund- og Kæbekirurgi efter at have modtaget stråleterapi i hoved- og halsregionen. Tænderne var ekstraheret 6-12 mdr. efter strålebehandlingen i forbindelse med sanering af tandsættet. Inden præparaterne blev underkastet præparation mhp. histologiske og mikroradiografiske undersøgelser, blev de ikke-rensede tænder fotograferet i Zeiss MC 63 stereomikroskop, og der blev foretaget en makroskopisk beskrivelse. Da tænderne var stærkt svækkede, besluttedes det at benytte Zürich-metoden til fremstillingen af tynde, ikke-afkalkede snit (15). Efter ekstraktionen blev tænderne opbevaret i formalin. Tænderne blev inden præparationen udvasket for formalin i destilleret vand.

De indstøbte tænder blev skåret i ca. 200 µm tykke snit. Snittene blev limet på objektglas af plexiglas. De pålmede snit blev slebet og finpoleret med henholdsvis slibepapir nr. 1000 og 2000 på en Exakt slibemaskine (type AW-10). Snittene blev slebet ned til en tykkelse på ca. 80 µm. For at ansueliggøre kontrasterne i hårdtvævet blev snittene farvet med toluidinblåt-pyronin (15). Og for at klarlægge bakterieforekomsten benyttedes en gramfarvning (modificeret Brown & Hopps' metode) (16). Snittene blev fotograferet i Olympus Vanox-s lysmikroskop både før og efter farvning. Desuden udførtes mikroradiografiske undersøgelser (15). Der benyttedes Kodak Spectroscopic, Glass plates, og der blev eksponeret ved henholdsvis 12,2 kV, 12,8 kV og 15 mA i 50 min.

## Resultater

### Makroskopiske observationer

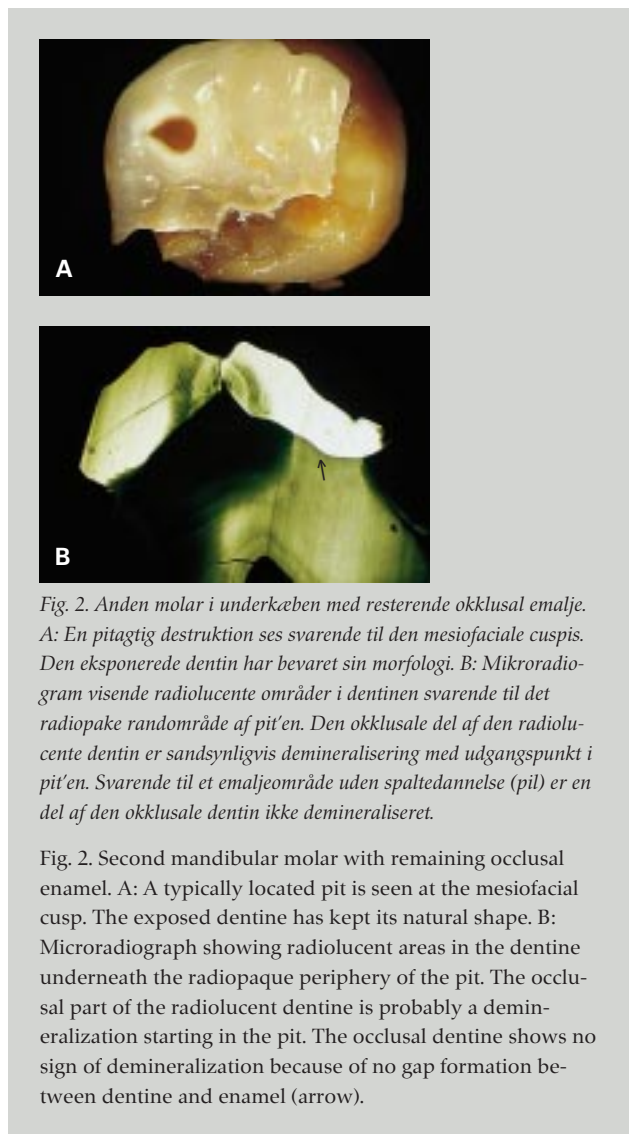
Tænderne var præget af store destruktions. Der var ikke tale om destruktions som vi kender dem fra de typiske carieslæsioner, men snarere om destruktions forårsaget af afsprængning af store dele af emaljen med blotlægning af dentinen til følge. På incisiver og hjørnetænder var emaljen affraktureret i et cervikalt bælte omkring hele tanden (Fig. 1A,B). Approksimalt fulgte destruktions gingivale afgrænsning delvis gingivalpapillens forløb. Alle præparaterne forekom påfaldende rene i den forstand at der hverken makroskopisk eller ved forstørrelse i stereomikroskop kunne ses ansamlinger af plak. I overensstemmelse hermed forekom den tilbageværende del af emaljen forholdsvis upåvirket. På molarerne var afsprængningen af emalje spredt over hele kronens overflade uden systematik. Nogle molarer havde desuden pitagtige, lokale, penetrerende destruktions svarende til cuspis-toppene (Fig. 2A). På både molarer og incisiver var dentinkernen formmæssigt intakt, men med en tydelig brun misfarvning. Der var ingen voldsom plakophobning, men dentinen virkede ved



