

## PROCESSO DE REPARO EM FERIDAS DE EXTRAÇÃO DENTAL EM RATOS SOB A AÇÃO DA PREDNISOLONA ESTUDO AO MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA

Ii-sei WATANABE \*  
Tetuo OKAMOTO \*\*

*RESUMO: Foram utilizados 40 ratos, divididos em dois grupos de 20 animais. No grupo controle, os incisivos superiores de cada animal foram extraídos, suturados e tiveram um tratamento normal. Por outro lado, no grupo experimental, imediatamente após a extração dental, cada animal recebeu uma dose diária de injeção intraperitoneal de 2 mg de prednisolona até o dia do sacrifício. Os animais, em número de quatro para cada grupo, foram sacrificados no 3.º, 6.º, 10.º, 20.º e 40.º dias de tratamento pós-operatório. Os espécimes foram fixados em solução de Karnovsky modificada e tetróxido de ósmio e examinados ao microscópio eletrônico de varredura. Os resultados obtidos na presente investigação permitiram concluir que: a) no grupo experimental, o processo de reparação alveolar em ratos é alterado intensamente pela administração intraperitoneal de prednisolona; b) em animais do grupo controle, a reparação processa-se regularmente, apresentando a formação de modelo de trabéculas ósseas bem definidas; feixes de fibras colágenas e espaços intertrabeculares de diâmetros variáveis; c) em grupo de animais tratados, apenas os de 20.º e 40.º dias exibiram trabéculas neoformadas delgadas e espaços amplos ocupados pelas fibras colágenas dispostas irregularmente e substância amorfa.*

*UNITERMOS: Reparação alveolar; mineralização; microscopia eletrônica de varredura.*

### INTRODUÇÃO

A administração sistêmica de corticosteróides tem sido utilizada para inúmeros estudos experimentais. ABREU<sup>1</sup> analisou a ação deste medicamento no processo cicatricial de alguns tecidos; SANCHES *et alii*<sup>10</sup> e SHAFFER<sup>12</sup> mostraram a ação medicamentosa em atividades osteogênicas do processo de reparação alveolar em nível de microscopia óptica. Ainda, RUSSO *et alii*<sup>9</sup> demonstraram que a hidrocortisona prejudica o desenvolvimento do gérmen dental em ratos.

Por outro lado, BARROSO *et alii*<sup>2</sup> e GRANDINI *et alii*<sup>6</sup> realizaram estudos do processo de reparo alveolar em feridas de extração dental após a administração de drogas que provocam a deficiência hormonal de pâncreas, tireóide e paratireóides, respectivamente. Os autores verificaram que a falta

de insulina em grupos de ratos e os hormônios de tireóide e paratireóide, em outros, provoca o retardamento da cicatrização alveolar, ocasionando extensas reabsorções da crista e cortical óssea alveolar.

Além disso, ratos tratados com cortisona e submetidos à extração dental apresentaram, histologicamente, um início de neoformação óssea em alguns animais tratados até o vigésimo dia pós-operatório<sup>10</sup> e, em períodos mais prolongados, foram descritos por SMALES<sup>14</sup>.

SELA<sup>11</sup> notou que, em condições patológicas, ocorre uma formação óssea apresentando numerosas calcosferitas, em função da produção excessiva do hormônio. Em condições normais, os incisivos de ratos, após a extração dental, apresentaram, no 10.º dia pós-operatório, as formações de tecido ósseo imaturo e poucas trabeculações.

\* Departamento de Morfologia — Faculdade de Odontologia — UNESP — 16.100 — Araçatuba — SP.

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

No 20.º dia, entretanto, nota-se grande quantidade de trabeculações neoformadas em alvéolos<sup>16</sup>.

O objetivo deste trabalho é mostrar, através da análise ao microscópio eletrônico de varredura, as alterações que ocorrem no processo de reparação alveolar após administração de prednisolona.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados para a presente pesquisa 40 ratos (*Rattus norvegicus, albinus* Wistar), machos, com peso variando entre 120 e 130 gramas.

