

PROCESSO DE REPARO EM FERIDAS DE EXTRAÇÃO DENTAL EM RATOS SUBMETIDOS À AÇÃO DA DIFENIL-HIDANTOÍNA SÓDICA. ESTUDO HISTOLÓGICO.

Jorge E. BOGARIN-RODRIGUES*
Acyr Lima CASTRO**
Gildo MATHEUS***

RESUMO: Os autores estudam o processo de reparo de extração dental de ratos submetidos a administração de 35 mg/kg de peso de difenil-hidantoína sódica (EPELIN), via intraperitoneal. Decorridos 3, 6, 9, 12, 18 e 21 dias após a exodontia, os animais foram sacrificados tendo sido as peças obtidas processadas rotineiramente para o estudo histológico, o qual revelou que nos animais injetados ocorreu intensa fibrogênese na fase inicial e intermediária do processo de reparo alveolar o retardo na deposição de matriz óssea, culminando com atraso na formação e mineralização das trabéculas ósseas, na fase final da reparação.

UNITERMOS: Processo de reparo alveolar; difenil-hidantoína sódica.

Os efeitos da difenil-hidantoína sódica na cavidade bucal são traduzidos por incremento da ceratinização, aumento da atividade fibroblástica e da quantidade de fibras colágenas (BHUSSRY & RAO, 1963; NEASE, 1965), aumento do índice mitótico do epitélio gengival (SONI *et alii*, 1967) e aumento da atividade de síntese protéica nesse mesmo epitélio (HASSEL *et alii*, 1976).

Por outro lado, a ação da difenil-hidantoína sódica, não se faz sentir tão somente no componente gengival, senão também no componente ósseo. A terapêutica prolongada com o medicamento induz à osteomalácia (DENT *et alii* 1970; CHRISTIANSEN *et alii* 1972; GENUTH *et alii* 1972; RODBRO *et alii* 1974; MOSEKILDE & MELSEN, 1976; HARRIS *et alii* 1978).

Em ratos tratados com difenil-hidantoína sódica, HARRIS *et alii* (1978) verificaram igualmente osteomalácia, a qual

foi atribuída ao antagonismo desta com o efeito do calciferol.

Em fraturas experimentais de mandíbula de coelho tratados com difenil-hidantoína sódica, SKLANS *et alii* (1967) observaram, histologicamente, aceleração no reparo ósseo.

Portanto, partindo-se da premissa que a terapia anticonvulsiva com a difenil-hidantoína sódica é largamente empregada e, que tal terapêutica leva às alterações orgânicas mencionadas, pode-se supor que venham a ocorrer também alterações no processo de reparo em feridas de extração dental após o seu uso prolongado. Assim, é objetivo do presente trabalho estudar, histologicamente, o processo de reparo em feridas de extração dental em ratos submetidos à administração intraperitoneal da difenil-hidantoína sódica.

* Cirurgião Dentista — Bolsista da FUNDACIÓN GRAN MARISCAL DE AYACUCHO. VENEZUELA.

** Departamento de Diagnóstico e Cirurgia — Faculdade de Odontologia — UNESP — 16.100 — Araçatuba — SP.

*** Departamento de Patologia — Faculdade de Odontologia — UNESP — 16.100 — Araçatuba — SP.

MATERIAL E MÉTODO

Para o presente trabalho foram utilizados 48 ratos machos, com peso corporal entre 200 e 240g que foram divididos em dois grupos de 24 animais, constituindo-se, respectivamente, no grupo controle e grupo injetado.

Todos os animais foram alimentados com ração granulada (RAÇÃO BATAVO, B. Cooperativa Agro-Pecuária Batavo Ltda) triturada e, água à vontade.

Para os animais do grupo injetado, foram aplicados 35 mg/kg peso corporal de difenil-hidantoína sódica (EPELIN — Parke-Davis) pela via intraperitoneal. O preparo da solução foi feito imediatamente antes da aplicação, dissolvendo-se o conteúdo de 100 mg da cápsula de Epelin em 2 ml de solução salina sob agitação (Agitador Fisaton, Modelo 706 A. Magnético). As injeções foram aplicadas em dias intercalados, até o final do período experimental.