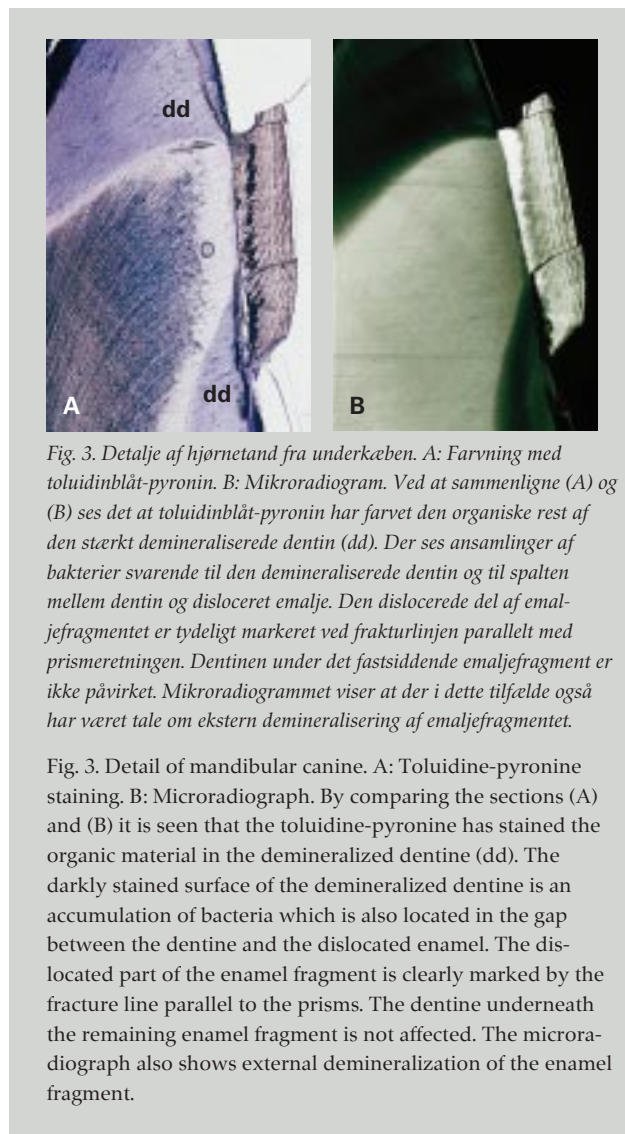
sondering blødere end sund dentin, og på nogle af tænderne gummiagtig. Tænderne var generelt meget skrøbelige, og ved berøring smuldrede de let. Emaljen havde tendens til at skille sig fra dentinen, mens dentinen i nogle tilfælde faldt helt fra hinanden med blotlæggelse af pulpa til følge.

