

## DESENVOLVIMENTO INTRA-OCULAR DE GERMES DENTAIS IRRADIADOS

Elenir de SIQUEIRA\*  
Maria Tereza Giroto MATHEUS\*\*  
Sebastião HETEM\*\*

---

**RESUMO:** Foi observado o desenvolvimento do germe dental transplantado para a câmara anterior do olho, após ser submetido a uma dose única de irradiação de 100r. Para tanto, as camundongas foram sacrificadas 14, 15 e 16 dias após o aparecimento do "plug vaginal" e a metade de seus fetos constituiu o grupo controle e a outra metade o grupo irradiado. Após um período experimental de dez dias de realização do transplante, os camundongos adultos, que serviram como hospedeiros, foram sacrificados, seus globos oculares removidos, fixados, descalcificados e posteriormente processados para o exame histológico. Os resultados obtidos não permitiram verificar efeitos das irradiações sobre os germes dentais transplantados, uma vez que a diferenciação celular e a morfogênese dental pareceram ocorrer normalmente.

**UNITERMOS:** Desenvolvimento denta; raios-X; implante intra-ocular.

---

O desenvolvimento dental de ratos, camundongos e macacos já foi estudado *in vivo* (SCHOUR e MASSLER, 1949; COHN, 1957; KOLLAR e BAIRD, 1969; HETEM, 1975a), *in vitro* (HAY, 1961; KOLLAR e BAIRD, 1968), sob a ação de agentes teratogênicos, tais como as radiações (BURSTONE, 1950; BURSTONE e LEVY, 1949; ENGLISH, 1956; ARCHER e colabs., 1970; GARTNER e colabs., 1977) e após a realização de transplantes (FLEMING, 1952; FONG e BERGER, 1970; HETEM, 1975b; BARTLETT e colabs., 1978). Diante da variabilidade da metodologia colocada à disposição e da possibilidade de associação destes métodos, propomo-nos a estudar o desenvolvimento de germes dentais transplantados, para a câmara anterior do olho de camundongos após serem irradiados.

### MATERIAL E MÉTODO

Foram sacrificadas 10 camundongas prenhes (*Mus musculus* — var. albino Swiss), por deslocamento cervical, 14, 15 e 16 dias, após o aparecimento do "plug" va-

ginal; seus fetos foram removidos juntamente com o útero e mantidos numa solução de Tyrode (Difco) e soro fetal bovino (Gibco), na proporção de 4:1, em volume. A idade fetal foi confirmada baseando-se nos critérios morfológicos descritos por GRUNEBERG (1943).

Utilizaram-se 8 fetos de cada camundonga, que foram divididos passando quatro a constituir o grupo controle e quatro, o grupo irradiado. A irradiação foi realizada através de um aparelho de raios X dental (mobile 100-15, GE) com filtro equivalente a 25mm de Al, de 90Kv, 10 mA, através de um colimador, (cone-Videx-MASCOT). Foram realizadas 5 exposições de 5 segundos cada uma, num total de 100r, o que equivale a 240r/min.

A região dos germes dos molares inferiores foi dissecada constituindo um bloco de tecido, que também foi conservado em solução de Tyrode e soro fetal bovino (4:1) até ser implantado na câmara anterior do olho de camundongos adultos, da mesma linhagem. Estes animais foram anestesiados

---

\* Estagiária da Disciplina de Histologia e Embriologia. Cirurgiã-Dentista.

\*\* Disciplina de Histologia e Embriologia. Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, São Paulo, Brasil.

com Pentobarbital sódico a 3% (Fontoura Wyeth S.A), na dosagem de 1 ml/Kg de peso, por via intraperitoneal, para possibilitar a implantação dos germes dentais.

O sacrifício dos hospedeiros aconteceu dez dias após o ato cirúrgico, por inalação excessiva de éter sulfúrico. Os globos oculares foram removidos, fixados em formalina neutra a 10% durante 24 horas e levados a uma solução de partes iguais de citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 50%, para a descalcificação dos dentes ali implantados.

Após inclusão em parafina, foram cortados na espessura de 6 micrômetros, corados pela hematoxilina e eosina e posteriormente examinados ao microscópio. Os cortes mais representativos de cada órgão dental foram fotografados e efetuadas medidas de espessura dos tecidos duros dentais, de cada grupo examinado a fim de poder fazer comparações do desenvolvimento destes tecidos entre os grupos.