No 6.º dia após o início da administração da droga, todos os animais, incluindo-se os do grupo controle, tiveram seus incisivos superiores direitos extraídos com instrumental adaptado por OKAMOTO & RUSSO (1973).

Para as exodontias, os animais foram anestesiados com solução de Nembutal Sódico (Abbot Laboratório do Brasil Ltda) a 3% na dose de 100 mg/kg de peso, por via intraperitoneal e receberam injeções de cefaloridina (Laboratório Lilly) imediatamente após a exodontia, na dose de 50 mg/kg peso.

Decorridos 3,6,9,12,18 e 21 dias das extrações dentais, foram sacrificados por inalação de vapores de éter sulfúrico, 4 animais de cada grupo experimental.

A obtenção das peças contendo os alvéolos, foi feita através de um corte no plano sagital mediano e outro frontal transversal ao nível da face distal dos molares superiores. As peças foram fixadas em formalina a 10% durante 24 horas e descalcificadas em solução de ácido fórmico e citrato de sódio em partes iguais.

Uma vez descalcificadas, as peças foram incluídas em parafina, orientadas no sentido de possibilitarem cortes dos alvéolos em seu sentido longitudinal. A microtomia foi realizada na espessura de 6 micrômetros e os cortes assim obtidos foram submetidos à coloração pela hematoxilina de Harris e eosina aquosa a 1%, para estudo histológico.

RESULTADOS

A análise dos resultados histológicos obtidos no presente trabalho evidenciou que, em relação ao grupo controle, a cronologia do processo de reparo apresentou-se dentro dos padrões apontados por OKAMOTO & RUSSO (1973), tendo-se completado a cicatrização da ferida aos 21 dias pós-operatórios. Neste período, o alvéolo encontrava-se totalmente preenchido por trabéculas ósseas espessas e com evidência de remodelação óssea.

A comparação possível entre o grupo controle e o grupo tratado evidenciou, no final da experiência, um atraso no processo de reparo ósseo alveolar nos animais submetidos à administração da difenil-hidantoína sódica.

No grupo injetado, o processo de reparo ósseo alveolar pode ser encarado sob dois pontos fundamentais. Em primeiro lugar, nos períodos iniciais do processo, quando houve nítido aceleração, traduzido por intensa atividade fibroblástica que se prolongou até o 9.º dia pós-operatório e, em segundo lugar, a diminuição de formação e maturação das trabéculas ósseas que se verificou até o final da experiência. Entretanto, muito embora houvesse retardamento na cronologia do processo de reparo nos animais injetados, é ponto pacífico que este ocorre e, dentro de uma seqüência aceitável.

A análise comparativa entre os grupos de animais utilizados, mostra já aos 3 dias pós-operatórios, diferenças evidentes no processo de reparo. Enquanto que nos animais controle, nota-se a proliferação de fibroblastos a partir do ligamento periodontal formando o tecido de granulação (Fig. 1) osteoblastos e atividade osteogênica maior no

terço apical do alvéolo (Fig.2), nos animais injetados, tanto a proliferação fibroblástica quanto a formação de fibras colágenas é mais intensa (Fig. 3) enquanto que a atividade de osteogênica é evidentemente menor (Fig. 4).

Esta diferença se prolonga pelo 6.º e 9.º dias pós-operatórios, ocasião em que enquanto nos animais controle é intensa a atividade osteogênica com formação de trabéculas ósseas bem definidas (Fig. 5), nos animais injetados é intensa a atividade fibroblástica com formação de fibras colágenas e pequena atividade osteogênica, traduzidas por poucas trabéculas ósseas imaturas (Fig. 6).

Aos 12 dias pós-operatórios, enquanto que nos animais controle o trabeculado ósseo neoformado preenche quase que totalmente os terços médio (Fig. 7) e apical do alvéolo e está presente também no terço cervical, os alvéolos dos animais injetados apresentam menor quantidade de trabeculado ósseo que se apresenta imaturo (Fig. 8), com tecido de granulação bem diferenciado e intensamente fibrosado no seu interior.