### Histologiske observationer

Ikke-afkalkede ufarvede snit – På snittene var der store områder med blotlagt dentin og skarpe frakturkanter i emaljen. Sva-



rende til frakturerne sås i næsten alle tilfælde en begyndende spaltetdannelse mellem emalje og dentin. Spaltens udstrækning var i nogle af præparaterne meget udtalt, idet den fortsatte næsten helt op til cuspis-toppen/incisalkanten (Fig. 1C). I enkelte tilfælde sås en dislokation af emaljen i forhold til dentinen. Dette fænomen var til stede hvor en emaljefraktur vinkelret på emalje-dentin-grænsen havde muliggjort en forskydning af en del af emaljen væk fra dentinen (Fig. 3A og 4A). I spalterne mellem emaljen og dentinen sås ophobning af en plaklignende substans (Fig. 3A, 4A og 5A). I forbindelse med denne ophobning var der demineralisering i emaljen som tilsyneladende var begyndt i den del af emaljen som vendte ind mod spalten og derfra progredierede ud mod emaljens



overflade (Fig. 1C,D, 4A,B og 5A,B). Spredning af læsionen i emaljen fulgte prismernes retning. Den mest udtalte progression var derfor i den mest cervikale del, hvor næsten al emaljen var involveret (Fig. 1C og 4A). Den mindst progredierede del af læsionen fandtes i incisal retning svarende til det område hvortil spalten var nået.

**Mikroradiogrammer** – Den mikroradiografiske undersøgelse bekræftede at den tilbageværende emalje ikke var præget af udefrakommende demineralisering, eftersom emaljekapperne fremstod tydeligt radiopake.

I overensstemmelse med observationerne i de ufarvede snit sås radiolucens i emaljen svarende til de spalter der var

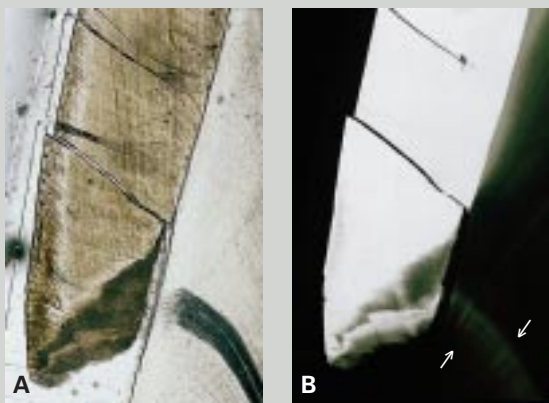


Fig. 4. Detalje af hjørnetand fra underkæben. A: Ufarvet snit visende frakturlinje vinkelret på emalje-dentin-grænsen parallelt med prismeretningen. I spalten mellem det dislocerede cervikale emaljefragment og dentinen ses plaklignende materiale. B: Mikroradiogram. Demineraliseringen i emaljen er begrænset til spalteområdet. Dentinen fremtræder radiolucent bortset fra sklerotiske reaktioner i en lokaliseret del (pile). Demineraliseringen svarer til det mørke område i A.

Fig. 4. Detail of mandibular canine. A: Unstained section showing the fracture line perpendicular to the enamel-dentine junction parallel to the prisms. Plaque-like material is seen in the gap between the dislocated enamel fragment and the dentine. The demineralization of the enamel is limited to the gap area. The dentine is radiolucent except from the sclerotic reactions in the localized part of the dentine (arrows). B: Microradiograph. The demineralization equals the dark area in A.

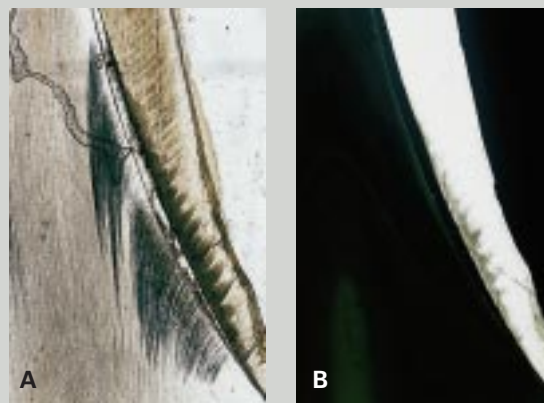


Fig. 5. Incisiv fra underkæben. A: Ufarvet snit visende spaltedannelse mellem emalje og dentin med ophobning af plaklignende materiale. B: Mikroradiogram visende demineralisering af den inderste del af emaljen svarende til den mest udtalte del af spalten. De sorte dentintubuli i A er formentlig tegn på sklerose, som imidlertid ikke kan skelnes i den radioluciente dentin.