## RESULTADOS

O exame histológico dos grupos controle e irradiado, nos diversos períodos examinados, mostrou as estruturas dentais com desenvolvimento que não permitiu, pela análise realizada, admitir diferenças entre órgãos dentais estudados (figs. 1 a 5). As diferenças aparentes encontradas nas figuras devem ser atribuídas à impossibilidade de orientação dos blocos para obtenção dos cortes histológicos. Tanto no grupo irradiado quanto no grupo controle observamos que os ameloblastos apresentavam-se diferenciados e com sua morfologia normal, o mesmo ocorrendo com os odontoblastos.

As características morfológicas e estruturais dos germes dentais eram semelhantes entre os espécimes provenientes dos animais de ambos os grupos. A forma da coroa dentária estava estabelecida, o esmalte e a dentina depositados em todo o contorno do limite amelo-dentinário, com exceção das áreas caracteristicamente carentes de esmaltes.

A camada de pré-dentina estava presente, a polpa dental preenchia toda a cavidade circunscrita pelos odontoblastos e não apresentava nenhuma forma de degeneração, e o saco dental envolvia todo o germe em desenvolvimento (fig. 6).

O aparecimento de mais de três molares foi observado em alguns casos, em ambos os grupos (fig. 6).

## DISCUSSÃO

RUSSEL e RUSSEL (1954) determinaram que uma dose única de 100 a 200r, a partir do 8.º dia de vida intra-uterina deixa de ser letal aos fetos de ratos para apresentar uma proporção muito grande de malformações, perfeitamente explicáveis pela embriogêneses. A partir deste período, os raios X atingem órgãos em pleno desenvolvimento e determinam anomalias cuja localização e expressão dependem do grau de diferenciação dos tecidos no momento da irradiação (TÖNDUREY 1966).

Como as fases do desenvolvimento embriológico do rato (NICHOLAS, 1949) correspondem cronologicamente às do camundongo (GRUNEBERG, 1943) e, a partir do 13.º e 14.º dia de vida intra-uterina se dá o início da formação dos germes dentais dos molares e dos incisivos, respectivamente, tanto para o rato (SCHOUR e MASSLER, 1949) quanto para o camundongo (COHN, 1957; HAY, 1961) era de se esperar que a taxa de dose por nós utilizada apresentasse alguma significação para o desenvolvimento dental do camundongo, como foi descrito para o rato (BURSTONE) 1950; ENGLISH, 1956; ARCHER e colabs., 1970; GARTNER e colabs., 1977).

Pesquisas realizadas em camundongos, no entanto, causaram impacto (RUSSEL e colabs., 1958) ao ser observado que para oôgonias e espermatogônias a mesma dose de raios X poderia causar efeitos quantitativamente diferentes, quer fosse aplicada de uma vez, irradiação aguda, quer no decorrer de

um longo período de tempo, irradiação crônica. Isto pôs por terra um dos princípios da radiogenética que determinava, para o aparecimento de mutações, a importância da dose final aplicada, independentemente do tempo decorrido na aplicação. Segundo esses autores o comportamento celular seria explicado por razões de ordem cromossômica individuais ou então por razão não cromossômica, que seria em decorrência da maior eficiência relativa da restauração celular.

Embora nossa taxa de irradiação não fosse crônica e nem aplicada sobre células de linhagem germinativa, seria necessário ressaltar, segundo FREIRE-MAIA (1972), que dados obtidos em camundongos confirma o que se conhecia por observações em outros animais, que doses muito pequenas (1r ou menos), assim como doses distribuídas na base de taxas extremamente reduzidas (0,001r/min) são geneticamente ativas, sendo que toda dose que determina efeito genético, ao nível cromossômico, deve ter repercussão somática.

A falta de efeito morfológico aparente ao nível dental por nós observada, apesar da irradiação ter sido efetuada no período "crítico" do desenvolvimento desses órgãos dentais, sugere que o número de células lesadas deve ter sido inferior ao limiar necessário para que o efeito esperado se produzisse, pois, nenhuma irradiação crônica em qualquer dosagem é inofensiva (RUSSEL e cols., 1959). Ainda, nas dosagens que variaram de 100 a 1000r, RUSSEL (1957a;b), e RUSSEL e RUSSEL (1959) verificaram que camundongos irradiados no útero apresentaram diminuição de período de vida, redução da viabilidade geral, redução do tamanho do corpo e aumento numérico das malformações.

