

REIMPLANTE DE INCISIVOS E ADMINISTRAÇÃO DE CICLOFOSFAMIDA Estudo histológico em ratos

Mercês Cunha dos SANTOS PINTO*
Celso MARTINELLI**
Ruy dos SANTOS PINTO***

RESUMO: Utilizaram-se 80 ratos albinos machos com peso entre 165 e 260 gramas, divididos em quatro grupos: grupo I — os animais receberam 3 ml de água bidestilada estéril por via intra-peritoneal até ao sacrifício; grupo II — receberam, diariamente 15 mg de ciclofosfamida (Enduxan) por kg de peso corporal, diluídas em 3 ml de água bidestilada; grupo III — os animais sofreram a extração e reimplante de seus incisivos superiores e injeções de água bidestilada; grupo IV — os animais deste grupo sofreram extração e reimplante de seus incisivos superiores e foram tratados da mesma maneira que os animais do grupo II. Após o processamento das peças, observou-se nos animais do grupo II, no terço apical, zonas de necrose e a invasão de polpa por massas mineralizadas atípicas, com uma parada na dentinogênese, a partir do décimo dia. Além disso, a interação trauma cirúrgico e injúria medicamentosa, representada pelo reimplante dental e administração do Enduxan, desencadeou um resultado desfavorável mais extenso e intenso que a somatória dos resultados dos outros grupos. Por outro lado, os tecidos dentais, com exceção do cimento e dentina aos dois dias, e o osso peridental dos ratos do grupo IV, sofreram alterações patológicas em todos os tempos considerados.

UNITERMOS: Reimplante; ciclofosfamida; imunossupressor.

Incisivos de ratos, quando reimplantados ou transplantados (MARCANTONIO, 1973; RAMALHO, 1968), têm exibido a ocorrência de massas mineralizadas metaplásicas, germes dentais ao nível da papila dental, anquilose alvéolo-dental além de outras entidades patológicas.

Essas alterações são atribuídas não só à injúria mecânica, representada pelos procedimentos cirúrgicos, como às respostas bioquímicas dos tecidos dentais e peridentais (CASTRO e colabs., 1968; CALLESTINI e colabs., 1974; CARVALHO e colabs., 1972).

A possibilidade da ciclofosfamida, quimioterápico do grupo das mostardas nitro-

genadas, minimizar as ocorrências patológicas após reimplantes de dentes de crescimento contínuo, sugeriu a realização de sua análise através dos estudos clínicos e radiográficos (SANTOS PINTO e colabs., 1975) e do presente estudo histológico, concomitantemente.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 80 ratos albinos machos com peso entre 165 e 260 gramas, divididos em quatro grupos iguais.

Nos grupos I e III, cada um dos ratos recebeu, diariamente, por via intraperitoneal, 3 ml/Kg de água bidestilada estéril, até

* Disciplina de Radiologia. Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, São Paulo, Brasil.

** Disciplina de Patologia. Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, São Paulo, Brasil.

*** Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial. Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, São Paulo, Brasil.

ao sacrifício, enquanto os dos grupos II e IV receberam, diariamente, 15 mg/Kg de ciclofosfamida (Enduxan, Pravaz-Recordati) diluídas em água bidestilada. Os animais dos grupos III e IV sofreram a extração e reimplante de seus incisivos superiores direitos.

Após o sacrifício dos animais aos 2, 5, 10, 15 e 20 dias pós-operatórios, cada um deles teve suas maxilas separadas ao longo da sutura intermaxilar, de forma a serem obtidas duas peças, aproveitando-se apenas a do lado direito.

As peças foram fixadas em formalina a 10%, descalcificadas em solução de citrato de sódio e ácido fórmico em partes iguais e incluídas, a vácuo, em parafina.

Os cortes, semi-seriados, com 6 micrômetros de espessura, foram corados pela hematoxilina de Harris e eosina.