Fig. 5. Mandibular incisor. A: Unstained section showing gap formation between enamel and dentine with accumulation of plaque-like material. B: Microradiograph showing demineralization of the dentinal part of the enamel in the most pronounced area of the gap. The black dentine tubules in A are presumably signs of a sclerotic reaction, which cannot, however, be distinguished in the radiolucent dentine.

opstået mellem emalje og dentin. Disse radiolucente områder startede ved spalten og udbredte sig mod emaljeoverfladen (Fig. 1D, 4B og 5B). I alle præparater fremtrådte dentinen med varierende grader af radiolucens, jf. de makroskopiske iagttagelser. Den udtalte dentindemineralisering var tilsyneladende ikke relateret til emaljens fysiske tilstedeværelse, men derimod til forekomsten af spalter mellem emalje og dentin (Fig. 1D, 4B og 5B). Fig. 3B illustrerer et tilfælde hvor emaljefragmenter er blevet hængende uden spaltedannelse, og som følge heraf ses ingen demineralisering af den underliggende dentin. Samme fænomen med fastbunden emalje og lokalt fravær af dentindemineralisering kan ses i Fig. 2B, som også viser spredning af dentindemineralisering fra en lokal pitagtig defekt i cuspis-området.

*Toluidinblåt-pyronin-farvede snit* – Når denne farvemethode anvendes på ikke-afkalkede snit, farves tilbageværende orga-

nisk materiale i demineraliserede områder. Svarende til den radioluciente dentin i Fig. 3B ses i Fig. 3A en farvning af den organiske dentinmatrice. Uafficeret dentin farves kun svarende til blotlagte dentintubuli, hvorimod kappedentinen fremtræder lyst (Fig. 3A). Grænsezonerne mellem uafficeret og demineraliseret dentin fremtræder også lyse, formentlig som følge af en let hypermineralisering. Den uafficerede dentin svarer nøje til den del af det fastsiddende emaljefragment som er uden spaltedannelse (Fig. 3A).

*Bakteriefarvning (gramfarvning)* – Ved gramfarvningen bekræftedes at den plaklignende substans der observeredes i spalterne i de ufarvede snit, indeholdt bakterier. Desuden forekom invasion af bakterier i dentinkanalerne i forbindelse med disse spalter. Der var ligeledes bakterier at spore i de blotlagte dentinkanaler i de områder hvor emaljen var affrakturert (Fig. 6).





Fig. 6. Detalje af underkæbeincisiv efter gramfarvning. I spalten mellem dentin og emalje ses ophobning af bakterier. Der ses bakterieinvasion i dentintubuli, navnlig svarende til den del af dentinen hvor emaljen er sprængt bort.

Fig. 6. Detail of mandibular incisor after gram-staining. The gap between the dentine and enamel shows an accumulation of bacteria. The bacteria have invaded the dentine tubules, especially in the dentine uncovered by enamel.

## Diskussion

De undersøgte tænder havde alle en karakteristisk gummiagtig blødhed af dentinen. Den blotlagte dentin fremstod makroskopisk med en formmæssigt intakt kerne, hvorfra emaljen var som »skrællet« af. De steder hvor der stadig var emalje tilbage viste emaljens kanter ingen tegn på demineralisering, men derimod tegn på rent mekanisk betingede frakturer.

Til trods for de udtalte destruktions, som klart adskilte sig fra klassiske kariøse destruktions, var mængden af plak forbavsende beskedent. Alligevel var der en næsten total demineralisering af den eksponerede dentin med invasion af bakterier. Nok så interessant var det at der i alle tilfælde af spaltedannelse mellem emalje og dentin sås demineralisering af den underliggende dentin. Samtidig sås – navnlig svarende til histologisk manifesterede spaltedannelser – demineralisering af emaljen med udgangspunkt i spalten. Forskellige farvemetoder sandsynliggjorde at der i spalterne var tale om koncentrerede bakterielle ansamlinger. Eftersom dentindemineraliseringens omfang ikke var større i den blotlagte dentin end i den del af dentinen der udelukkende var eksponeret for de bakterielle biomasser i spalten, er det rimeligt at konkludere at bakteriemassens samlede metaboliske aktiviteter i spalten må have givet anledning til en betragtelig syreproduktion. Med andre ord har det ekstremt lukkede lokale miljø favoriseret vækst af anaerobe syreproducerende bakterier (17). Når dette forhold sammenholdes med den reducerede hastighed af spytfilmens bevægelse, og dermed nedsatte evne til at fjerne syre (18), forstår man at der i spalten i løbet af kort tid må være oparbejdet et konstant og stabilt surt miljø.