Um outro fator que precisa ser considerado, neste caso especificamente, é o fato dos germes dentais terem sido implantados na câmara anterior do olho de hospedeiros não irradiados e, portanto, não comprometidos radiologicamente, uma vez que alterações induzidas só ocorrem nas células atingi-

das pelas radiações (FREIRE-MAIA, 1972). Desta forma, o hospedeiro deve ter propiciado às células implantadas condições de se desenvolverem, se diferenciarem e exercerem sua função, uma vez que os dentes não são constituídos por tecidos imunologicamente privilegiados, mas provocam respostas celulares mediadas por parte de hospedeiros alôgenos e estão sujeitos, como resultado, às mesmas lesões invaso-destrutivas (ATKINSON, 1978).

Acontece, porém que a câmara anterior do olho é considerada um sítio privilegiado (ROITT, 1976; ATKINSON, 1978) quanto ao aspecto imunológico, por não possuir circulação linfática, o que não permite estimulação de células imunologicamente competentes (BIER e cols., 1973), não desencadeando uma reação antígeno-anticorpo sobre o corpo estranho que lhe foi depositado (MEDAWAR, 1944).

Desta forma a semelhança dos nossos resultados para os dois grupos examinados parece ser devida aos fatos: dos germes dentais terem sido irradiados antes de serem implantados; do local de implantação não os agredir imunologicamente; do hospedeiro não ter sido irradiado; e da dosagem da radiação utilizada ter sido compatível com a vitalidade fetal.

Por outro lado, com relação à ocorrência de dentes supranumerários, nossos resultados corroboram os de SOFAER (1969) e SOFAER e SAW (1971), em ratos, e os de KERLEY e KOLLAR (1977), em camundongos. Esta ocorrência poderia resultar de uma dicotomização da lâmina dental posterior ou pode envolver a expressão de uma pré-disposição inerente à formação de dentes adicionais (KERLEY e KOLLAR, 1977). Como este fato ocorreu tanto para o grupo controle quanto para o irradiado, deduz-se que não houve interferência de ação dos raios X para o aparecimento de tal fenômeno.

*Trabalho financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. (Proc. 74/1262).*

SIQUEIRA, E., MATHEUS, M.T.G. & HETEM, S. Intra-ocular development of irradiated tooth germs.

**ABSTRACT:** This research was done in order to verify the action of X-rays on the development of tooth germs transplanted to the anterior chamber of the eye, after to be submitted to a single dose of 100r of radiation. For this, female mice were killed 14, 15 and 16 days after the appearance of the vaginal plug and one half of the fetuses constituted the control group and the other half the irradiated group. After an experimental period of 10 days, following the transplantation, the adult mice, used as hosts, were killed, the eyes dissected and processed for histological examination. The results did not show any effect of the radiation on the tooth germs once that the cellular differentiation and dental morphogenesis seem to occur normally.