Após a anestesia geral com tionembutal sódico, os incisivos superiores direitos de todos os animais foram extraídos com um instrumental especialmente adaptado para esta finalidade<sup>8</sup>. Concluída a fase de extração dental, a mucosa gengival foi aproximada e suturada com fio de poliéster 4-0 (Johnson & Johnson).

Os animais operados foram mantidos em gaiolas convencionais, alimentados com dieta sólida e, exceto nas primeiras 24 horas após a intervenção, água "ad libitum".

Na fase pós-operatória, os animais foram divididos em dois grupos: os animais do grupo controle (Grupo I) não sofreram nenhum tipo de tratamento; no grupo experimental (Grupo II), após a extração dental, cada animal recebeu por via intraperitoneal 2mg de prednisolona (Pfizer) cada 24 horas, até o dia do sacrifício.

Decorridos 3, 6, 10, 20 e 40 dias pós-operatório, os animais foram sacrificados para a obtenção das peças. Sob anestesia geral, foi feita a fixação através da perfusão de 30ml de solução fixadora de Karnovsky modificada contendo 2,5% de glutaraldeído, 2% de formaldeído em solução tampão fosfato de sódio a 0,1 M (pH = 7,4). A seguir, a maxila direita foi dissecada e separada fazendo-se uma incisão ao nível da sutura intermaxilar e uma secção ao nível dos últimos molares para remover a peça contendo o alvéolo dental. A tábua óssea vestibular, que recobre o alvéolo, foi removida cuidadosamente. Posteriormente, as peças foram fixadas na mesma solução durante 12 horas, à temperatura de 4º C. A pós-fixação foi feita com tetróxido de ósmio a 1% em solução

tampão fosfato de sódio durante 2 horas à temperatura de 4º C.

A desidratação foi realizada utilizando-se a série crescente de álcoois a partir de 60º até o absoluto. Em seguida, foi feita a secagem pelo ponto crítico, metalização com ouro e exame ao microscópio eletrônico de varredura da JEOL, JSM-P15, regulado para 15 kv.

## RESULTADOS

Os resultados da presente investigação foram descritos em função dos estágios pós-operatórios, comparando-se os grupos controle e tratado.

### 3 DIAS

#### *Controle*

Em fotomicrografias eletrônicas de varredura, o alvéolo dental encontra-se preenchido por coágulo sanguíneo, notando-se formações irregulares com acúmulo de hemácias e outros elementos celulares indiferenciados.

Verifica-se que, em toda extensão do alvéolo, há formação de estruturas com a presença de pequenos grânulos, determinando as microelevações, e hemácias distribuídas irregularmente (Fig. 1).

#### *Tratado*

A análise através da microscopia eletrônica de varredura mostra que o alvéolo de 3 dias pós-operatório encontra-se ocupado por coágulo sanguíneo. As características ultraestruturais são semelhantes em todas as porções: cervical, médio e apical do alvéolo. A crista óssea alveolar, tanto vestibular quanto lingual, encontra-se relativamente uniforme ao longo de sua parede interna.

Neste grupo, as características celulares diferem quando comparadas às do grupo controle. Os elementos celulares encontram-se espalhados, como se nota na Fig. 2.

### 6 DIAS

#### *Controle*

O alvéolo encontra-se totalmente preenchido pelas estruturas pouco diferenciadas. Nesta fase, são evidentes pequenas formações trabeculares, além de grande quantidade de elementos celulares, tais como fibro-