Dette forhold forklarer hvorfor der sås demineralisering af både emalje og dentin udgående fra de bakteriefyldte spalter langs emalje-dentin-grænsen. Tidligere forsøg på at få klarhed over årsagen til tanddestruktion efter strålebehandling har overvejende interesseret sig for en mulig ændring af emaljens opløselighed. Men resultaterne er modstridende, eftersom nogle forfattere er i stand til at vise at emaljens opløselighed forbliver uændret efter bestråling (9, 11, 12), mens andre mener at opløseligheden nedsættes, og at emaljen ligefrem opnår højere resistens over for carieslignende påvirkninger i laboratorieforsøg (10). Nærværende undersøgelser viste imidlertid at emaljens eventuelt ændrede opløselighed under laboriemæssige forhold næppe spiller nogen væsentlig rolle ved udviklingen af de »gummiagtige tænder« med store emaljeafsprængninger. Det er derfor af større interesse at der ud over emaljens beskaffenhed efter bestråling er foretaget undersøgelser af strålingens indflydelse på tanddannelsen. Således har Poyton (19) og Anneroth *et al.* (18) vist at tandkim kan blive skadet eller blive fuldstændig destrueret som følge af bestråling, afhængig af stråledosis og tandanlæggets udviklingsstadium på bestrålingstidspunktet. Desuden har Cooper *et al.* (3) vist at strålebehandlinger fører til en nedsat vaskularisering af både knoglevæv og omgivende blødt væv. Denne forringelse af blodforsyningen er vist også at påvirke pulpa således at karrene fremstår med fortykkede vægge pga. endotelproliferation og øget dannelse af fibrøst væv. Karændringen hæmmer formentlig udvekslingen af næringstoffer i pulpa-dentin-organet (20).

To arbejder beskæftiger sig specifikt med hvorledes emalje-dentin-grænsen påvirkes ved bestråling. Fællesnævneren for emalje-dentin-grænsens forandringer synes at være en fysisk svækkelse som følge af kollagenedbrydning. Nedbrydning af kollagen er imidlertid ikke begrænset til emalje-dentin-grænsen, men finder også sted i dentinen (4,14).

På baggrund af nærværende undersøgelse opstilles følgende hypotese for patogenesen af de strålebetingede læsioner: Strålingen medfører strukturelle forandringer i pulpa-dentin-organet og langs emalje-dentin-grænsen. Bindingen mellem kollagenfibriller og hydroxylapatitkrystaller bliver ustabil, hvorved dentinens mekaniske egenskaber ændres (21). Tilstedeværelsen af en dentinkerne med en forøget kompressibilitet, dækket af en upåvirket og hård emaljekappe, i forbindelse med nedsat binding mellem emalje og dentin samt gentagne tyggetryk medfører at emaljekappen langsomt løses fra dentinkernen. Herved opstår en spalte i den cervikale del af tandkronen. Det er således en forøgelse af forskellen i elasticitet mellem emalje og dentin der muliggør spaltedannelsen. Yderligere trykpåvirkninger af emaljen medfører at dele af denne frakturerer af, hvilket forklarer den manglende

demineralisering og de skarpe frakturkanter på den tilbageværende emalje. Frakturerer emaljen ikke af, opstår der ideelle forhold for udvikling af bakterieansamlinger med et højt syreproducerende potentiale, hvilket fører til demineralisering af både emalje og dentin med udgangspunkt i spalten. Dette fører til yderligere svækkelse og destruktion af tænderne.