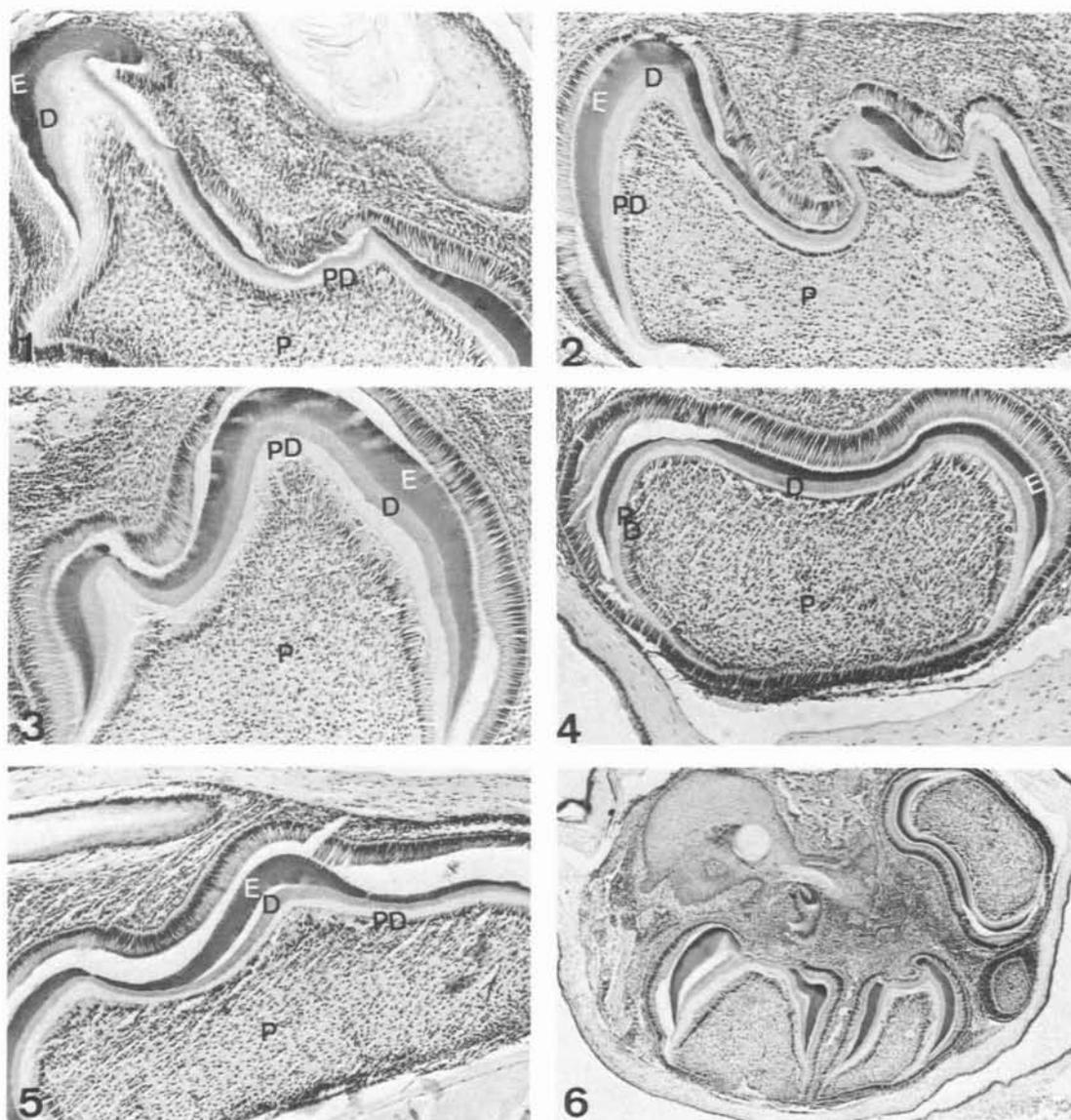
#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARCHER, R.R., GREENWELL, E.J., WARE, T. & WECKS, P.M. 1970. Irradiation effect on wound healing in rats. *Radiation Res.*, 41: 104-112.
- ATKINSON, M.E. 1978. Histological and immunological aspects of tooth transplantation. *J. oral. path.*, 7: 43-61.
- BARTLETT, P.F., SIM, F.R.P., READE, P.C. & PRIME, S.S. 1978. Transplantation of bovine odontogenic tissues and dissociated odontogenic cells to hypothyroid mice. *Transplantation*, 25: 126-130.
- BIER, O., MOTA, I., SILVA, W.D. & VAZ, M.N. 1973. *Imunologia Básica e Aplicada*. 19ª edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- BURSTONE, M.S. 1950. The effect of X-ray irradiation on the teeth and supporting structures of the mouse. *J. dent. Res.*, 29: 220-231.
- BURSTONE, M.S. & LEVY, B.M. 1949. The effect of X-radiation of the jaws of mice. *J. dent. Res.*, 28: 656. (abstract)
- COHN, S.A. 1957. Development of the molar teeth in the albino mouse. *Amer. J. Anat.*, 101: 295-319.
- ENGLISH, J.A. 1956. Localization of radiation effects in rat's teeth. *J. dent. Res.*, 35: 1132-1138.
- FLEMING, H.S. 1952. Homologous and heterologous intraocular growth of the transplanted tooth germs. *J. dent. Res.*, 31: 166-188.
- FLEMING, H.S. 1953. Effects of crystalline cortisone acetate on growth of intraocular transplants of tooth germs. *J. dent. Res.*, 32: 101-109.
- FONG, C. & BERGER, J. 1970. Tissue response to X-irradiated tooth transplants. *Oral Surg.*, 29: 275-281.
- FREIRE-MAIA, N. 1972. *Radiogenética humana*. Ed. Edgard Blücker Ltda. São Paulo.
- GARTNER, L.P., HIATT, L.J. & PROVENZA, V.D. 1977. Effects of ionizing radiation on incisor development of the prenatal mouse. *Acta anat.*, 98: 367-375.
- GRUNEBERG, H. 1943. The development of some external features in mouse embryos. *J. hered.*, 34: 89-92.
- HAY, M. 1961. The development "in vivo" and "in vitro" of the lower incisor and molars of the mouse. *Arch. oral Biol.*, 3: 86-109.
- HETEM, S. 1975a. Effect of transplacentally acquired tetracycline on tooth germ development. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 4: 23-25.
- HETEM, S. 1975b. Influence of tetracycline on development of intraocular grafts of tooth germs. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 4: 29-31.
- KERLEY, M.A. & KOLLAR, E.J. 1977. Supernumerary tooth formation in mouse molar transplants. *J. dent. Res.*, 56: 1344.
- KOLLAR, E.J. & BAIRD, G.R. 1968. Effect of beta-2-thienyl-alanine on developing mouse germs "in vitro". *J. dent. Res.*, 47: 433-444.
- KOLLAR, E.J. & BAIRD, G.R. 1969. The influence of the dental papilla on the development of tooth shape in embryonic mouse tooth germs. *J. Embryol. exp. Morph.*, 21: 131-148.
- MEDAWAR, P.B. 1944. Behavior and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J. Anat.*, 78: 166-199.
- NICHOLAS, J.S. 1949. Experimental methods and rat embryos. In GRIFFITH, J.Q. & FARRIS, E.J. *The rat in Laboratory Investigation*. 2nd ed. J.B. Lippincott Co. Philadelphia.