RESULTADOS

Tecido Ósseo

No grupo III, aos dois dias, a face lingual, ao nível do terço cervical, mostra-se ligeiramente irregular e aos cinco dias, no seu terço médio, apresenta reduzido número de osteoclastos. Aos dez e quinze dias, observam-se aposição óssea no terço cervical e aspecto de tecido ósseo íntegro nos terços médios e apical. Aos vinte dias, nota-se a presença de osteoblastos em cordão (fig. 1).

Na face vestibular, aos cinco dias, observa-se elevado número de osteoclastos e aos dez e quinze dias esse tecido mostra-se com atividades osteoblástica e osteoclástica reduzidas.

No Grupo IV, aos cinco dias, o tecido ósseo da face vestibular exibe superfície irregular e presença de osteoclastos. Na face lingual, no terço cervical, notam-se áreas de necrose. Os processos de reabsorção e necrose progredem nos tempos pós-operatórios seguintes e aos quinze dias, em ambas as faces, o tecido ósseo acha-se totalmente necrosado com áreas de osso sequestrado (fig. 2).

Órgão do Esmalte

Aos dois dias, no grupo III, ao nível do terço cervical, não há limite nítido entre o órgão do esmalte e epitélio.

Entre o terço cervical e médio, pode-se notar uma solução de continuidade e atrofia deste tecido. No terço apical, encontra-se o órgão do esmalte com um plissamento (fig. 3). Aos cinco dias, ao nível do terço médio, podem ser vistas alterações do tipo degenerativo atrófico. Ao nível do terço cervical, este tecido exibe seu arranjo arquitetural totalmente alterado. Aos dez dias, ao nível do terço médio, o órgão do esmalte mostra-se com algumas soluções de continuidade. No terço apical, pode ser visualizado, ao lado de matriz "normal" em algumas regiões, matriz com aspecto hialiano. Aos vinte dias, ao nível dos terços médio e apical, o órgão de esmalte e sua matriz podem ser observados com todas as suas características de integridade (fig. 4).

Ao dois dias, no grupo IV, ao nível dos terços cervical e médio, observam-se profundas alterações atróficas, existindo áreas com solução de continuidade extensa. Ao nível do terço apical, mostram-se alterações de ordem degenerativa tipo cístico. Bem próximos à papila dental, encontram-se deslocados órgãos do esmalte e matriz primária do esmalte, com áreas de hemorragia (fig. 5). Aos cinco dias, esta estrutura mostra-se profundamente alterada com processos degenerativos atróficos e, às vezes, produzindo massas mineralizadas atípicas. Aos dez dias, ao nível do terço apical, há restos do órgão de esmalte produzindo matriz aparentemente "falha". Aos quinze dias, ao nível da porção mais inferior do terço apical, é observado somente o esmalte primário (fig. 6).

Cemento e Dentina

Aos dez e quinze dias, no grupo II, ao nível do terço apical, observa-se uma parada na dentinogênese. Aos vinte dias há uma ausência de dentina em todo o terço apical, no entanto, a câmara pulpar se encontra quase

totalmente preenchida por massa mineralizada (fig. 7).

Aos dois dias, no grupo III, verifica-se deflexão da dentina na porção apical. Aos cinco dias, além da deflexão da dentina, observa-se a formação de uma massa amorfa sem canaliculos, a este nível (fig. 8).

Aos cinco dias, no grupo IV, ao nível do terço apical, nota-se deflexão da dentina com formação de osteodentina. Esse fato também é constatado aos dez e quinze dias, sendo neste último período pouco evidente o cimento do terço apical. Aos dez dias, ao nível do terço cervical, observam-se algumas áreas com reabsorção cimento dentinária.