Den beskrevne patogenese adskiller sig på væsentlige punkter fra den som kendes fra sygdommen caries. Udvikling af cariesbetingede læsioner tager udgangspunkt i en gradvis dannelse af en kariogen plak som følge af lokalt betinget, nedsat mekanisk forstyrrelse af bakterieansamlinger på tændernes overflade (22). Under normale omstændigheder er områder med nedsat slid eller mekanisk forstyrrelse sammenfaldende med de områder i tandsættet hvor spytfilmens hastighed er reduceret (18). Ophobning af syre fører til demineralisering af emaljeoverfladen, og kavitetsdannelse vil yderligere øge den kariogene plaks syreproducerende potentiale (17), og destruktions af de hårde tandvæv vil fortsætte såfremt professionel behandling ikke iværksættes. Når vi ser bort fra patologisk betinget nedsat spytksekretion, er sygdommen caries altså ikke relateret til påviselige »fej« i spyttet eller dets sammensætning (23). I denne undersøgelse sås kun få tegn på en ekstern demineralisering af emaljen som ville kunne fortjene diagnosen caries. De fleste undersøgelser der har beskæftiget sig med tanddestruktioner efter stråleterapi, har imidlertid sammenfattet accentueret caries på tandoverfladerne og de her beskrevne totale tanddestruktioner under ét som »strålecaries«. Kun *Mühlemann* (24) sondrede hos strålebehandlede patienter mellem egentlig caries og strålebetting destruktion af tanden.

På baggrund af vore iagttagelser finder vi udtrykket »strålecaries« uheldigt, eftersom man uvægerligt vil forbinde fænomenet med massive plakansamlinger, nedsat spytksekretion og svære cariesbetingede kavitetsdannelser.

I fremtidige undersøgelser vil det derfor være hensigtsmæssigt at skelne mellem accentueret caries som følge af de ændrede miljøforhold og de strålerelaterede destruktions. For at komme sandheden nærmere mht. årsagssammenhænge er det vigtigt at inddrage oplysninger om stråleretning, dosisstørrelse og strålefeltets udbredelse i relation til den kliniske undersøgelse før strålebehandlingen. Viser det sig at der er en skadelig effekt på tandsubstansen ved bestrålingen, vil den nuværende profylaktiske behandlingsvinkel med hyppige tandrensninger og intensive fluorbehandlinger (1) være omsonst til forebyggelse af destruktions. Hvis disse læsioner skal undgås, må behandlingen tage sigte imod en minimering af bestrålingen af sund tandsubstans.

Til gengæld mener vi at der, indtil der foreligger mere

viden på området, altid bør iværksættes en forebyggende behandling af alle patienter der behandles med stråleterapi i hoved- og halsregionen for at nedsætte skaderne på de hårde tandvæv. Og hvis den aktive forebyggende behandling skal have effekt, skal den iværksættes før eller samtidig med strålebehandlingen, og ikke som det oftest sker *efter* at skaderne er blevet uoverskuelige.

### English summary

*The histopathology of teeth from patients who have received radiation therapy*

The examined teeth were macroscopically characterized by extensive loss of the enamel. The exposed dentine was soft, but without visible changes in the anatomical form. Light-microscopic examination showed distinct gap formation between the enamel and the dentine with accumulation of bacteria. The microradiographic examination revealed markedly demineralized dentine in areas with complete loss of the enamel as well as in the previously described gaps between the enamel and the dentine.

The histopathology of the destructions differed markedly from that of dental caries. On the basis of the findings it was therefore tempting to suggest an alternative hypothesis for the pathogenesis of the destructions. We consider it reasonable to believe that the radiation directly affects the binding between the collagen and the calcified components of the dentine. Mechanical pressure on the unaffected and highly mineralized enamel cap leads to fractures along the enamel-dentine junction. The fractures and the subsequent formation of gaps between the enamel and the dentine are initiated in the cervical region. Accumulation of bacteria with cariogenic potential in the gaps leads to demineralization of the dentine, which further accelerates enamel fractures and eventually the complete loss of the relatively unaffected enamel. Further research is needed to substantiate the hypothesis and to develop appropriate measures for the prevention of this side-effect to radiation therapy.

### Litteratur

1. Sørensen S. Hvad ved vi om cariesudvikling hos strålebehandlede patienter? En litteraturoversigt (afløsningsopgave i Tandsygdomslære). Tandlægeskolen, Københavns Universitet; 1996.
2. Vissink A, Panders AK, Johannes's-Gravenmade E, Vermey A. The causes and consequences of hyposalivation. *Ear Nose Throat J* 1988; 67: 166-8, 173-6.
3. Cooper JS, Fu K, Marks J, Silverman S. Late effects of radiation therapy in the head and neck region. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 5: 1141-64.
4. Raab WH-M, Petschelt A, Voss A. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zur radiogenen Karies. *Dtsch Zahnärztl Z* 1990; 45: 425-7.