As diferenças evidentes entre os grupos, para os 18 e 21 dias pós-operatórios (Figs. 9 e 10), seguem os parâmetros evidenciados aos 12 dias, apenas que nos animais controle, o trabeculado ósseo preenche totalmente o alvéolo dental aos 21 dias, (Fig. 11) ao passo que nos animais injetados, os alvéolos apresentam, neste período, áreas não mineralizadas ocupadas por conjuntivo fibrosado e trabéculas ósseas imaturas, com espaços medulares amplos, no interior das quais também observa-se tecido conjuntivo denso fibroso (Fig. 12).

DISCUSSÃO

No que se refere aos animais injetados com difenil-hidantoína, nossos resultados estão de acordo com os relatados por BHUSSRY & RAO (1963), principalmente com relação a elevada atividade fibroblástica com pronunciada fibrogênese, já que este foi o quadro histológico por nós observado

nas fases inicial e intermediária do processo de reparo.

Poderíamos supor que essa maior atividade proliferativa observada na fase inicial do processo de reparos nos animais injetados, pudesse ter ocorrido em função do aumento da síntese protéica, já que para HASSEL *et alii* (1976), a difenil-hidantoína é capaz de duplicar a capacidade de síntese protéica dos fibroblastos.

Por outro lado, também é sabido que os corticóides inibem o processo de reparo ósseo (TAUBENHAUS *et alii* 1958; SANCHEZ *et alii* 1975). Como a difenil-hidantoína altera o metabolismo do cortisol, sendo inclusive empregada com sucesso no tratamento da síndrome de Cushing (VITTEK *et alii* 1979), é presumível que a maior fibrogênese observada nas fases inicial e intermediária do processo de reparo seja devida à ação inibitória da difenil-hidantoína, a qual poderia ter acarretado diminuição dos níveis séricos de cortisol. Ainda como a difenil-hidantoína interfere também com a adrenocortical diminuindo os níveis séricos de cortisona (DILL, 1966), poderíamos sugerir que tal fato deu como resultado o aumento da atividade proliferativa dos fibroblastos na fase inicial do processo de reparo, com conseqüente aumento da fibrogênese na fase intermediária.

O retardamento na cronologia do processo de reparo ósseo alveolar nos animais injetados, poderia ser em razão de que a difenil-hidantoína quando administrada cronicamente leva à ostemalácia ou raquitismo (HUNTER *et alii* 1971; SOTANIEMI *et alii* 1972; MEDLINSKY, 1974; CROSLLEY *et alii* 1975). A diminuição do cálcio sérico, nestas circunstâncias, mesmo existindo quantidade suficiente de matriz orgânica, levaria a um atraso na mineralização que, mesmo no período final analisado, mostrasse hipomineralizada. Além disto, segundo GENUTH *et alii* (1972) a difenil-hidantoína interferiria negativamente no metabolismo da vitamina D, sendo fato comprovado que, nestas condições, o metabolismo do cálcio fica alterado o que, conseqüentemente,

reflete-se na deficiente mineralização da matriz ôrgânica formada.

Em favor desta hipótese podemos citar os dados de BOUILLON *et alii* (1975), segundo os quais a administração de doses elevadas de vitamina D corrigiriam parcialmente os baixos níveis séricos de cálcio em pacientes sob tratamento crônico com difenil-hidantoína.

Ainda, de conformidade com BOUILLON *et alii* (1975), como consequência dos baixos níveis séricos de vitamina D, instala-se a hipocalcemia bem como o hiperparatiróidismo secundário, o qual, contudo, não consegue corrigir o metabolismo do cálcio, em razão do que acaba por instalar-se a osteomalácia nos indivíduos tratados cronicamente com difenil-hidantoína. Nossos resultados, portanto, são compatíveis com tais observações já que, nas fases inicial e intermediária do processo de reparo, tivemos intensa fibrogênese, inclusive na matriz orgânica e, no entanto, na fase final do processo de reparo, observamos a formação de trabéculas ósseas em proporção inferior àquela existente nos animais controle e que apresentaram como característica principal, a hipomineralização.