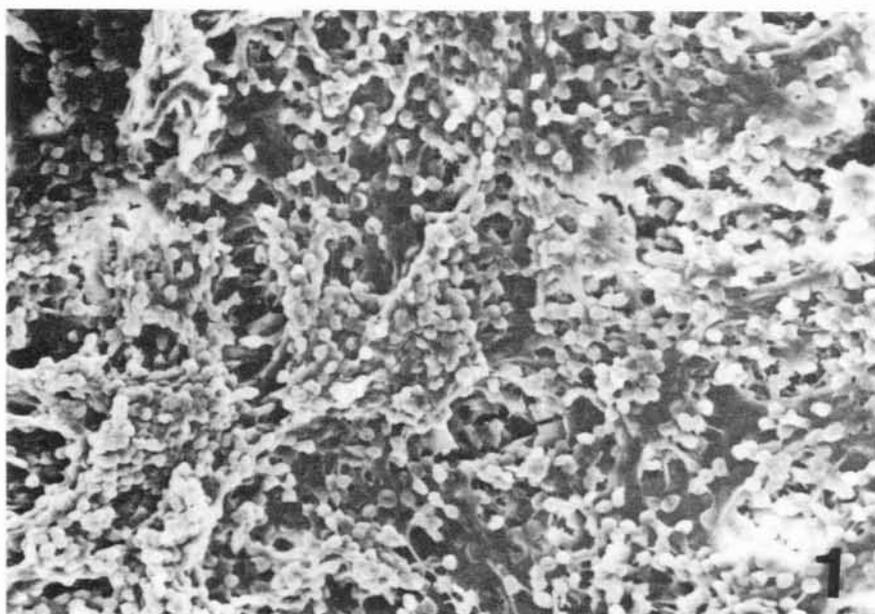


FIG. 1 — Grupo I. Três dias pós-operatório. Evidencia o aspecto ultra-estrutural do coágulo sangüíneo em alvéolo após a extração dental. Aumento: 420 X.

FIG. 2 — Grupo II. Três dias pós-operatório. Em maior aumento, nota-se os elementos celulares e algumas fibrilas distribuídas irregularmente (setas). Aumento: 1.120 X.

blastos, hemácias e uma disposição irregular de fibras colágenas.

#### *Tratado*

Nota-se uma pequena atividade proliferativa, tanto de fibroblastos, quanto de vasos neoformados. Em maior aumento, pode-se observar as pequenas trabeculações irregulares constituídas por fibrilas localizadas desordenadamente e a presença de substância amorfa e grânulos de diâmetros variáveis (Fig. 3).

#### 10 DIAS

##### *Controle*

Em fotomicrografias de pequeno aumento, nota-se algumas áreas com a predominância de tecido de granulação e poucas formações, que se assemelham ao coágulo sanguíneo. Pequenas trabeculações ósseas, sem orientação definida e com amplos espaços intertrabeculares, são observadas em grande quantidade (Fig. 4). Em todos os terços do alvéolo, o preenchimento com estruturas neoformadas é notável. Em maior aumento, observa-se que os espaços intertrabeculares são preenchidos por feixes de fibras colágenas dispostos paralelamente ou, às vezes, em direções desordenadas (Fig. 5). Os canais vasculares são notados frequentemente.

##### *Tratado*

O alvéolo dental, nesta fase, apresenta grande quantidade de tecido neoformado e elementos celulares sem contudo, evidenciar a formação do modelo de trabéculas. Em toda extensão do alvéolo, nota-se um acúmulo de estruturas amorfas e fibras colágenas dispostas irregularmente, com elementos celulares não definidos.

#### 20 DIAS

##### *Controle*

O alvéolo encontra-se totalmente preenchido por trabéculas ósseas delgadas. Os espaços intertrabeculares são amplos mas as trabéculas já apresentam uma fase de calcificação adiantada. Nos terços médio e cervical, os espaços intertrabeculares são relativa-

mente maiores, todavia, acham-se ocupados integralmente por espessos feixes de fibras colágenas e vasos sanguíneos. A formação de tecido ósseo imaturo com a presença de estruturas cristalóides são evidenciadas em todas as trabéculas.