5. Frank RM, Herdly J, Philippe E. Acquired dental defects and salivary gland lesions after irradiation for carcinoma. *J Am Dent Assoc* 1965; 70: 868-83.
6. del Regato JA. Dental lesions observed after roentgentherapy in cancer of the buccal cavity, pharynx and larynx. *Am J Roentgenol* 1939; 42: 404-10.
7. Neville BW, Damm DD, Allen CAM, Bouquot JE. *Oral and maxillofacial pathology*. Philadelphia: Saunders; 1995. p. 218-21.
8. Anneroth G, Holm L-E, Karlsson G. The effect of radiation on teeth – a clinical, histological and microradiographic study. *Int J Oral Surg* 1985; 14: 269-74.
9. Jansma J, Borggreven JPM, Driessens FCM, Johannes's-Gravenmade E. The effect of x-ray irradiation on the demineralization of bovine dental enamel. *Caries Res* 1988; 22: 199-203.
10. Joyston-Bechal S. The effect of x-radiation on susceptibility of enamel to an artificial caries-like attack in vitro. *J Dent* 1985; 1: 41-4.
11. Walker R. Direct effect of radiation on the solubility of human teeth. *J Dent Res* 1975; 54: 901.
12. Shannon I, Wescott WB, Starcke EN, Mira J. Laboratory study of cobalt-60-irradiated human dental enamel. *J Oral Med* 1978; 33: 23-7.
13. Pioch T, Möller D, Staehle HJ, Hoppe W. Über das Lösungsverhalten von Zahnschmelz und synthetischem Hydroxylapatit nach Bestrahlung. *Dtsch Zahnärztl Z* 1991; 46: 413-5.
14. Pioch T, Golfels D, Staehle HJ. An experimental study of the stability of irradiated teeth in the region of the dentinoenamel junction. *Endod Dent Traumatol* 1992; 8: 241-4.
15. Bjørndal L, Thylstrup A, Ekstrand KR. A method for lightmicroscopy examination of cellular and structural interrelations in undemineralized tooth specimens. *Acta Odontol Scand* 1994; 52: 182-90.
16. Engbæk K, Johansen KS, Jensen ME. Gramfarvning af bakterier i formalinfikseret parafinsnit. *Ugeskr Læger* 1977; 139: 2385.
17. Bowden G, Edwardsson S. Oral ecology and dental caries. In: Thylstrup A, Fejerskov O, editors. *Textbook of clinical cariology*. 2nd ed. Copenhagen: Munksgaard; 1994. p. 45-69.
18. Dawes C, Watanabe S, Biglow-Lecomte P, Dibdin GH. Estimation of the velocity of the salivary film at some locations in the mouth. *J Dent Res* 1989; 68: 648-53.
19. Poyton HG. The effects of radiation on teeth. *Oral Roentgenol* 1968; 26: 639-46.
20. Knowles JC, Chalian VA, Shidnia H. Pulp innervation after radiation therapy. *J Prosthet Dent* 1986; 6: 708-11.
21. Salehpour A, Butler DL, Proch FS, Schwarts HE, Feder SM, Doxey CM, et al. Dose-dependent response of gamma irradiation on mechanical properties and related biochemical composition of goat bone-patellar tendon-bone allografts. *J Orthopaedic Res* 1995; 13: 898-906.
22. Thylstrup A, Bruun C, Holmen L. In vivo caries models – mechanisms for caries initiation and arrestment. *Adv Dent Res* 1994; 8: 144-57.
23. Hansen H, Seppä L, Fejerskov O. Can caries be predicted? In: Thylstrup A, Fejerskov O, editors. *Textbook of clinical cariology*. 2nd ed. Copenhagen: Munksgaard; 1994. p. 393-411.
24. Mühlemann HR. Das Verhalten von Kiefer und Zähnen bei der

Radiotherapie von malignen Tumoren der Mundhöhle und des Pharynx. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1945; 55: 641-88.

### Forfattere

Siri Beier Jensen, stud. odont., og Anja Weirsøe Dynesen, stud. odont.  
Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet,  
Københavns Universitet