Por outro lado, nossos resultados diferem daqueles encontrados por SKLANS *et alii* (1967). Parece-nos que a diferença com os nossos resultados estaria condicionada,

principalmente, a via da administração da droga, uma vez que, enquanto que em nosso trabalho foi utilizada via intraperitoneal, os autores em questão utilizaram a via intramuscular. Nestas circunstâncias é possível que a absorção da difenil-hidantoína tenha sido maior justificando assim a intensa proliferação fibroblástica observada na fase inicial do processo de reparo alveolar.

Do exposto, depreende-se que a administração crônica de difenil-hidantoína sódica, interfere no processo de reparo ósseo alveolar. No entanto, novos trabalhos sobre o assunto devem ser realizados, no intuito de melhor explicar os fenômenos biológicos por nós relatados.

CONCLUSÕES

Nas condições experimentais do presente trabalho, podemos concluir que a administração crônica de difenil-hidantoína sódica, em ratos, interfere no processo de reparo ósseo alveolar, ocasionando: 1) aumento na proliferação fibroblástica e vascular do tecido de granulação na fase inicial do processo; 2) aumento na fibrogênese do tecido de granulação na fase intermediária; 3) atraso na proliferação osteoblástica e na deposição de matriz óssea; 4) atraso na formação e deficiente mineralização das trabéculas ósseas neoformadas, na fase final do processo de reparo.

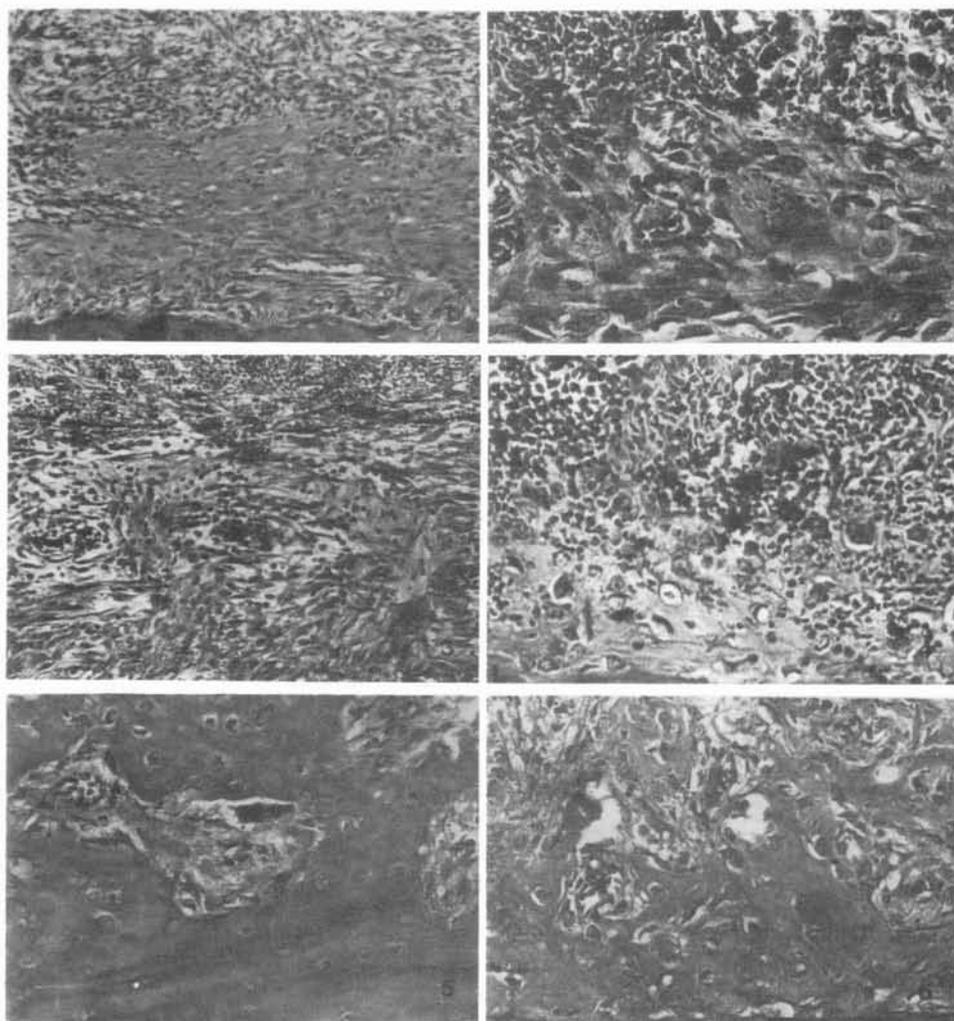
BOGARIN—RODRIGUEZ, J.E. CASTRO, A.L. & MATHEUS, G. Effect of sodium difenylhydantoinate on dental alveolar wound healing in rats. Histological study. *Rev. Odont. UNESP*, São Paulo, 11(1/2):73-79, 1982.