DESENVOLVIMENTO DE GERMES DENTAIS IRRADIADOS

- ROITT, T. 1976. *Imunologia*, 2.<sup>a</sup> ed. Livraria Atheneu, Rio de Janeiro.
- RUSSEL, L.B. 1957a. Genetic consideration in the practice of ovarin irradiation from the treatment of sterility. The Year Book of obst. and gyn. Apud FREIRE-MAIA, N. 1972. *Radiogenética humana*. Ed. Edgard Blücker Ltda. São Paulo.
- RUSSEL, W.L. 1957b. Shortening of life in the offspring of male mice exposed to neutron radiation from an atomic bomb. *Proc. Nat. Acad. Sc. U.S.A.*, 43: 324-328.
- RUSSEL, L.B. & RUSSEL, W.L. 1954. An analysis of the changing radiation response of the developing mouse embryo. *J. cell. comp. Physiol.*, 43: 103-147.
- RUSSEL, W.L. & RUSSEL, L.B. 1959. Radiation-induced genetic damage in mice. Progress in Nuclear Energy. Pergamon Press. Apud FREIRE-MAIA, N. 1972. *Radiogenética humana*. Ed. Edgard Blücker Ltda. São Paulo.
- RUSSEL, W.L., RUSSEL, L.B. & KELLY, E.M. 1958. Radiation dose rate and mutation frequency. *Science*, 128: 1546-1550.
- RUSSEL, L.B., SUSAN, K., BADGETT, C., SAYLORS, L. 1959. Comparison of the effects of acute, continuous and fractioned irradiation during embryonic development. Immediate and Low Effects of Ionizing Radiations. Apud FREIRE-MAIA, N. 1972. *Radiogenética humana*. Ed. Edgard Blücker Ltda. São Paulo.
- SCHOUR, I. & MASSLER, M. 1949. The teeth. In GRIFFITH, J.Q. & FARRIS, E.J. — *The rat in Laboratory Investigation*. 2nd ed. J.B. Lippincott Co. Philadelphia.
- SOFAER, J.A. 1969. Aspects of the tably-crinkled down less syndrome. I. The development of tably teeth. *J. Embryol. exp. Morph.*, 22: 181-205.
- SOFAER, J.A. & SAW, J.H. 1971. The genetics and development of fused supernumerary molars in the rice rat. *J. Embryol. exp. Morph.*, 26: 99-109.
- TONDUREY, G. 1966. Factores etiológicos das malformações humanas. *Triângulo*, 7: 90-100.

Recebido para publicação em 20/5/1979



- Fig. 1 — Molar de feto do grupo controle, com 14 dias de vida intra-uterina e 10 dias na câmara anterior do olho, mostrando esmalte (E), dentina (D), pré-dentina (Pd) e polpa (P). H.E. 75X
- Fig. 2 — Molar de feto do grupo irradiado, com 16 dias de vida intra-uterina e 10 dias na câmara anterior do olho. H.E. 75X
- Fig. 3 — Molar de feto do grupo controle, com 16 dias de vida intra-uterina e 10 dias na câmara anterior do olho. H.E. 75X
- Fig. 4 — Molar de feto do grupo controle, com 16 dias de vida intra-uterina e 10 dias na câmara anterior do olho. H.E. 75X
- Fig. 5 — Molar de feto do grupo irradiado, com 16 dias de vida intra-uterina e 10 dias na câmara anterior do olho. H.E. 75X
- Fig. 6 — Molar de feto do grupo controle, com 16 dias de vida intra-uterina e 10 dias na câmara anterior do olho; notar a presença de 4 germes dentais. H.E. 25X