Polpa Dental

Aos dois dias, no grupo II, a polpa, ao nível de seu terço apical, mostra uma diminuição de células mesenquimais, degeneração vacuolar de seu citoplasma, aumento da quantidade de sua substância intercelular e aumento volumétrico citoplasmático. Em algumas áreas da papila, observa-se o aspecto de degeneração mixomatóide. Aos cinco dias, ao nível do terço apical, a substância intercelular adquire o aspecto nodular restando, em seu interior, células mesenquimais atípicas. Aos dez dias, a zona de necrose da polpa, ao nível do terço apical, aumentou sensivelmente a ponto de impedir a dentinogênese. Ainda estão presentes na polpa, células mesenquimais e, em alguns casos, tecido mineralizado com aspecto dentinóide ou osteóide mostrando, em certas regiões, pontos mais basofílicos, esféricos, semelhantes aos calcosferitos da dentina, ao nível do terço médio. Presentes ainda, formações anormais de vasos teleangectásicos com hemácia e coágulo protéico em seu interior. Aos quinze dias, as alterações são idênticas às do décimo dia variando apenas, quantitativamente. Aos vinte dias, nota-se um aumento considerável de vasos com relação aos resultados do tempo anterior, chegando, em determinadas regiões, a adquirir o aspecto hemangiomatóide (fig. 9). Neste tempo pós-

operatório, o tecido conjuntivo da papila exibe um aspecto fibrosado. As massas mineralizadas são mais homogêneas e revestidas por células morfologicamente semelhantes a odontoblastos.

Aos dois dias, no grupo III, ao nível do terço cervical, a polpa mostra-se fortemente congestionada. Notam-se em determinadas áreas deste terço e do terço médio, distúrbios circulatórios observados igualmente, na camada odontoblástica. No terço apical, podem ser evidenciadas camadas hemorrágicas, muito embora a polpa apresente um aspecto que se aproxima do normal. Aos cinco dias, ao nível do terço cervical, o tecido pulpar apresenta seus vasos em pré-estase ou trombosados. A camada odontoblástica aproxima-se da integridade. Ao nível dos terços médio e apical, a polpa exibe características de integridade, muito embora seus vasos apresentem alterações vasculares pronunciadas.

Aos dois dias, no grupo IV, ao nível dos terços cervical e médio, a polpa mostra um aspecto nítido de zona de necrose. A camada odontoblástica exibe vacuolizações nucleares intensas, ao nível do terço apical, observam-se algumas zonas ainda com características de integridade. Aos cinco dias, o terço cervical exibe vasos trombosados e com aspectos de atrofia reticular, com características bem próximas da necrose; ao nível do terço médio, podem ser vistas células com degenerações; no terço apical, a maioria das células apresenta-se com diferentes graus de picnose celular. A este nível, próximo à deflexão da dentina, nota-se a formação de um tecido mineralizado ou osteodentina. Somente os odontoblastos do terço apical é que conservam suas características de integridade. Aos dez dias, no grupo IV, nos três terços, necrose pulpar.

DISCUSSÃO

Nos animais do grupo II, o tecido ósseo, por não requerer um aporte nutricional elevado, não parece ter sofrido danos evidentes à ação do Enduxan.

No grupo III, em que se realizou somente o reimplante dental, a intensa atividade osteoclástica no 5.º dia sugere uma resposta ao trauma da intervenção cirúrgica. Aos 10 e 15 dias, a osteoclasia e osteoplasia pouco intensas sugerem uma atividade remodeladora, provavelmente em função do trabalho mecânico a desempenhar pelo dente e tecidos de suporte após o reimplante dental. A integridade do tecido ósseo peridental, aos 20 dias após o reimplante é elemento que vem a favor desse ponto de vista.

No grupo IV, a superfície óssea irregular e a presença de osteoclastos, ao nível da face lingual podem, como no grupo III, ser atribuídas ao trauma cirúrgico do reimplante. No entanto a presença de osso necrosado, ao lado de sequestros ósseos ao nível do terço apical desta face, não observados nos grupos II e III, podem significar perturbações metabólicas e/ou precariedade da defesa orgânica, seja pela ação do Enduxan sobre a fase G2 do ciclo celular, seja pela atuação sobre o setor Np das células de defesa da medula (KOSS, 1967). Nos animais dos grupos III e IV, microorganismos poderiam alcançar a intimidade dos tecidos interessados no reimplante, seja por via cirúrgica, seja pela hematogênica. A exacerbação da patogenicidade latente desses microorganismos poderia ser explicada pela queda da defesa orgânica dos animais do grupo IV e explicar as extensas necroses e sequestros ósseos observados neste grupo.