##### *Tratado*

Nesta fase pode-se observar que o desenvolvimento do processo de reparação alveolar está bastante retardado, em comparação ao grupo controle. As fotomicrografias eletrônicas de menor aumento, revelam nitidamente uma organização trabecular extremamente irregular, apresentando interposição de substância amorfa e elementos celulares. As trabéculas existentes são esparsas e apenas em alguns pontos há uma condensação de estruturas possivelmente calcificadas (Fig. 6) com evidência de pequenas elevações e de superfície lisa.

#### 40 DIAS

##### *Controle*

Em fotomicrografias eletrônicas de pequeno aumento, observa-se que o alvéolo dental apresenta um grau de ossificação muito acentuado. As trabeculações ósseas são definidas e possuem espaços medulares reduzidos, com pequenos capilares e fibras colágenas dispostas em feixes paralelos. Em maior aumento, nota-se perfeitamente zonas de calcificação, revelando a presença de pequenos grânulos de calcosferitas (Fig. 7).

##### *Tratado*

No alvéolo tratado de 40 dias, observa-se algumas áreas com a formação de trabeculações ósseas delgadas e dispostas irregularmente. A maior parte do alvéolo mostra estruturas completamente desorganizadas onde estão presentes elementos sanguíneos e feixes de fibras colágenas dispostos irregularmente. As trabéculas ósseas neoformadas em pequena quantidade revelam espaços medulares amplos, ocupados por fibras colágenas e substância amorfa. Evidencia-se ainda, pequenas formações de bordas irregulares e hemácias dispersas (Fig. 8).

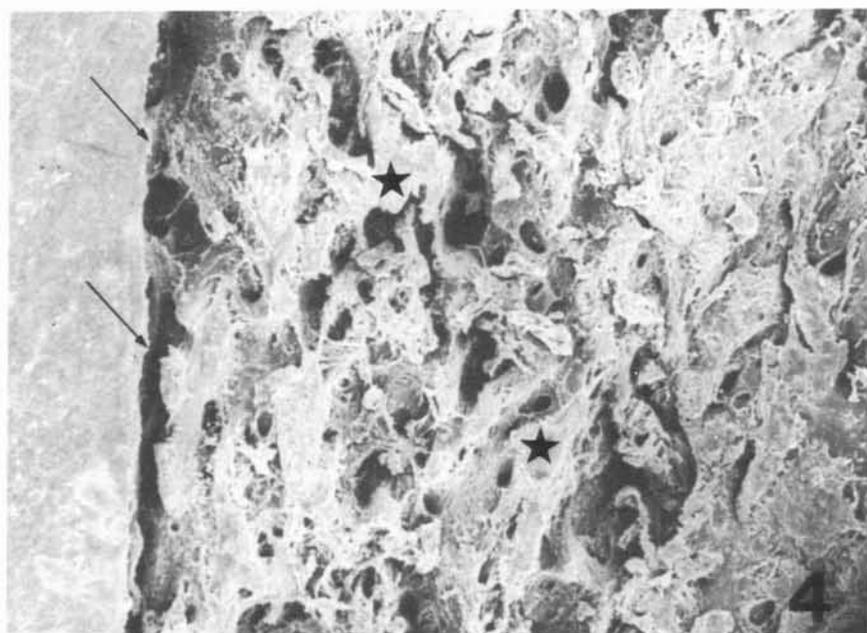


FIG. 3 — Grupo II. Seis dias pós-operatório. Em maior aumento, observa-se pequenos grânulos (setas) e as fibrilas dispostas irregularmente (\*). Aumento: 4.200 X.

FIG. 4 — Grupo I. Dez dias pós-operatório. Mostra o alvéolo totalmente preenchido por trabéculas imaturas (\*) e a parede óssea alveolar com pequenas projeções ósseas (setas). Aumento: 70 X.