ABSTRACT: The authors studied histologically the effect of sodium difenylhydantoinate on dental alveolar wound healing in rats. The drug administration was by intraperitoneal via and the animals were sacrificed at 3, 6, 9, 12, 18 and 21 days after exodontia. The pieces were got by dissection and processed by routine methods. The results showed a heavy fibrogenesis in the early and intermediary stage of the alveolar wound healing process and in the last stage, delay in the bone matrix deposition, trabeculae formation and mineralization.

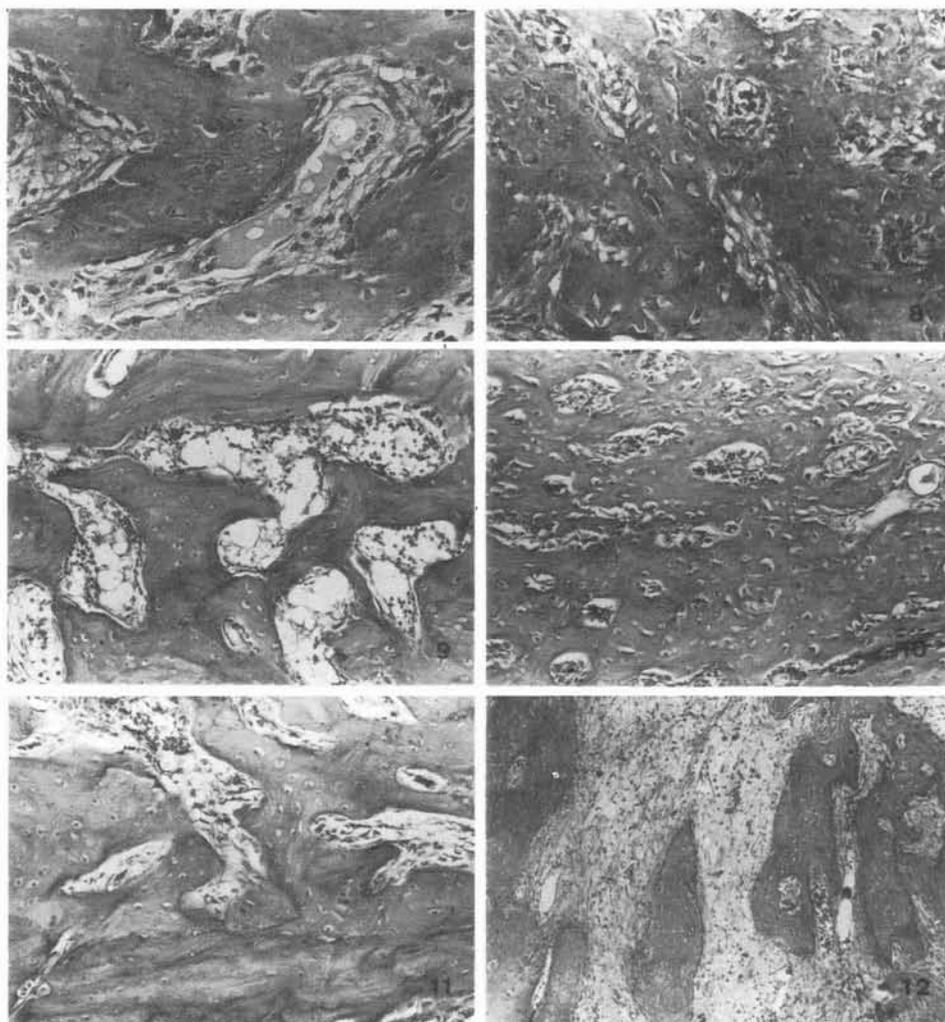
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHUSSRY, B.R. & RAO, S. 1963. Effect of sodium difenyl-hydantoinate on oral mucosa of rat. *P.S.E.B.M*, 113:595-599.
- BOUILLON, R., REINAERT, J., CLAES, J.H., LISSENS, W. & DE-MOOR, P. 1975. The effect of anticonvulsant therapy on serum levels of 25 — Hidroxi-Vitamin, D, Calcium and parathyroide hormone. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 41:1130-1135.
- CHRISTIANSEN, C., KRISTENSEN, M. & RODBRO, P. 1972. Latent osteomalacia in epileptic patients on anticonvulsants. *Brit. med. J.*, 3:738-739.
- CROSLY, C.J., CHEE, C. & BERMAN, P. 1975. Rickets associated with long-term anticonvulsant therapy in a pediatric outpatient population. *Pediatrics*, 56: 52-57.
- DENT, C.E. RICHENS, A., ROWE, D.S.F. & STAMP, T.C.B. 1970. Osteomalacia with long term anticonvulsant therapy in epilepsy. *Brit. med. J.*, 4:69-72.
- DILL, R.E. 1966. Discrepancy of adrenal response in diphenylhydantoin treated rats. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 160:363-372.
- GENUTH, S.M., KLEIN, L., RABINOVICH, S. & KING, K.C. 1972. Osteomalacia accompanying chronic anticonvulsant therapy. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 35: 378-386.
- HARRIS, M. ROWE, D.J.F. & DARBY, A.J. 1978. Anticonvulsant osteomalacia induced in the rat by diphenylhydantoin. *Calcif Tiss. Res.*, 25:13-17.
- HASSEL, M.T., PAGE, R.C. NARAYANAN, A.S. & COOPER., C.G. 1976. Diphenylhydantoin (Dilantin) gingival hiperplasia: Drug-induced abnormality of connective tissue. *Proc. natl. Acad. Sci.*, 73:2909-2912.