O órgão do esmalte não sofreu a ação isolada do Enduxan (grupo II), mas sim, a do reimplante (grupo III). O grupo IV, após o 2.º dia, apresentou atrofia do órgão do esmalte. A atrofia desse órgão segundo, CASTALDI (1959), SATHER (1964) e VIA (1968), leva o esmalte a uma hipoplasia e hipomaturação, resultantes de distúrbios no metabolismo da camada ameloblástica do órgão do esmalte após traumas mecânicos.

À vista dos resultados do grupo III, é possível compreender que um trauma mecânico, nos limites da agressão pela intervenção cirúrgica, mastigação e atrição dentais

pode promover o plissamento, atrofia e soluções de continuidade do órgão do esmalte. A vascularização do tecido conjuntivo a seu nível favorece e contribui para que a agressão seja superada. A integridade deste órgão aos 20 dias corrobora esta hipótese.

Por outro lado, o trauma mecânico associado à injúria medicamentosa, com a possível queda de resistência do animal, como o ocorrido naqueles do grupo IV, a partir das alterações atróficas, não permite ao órgão de esmalte desempenhar suas funções. As massas mineralizadas atípicas parecem ser decorrentes de alterações funcionais ameloblásticas.

A diminuição de células mesenquimais, degeneração vacuolar do citoplasma destas células, aumento da quantidade de substância intercelular e o aspecto de degeneração mixomatóide, ao nível das papilas dos animais do grupo II, ao segundo dia, são elementos característicos de alterações metabólicas que poderiam, já neste tempo, sugerir posterior metaplasia.

No vigésimo dia e, em determinadas regiões da papila, pode-se verificar formações vasculares com aspecto hemangiomatóide em todos os animais deste grupo injetado com Enduxan. Estes resultados e a ausência de dentinoclastos, são elementos que falam a favor de uma parada de dentinogênese. Estes resultados sugerem que, a partir de duas aplicações de 15 mg de Enduxan por quilograma de peso dos animais, houve o desencadeamento de uma reação desfavorável ao nível da papila dental com evolução até a vigésima aplicação do medicamento. Muito provavelmente, a ciclofosfamida tenha agido perturbando de tal monta o metabolismo das células da papila a ponto de impedir seus processos de diferenciação e proliferação celulares. Esta perturbação parece estar ligada à vascularização precária da região, como atestam os resultados histológicos.

Num estudo mais longo, em função dos tempos após a injeção do Enduxan, talvez fosse possível verificar a expulsão dos dentes dos animais do grupo II, tal como teria ocor-

rido com os molares estudados por BARTO e colabs. (1971).

A constatação de reabsorção cimento dentinária ao nível do terço cervical somente aos dez dias (grupo IV) sugere a minimização do trauma do ato operatório, se aceitas as opiniões de BRABANT e colabs. (1958), COSTICH (1962) e OHMAN (1965) de que estas reabsorções estão diretamente ligadas ao trauma. O processo inflamatório ao nível do ligamento parece ser o responsável por esta discreta reabsorção (SHAPIRO e MCLEAN, 1945; WAITE, 1956; AGNEW e colabs., 1959 e LUKE e BOYNE 1968).

A deflexão da dentina, nos animais deste grupo IV, tal como nos do grupo III sugere, como sua etiologia, o trauma do reimplante dental (MARCANTONIO, 1973 e OKAMOTO, 1976).

O que se pôde observar no grupo IV foi um resultado desfavorável mais extenso e intenso que a somatória dos resultados dos grupos que constituem seus controles (grupos I, II e III).

A ação do Enduxan sobre a camada odontoblástica da polpa e sobre esta (grupo II), desencadeou distúrbios circulatórios ao nível desta camada e degeneração vacuolar citoplasmática e mixomatóide, em algumas áreas, aos dois dias. A somatória das doses diárias teria, nos tempos subsequentes, ampliado a zona de necrose a ponto de impedir a dentinogênese.

Nas condições estabelecidas para o grupo II, é possível entender-se que o Enduxan agiria sobre o tecido conjuntivo da polpa, seja produzindo distúrbios circulatórios e metabólicos, seja por sua ação direta sobre as células deste tecido. A injúria bioquímica do Enduxan sobre as células embrionárias da papila dental, promovendo o aparecimento

de massas mineralizadas, torna evidente que esta resposta à sua ação lesiva, assemelha-se à de traumas mecânicos tal como apontam MARCANTONIO (1973), CALLESTINI e colabs. (1974), OKAMOTO e colabs. (1971), CARVALHO e colabs. (1972) e OKAMOTO (1976), em papilas dentais de ratos.

No grupo III, o trauma do reimplante parece garantir à polpa dental condições de integridade em função dos tempos pós-operatórios.

Nos animais do grupo IV, nos tempos operatórios iniciais, ocorrem duas respostas, a primeira ao nível dos terços cervical e médio, e a segunda, ao nível do terço apical. Neste terço, no segundo dia, pode-se notar características de integridade; no quinto dia ocorrem diferentes graus de picnose celular e tecido mineralizado ou osteodentina. No décimo dia o tecido pulpar está comprometido por necrose, que se estende à morte dos animais.

A diferença da resposta à dupla agressão, medicamento e cirurgia, sugere-nos que a polpa dental, ao nível dos terços cervical e médio, não teria condições suficientes de nutrição e defesa para resistir a estas agressões, em virtude de problemas circulatórios. A resistência, relativamente maior do terço apical, quando comparada à do cervical e médio, explicar-se-ia pelo maior aporte sanguíneo desta área.

Pela resposta gradual dos tecidos dos grupos II e IV à droga, pode-se afirmar que o Enduxan poderia ser situado no grupo das substâncias tóxicas débeis, na dosagem empregada. Isto porque atua com maior lentidão e inativa, de maneira parcial, um sistema enzimático ou obstaculiza uma enzima de menor importância, provocando acentuadas alterações morfológicas (HOPPS, 1966), tais como as encontradas neste trabalho.

SANTOS PINTO, M. C., MARTINELLI, C. & SANTOS PINTO, R. Replantation of incisors and cyclophosphamide administration. A histological study in rats.