- HUNTER, J., MAXWEL, J.D., STEWAR, D.A. PARSONS, V. & WILLIAMS, R. 1971. Altered calcium metabolism in epileptic children on anticonvulsants. *Brit. Med. J.*, 4:202-204.
- MEDLINSKI. H.L. 1974. Rickets associated with anticonvulsant medication. *Pediatrics*, 53: 91-95.
- MOSEKILDE, L. & MELSEN, F. 1976. Anticonvulsant osteomalacia determined by quantitative analysis of bone changes. *Acta. med. Scand.*, 199:349-355.
- NEASE, W.J. 1965. Effect of sodium diphenylhydantoinate on tissue cultures of human gingival. *J. Periodont*, 36:22-33.
- OKAMOTO, T. & RUSSO, M.C. 1973. Wound healing following tooth extraction. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 2:153-168.
- RODBRO, C., CHRISTIANSEN, C. & LUND, M. 1974. Development of anticonvulsant osteomalacia epitelic patients on pheny toin treatment. *Acta. neurol. Scand.*, 50:527-532.
- SANCHEZ, M.G., OKAMOTO, T. & CARVALHO, A.C.P. 1975. Efeitos da prednisolona no processo de reparo em feridas e extração dental. Estudo histológico. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 4: 195:203.
- SKLANDS, S., TAYLOR, G. & SHKLAR, G. 1967. Effect of diphenylhydantoin sodium on healing of experimentally produced fractured in rabbit mandibles. *J. oral Surg.*, 25:310-319.
- SONI, N.N., SILBERKWEIT, M., STRICKER, E. & SALAMAT, K. 1967. Mitotic activity in human gingival epithelium associated with dilantin sodium therapy. *Periodont*, 5: 70-72.
- SOTANIEMI, E.A., HAKKARAINEN, H.K., PURANEN, J.A., & LAMTI, R. 1972. Radiologic bone changes and hipocalcemia with anticonvulsant therapy in epilepsy. *Ann. int. Med.*, 77:389-394.
- TAUBENHAUS, M., TAYLOR B & MORTON, J.V. 1958. *Endocrinology*. 51: 183. *Apud* ASBOEHANSEN, G. 1963. Hormonal effects of connective tissue. *Physiol. Rev.*, 38:446-462.
- VITTEK, J., GORDON, G.C., RAPPAPORT, S.C. & SOUTHREN, J. 1979. Cellular regulation of the metabolism of androgens in rat oral mucosa. III activation of $\Delta^4 - 3 -$ ketosteroid — 5 α A ring reductase enzyme sistem by 5,5 — diphenylhydantoin. *J. dent. Res.*, 58:642-645.