ABSTRACT: Eighty male albino rats were divided in four groups. In Group I — the animals were injected with 3 ml of bidistilled water intraperitoneally daily until the sacrifice. In Group II — the rats were injected intraperitoneally with 15 ml of cyclophosphamide/Kg body weight diluted in bidistilled water as the group I. Following the extraction and replantation of rat incisors, the animals of group III received the same treatment as the group I. In group IV — the incisors were extracted and replanted, and the animals were treated in the same manner as the rats in the group II. The rats of each group were sacrificed at the following intervals: 2, 5, 10, 15 and 20 days. According to the histologic analysis it was observed that: 1) In incisors of the animals of group II, at the apical third, there are necrosis zones and invasion of the pulp by a cellular calcified tissue and dentinogenesis stopped after the 10th day. The interaction of surgery and pharmacological injury, in group IV, was worst than the somatory of results of the other groups; and dental, except the cemento and dentin at the 2nd day, and bone tissues, in the animals of group IV, showing alterations in all the time considered.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGNEW, R. G., FONG, C. C., GILES, W. S. & GRANT, T. S. 1959. Intra oral transplantation of teeth. *J. dent. Res.*, 38:654 (abst.).
- BARTO, D. E., FITZGERALD, L. R. & MCKNIGHT, J. P. 1971. Effects of immunosuppressive agent on tooth development. *J. Tennessee St. dent. Ass.*, 51:129-132.
- BRABANT, H., KLEES, L. & WERELOS, R. J. 1958. *Anomalies, mutilations et tumeurs des dents humaines*. Ed. Julien Prêlat. Paris, p. 123.
- CALLESTINI, E. A., OKAMOTO, T. & SANTOS-PINTO, R. 1974. Comportamento dos tecidos dentais e peridentais após a fratura de incisivos de ratos. Estudo histológico. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 3:125-134.
- CARVALHO, A. C. P., CASTRO, A. L. & SANTOS-PINTO, R. 1972. Ressecção da papila dental de incisivos de ratos. Estudo clínico e histológico. *Rev. bras. Pesq. med. biol.*, 5:181—188.
- CASTALDI, C. R. 1959. Traumatic injury to unerupted incisors following a blow to the primary teeth. *J. Canad. dent. Ass.*, 25:752—762.
- CASTRO, A. L., SANTOS-PINTO, R. & OKAMOTO, T. 1968. Traumatismo em incisivos de ratos (*Rattus norvegicus*, *albinus*, *Wistar*). Estudo microscópico. *Rev. bras. de Odont.*, 25:155-168.
- COSTICH, E. R. 1962. Basic problems of regeneration and transplantation. *Dent. Clin. N. Amer.*, July, 513-526.
- HOPPS, H.C. 1966. *Patologia*. 2.^a ed., Editorial Interamericana, México, p. 406.
- KOSS, L. G. 1967. A light and electron microscopic study of the effects of a single dose of cyclophosphamide on various organs in the rat. The urinary bladder. *Lab. Invest.*, 16:44-65.
- LUKE, A. B. & BOYNE, P. J. 1968. Histologic response following autogenous osseous dental transplantation. *Oral Surg.*, 26:861-870.
- MARCANTONIO, E. 1973. Reimplante de incisivos de ratos. (*Rattus norvegicus*). *Rev. Fac. Odont. Araraquara*, 7(1):41-53.
- OHMAN, A. 1965. Healing and sensitivity to pain in young replanted human teeth. An experimental, clinical and histological study. *Odont. Tidskr.*, 73:165-227.
- OKAMOTO, T., CARVALHO, A. C. P., CASTRO, A. L. & SANTOS-PINTO, R. 1971. Behavior of dental and surrounding structures following dental papillary injury. A histologic study in rats. *J. Nihon Univ. Sch. Dent.*, 13:126-132.
- OKAMOTO, T. 1976. Reimplante de incisivos de ratos após ressecção da papila dental e o órgão do esmalte. Estudo histológico. *Rev. Ass. Paul. Cirurg. Dent.*, 30:382-395.
- RAMALHO, A. C. 1968. Transplantes homogêneos de incisivos de ratos em alvéolos dentais. *Rev. Fac. Farm. Odont. Araraquara*, 2:253-275.
- SANTOS-PINTO, M. C., MARTINELLI, C. & SANTOS-PINTO, R. 1975. Reimplante de incisivos e administração de ciclofosfamida. Estudo clínico e radiográfico. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 4:233-242.
- SATHER, A. H. 1964. Two effects of trauma. *Oral Surg.*, 18:757 (abst.).