Recebido para publicação em 11.02.82.



- FIG. 1 — Animal-controle, 3 dias pós-cirúrgicos. Terço cervical, lado lingual, observando-se adjacente à cortical óssea, remanescentes do ligamento periodontal com moderada atividade proliferativa. H.E. 20 X.
- FIG. 2 — Animal-controle, 3 dias pós-cirúrgicos. Terço apical adjacente à cortical óssea, observando-se intensa atividade osteoblástica e deposição de matriz. H.E. 40 X.
- FIG. 3 — Animal-injetado, 3 dias pós-cirúrgicos. Terço cervical, lado lingual. Adjacente à cortical óssea verifica-se intensa atividade fibroblástica e capilar, originando um tecido de granulação bastante celularizado a partir de remanescentes do ligamento periodontal. Discreto infiltrado inflamatório crônico. H.E. 20 X.
- FIG. 4 — Animal-injetado, 3 dias pós-cirúrgicos. Terço apical adjacente à compacta óssea. Nota-se discreta atividade osteoblástica com deposição de pequena quantidade de matriz. H.E. 20 X.
- FIG. 5 — Animal-controle, 9 dias pós-cirúrgicos. Terço apical. Adjacente à compacta óssea evidencia-se trabéculas ósseas espessas e maduras. H.E. 40 X.
- FIG. 6 — Animal-injetado, 9 dias pós-cirúrgicos. Terço apical. Adjacente à compacta óssea alveolar notam-se trabéculas ósseas bastante imaturas, com espaços medulares, nos quais são observadas células endostais jovens. H.E. 40 X.



- FIG. 7 — Animal-controle, 12 dias pós-cirúrgicos. Terço médio. Nota-se, em áreas próximas à porção central do alvéolo, trabéculas ósseas pouco maduras. H.E. 40 X.
- FIG. 8 — Animal-controle, 12 dias pós-cirúrgicos. Terço apical. Evidenciam-se trabéculas ósseas maduras em áreas próximas à cortical óssea. H.E. 40 X.
- FIG. 9 — Animal-controle, 18 dias pós-cirúrgicos. Terço cervical. Adjacente à cortical óssea alveolar, trabéculas ósseas compactas bem maduras, pouco celularizadas e com presença de linhas basófilas de remodelação. H.E. 20 X.
- FIG.10 — Animal-injetado, 18 dias pós-cirúrgicos. Terço cervical. Trabéculas ósseas imaturas bastante celularizadas, ainda sem a presença de linhas basófilas de remodelação. H.E. 20 X.
- FIG.11 — Animal-controle, 21 dias pós-cirúrgicos. Terço cervical. Áreas próximas à porção central do alvéolo preenchidas por trabéculas ósseas maduras. H.E. 20 X.
- FIG.12 — Animal-injetado, 21 dias pós-cirúrgicos. Terço cervical. Áreas próximas à porção central do alvéolo com trabéculas ósseas delgadas e imaturas. Observa-se ainda persistência de grandes espaços ocupados por tecido de granulação fibroso e discreto infiltrado inflamatório crônico. H.E. 20 X.