REIMPLANTE DE INCISIVOS E ADMINISTRAÇÃO DE CICLOFOSFAMIDA

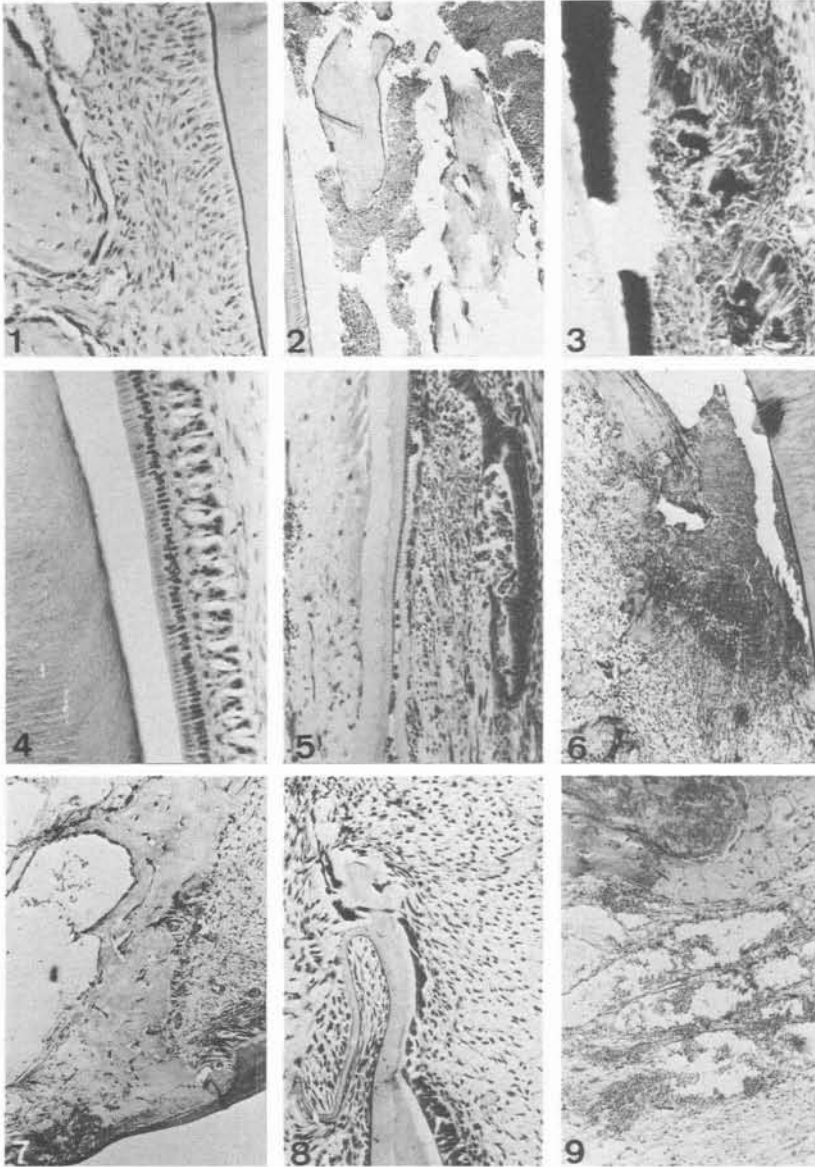
SHAPIRO, H. H. & MACLEAN, B. L. 1945.
Transplantation of developing tooth germs
in the mandible of the cat. *J. dent. Res.*,
24:93—102.

VIA, W. F. Jr. 1968. Enamel defects induced by

trauma during tooth formation. *Oral Surg.*,
25:49-54.

WAITE, D. E. 1956. Animal studies on dental
transplants. *Oral Surg.*, 9:40-45.

Recebido para publicação em 20.01.79.



- Fig. 1 — Grupo III — 20 dias. Tecido ósseo, face lingual; atividade osteoblástica, osteoblastos dispostos em cordão. Tecido conjuntivo com características de integridade. H. E. 160 X.
- Fig. 2 — Grupo IV — 15 dias — Tecido ósseo, face vestibular, terços médio e apical; osso necrosado e sequestro. Tecido conjuntivo necrosado. H. E. 63 X.
- Fig. 3 — Grupo III — 2 dias. Plissamento do órgão do esmalte. H. E. 160 X.
- Fig. 4 — Grupo III — 20 dias. Órgão do esmalte. Características de integridade. H. E. 160 X.
- Fig. 5 — Grupo IV — 2 dias. Órgãos do esmalte, terço apical com deslocamento e áreas de hemorragia. H. E. 160 X.
- Fig. 6 — Grupo IV — 15 dias. Tecido conjuntivo face lingual, terço médio, com aspecto de tecido de granulação. Tecido ósseo necrosado, órgão do esmalte, restos da matriz. H. E. 63 X.
- Fig. 7 — Grupo II — 15 dias. Dentina. Parada de dentinogênese com formação de massas hialinas mineralizadas amorfas. H. E. 63 X.
- Fig. 8 — Grupo III — 5 dias. Dentina, face vestibular. Deflexão da dentina com formação de massa mineralizada amorfa. H. E. 160 X.
- Fig. 9 — Grupo II — 20 dias. Polpa. Aumento do número de vasos adquirindo aspecto hemangiomatóide. H. E. 63 X.