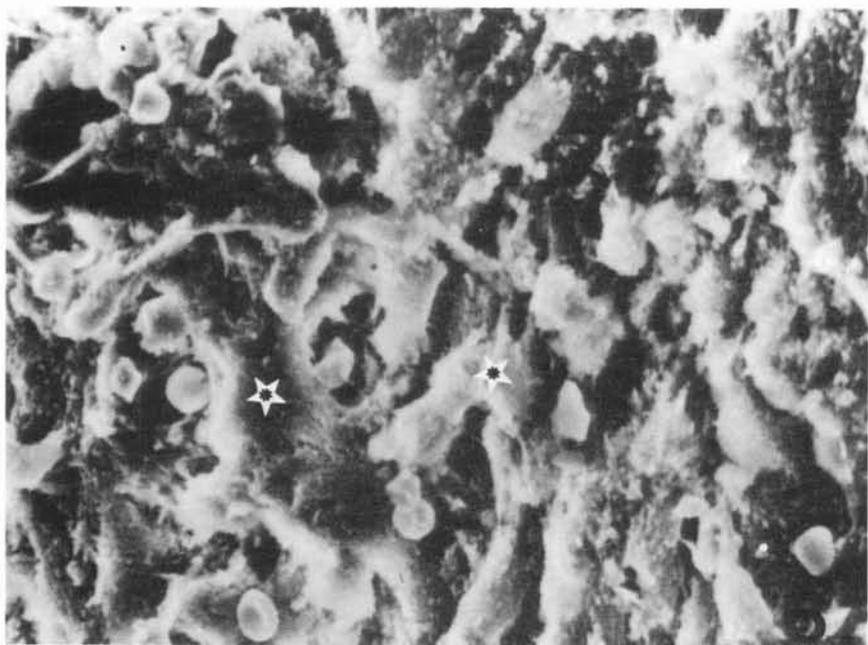
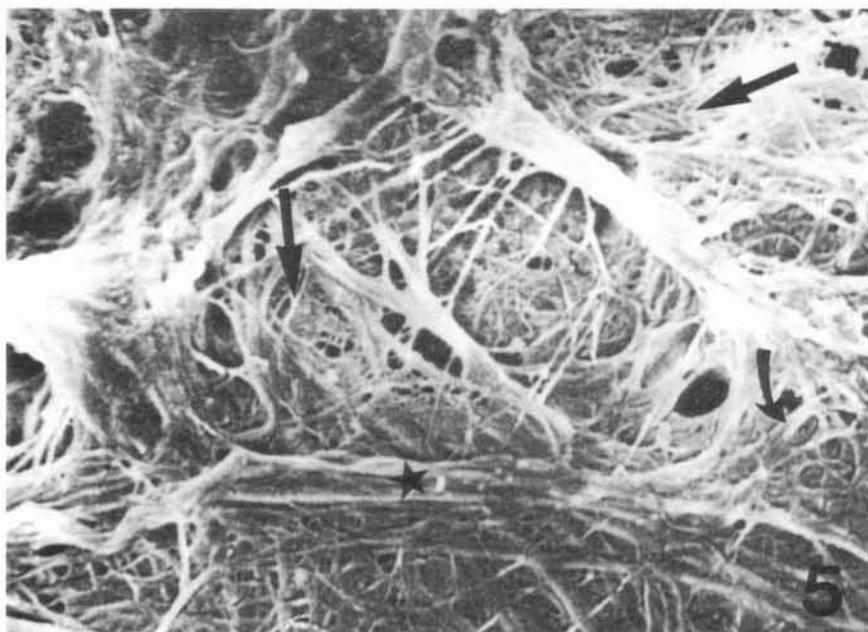


FIG. 5 — Grupo I. Dez dias pós-operatório. Mostra, em maior aumento, a disposição paralela (\*) e irregular (setas) de feixe de fibras colágenas. Aumento: 4.200 X.

FIG. 6 — Grupo II. Vinte dias pós-operatório. Observa-se pequenas trabeculações ósseas irregulares (\*) espalhadas no interior do alvéolo. Aumento: 1.120 X.

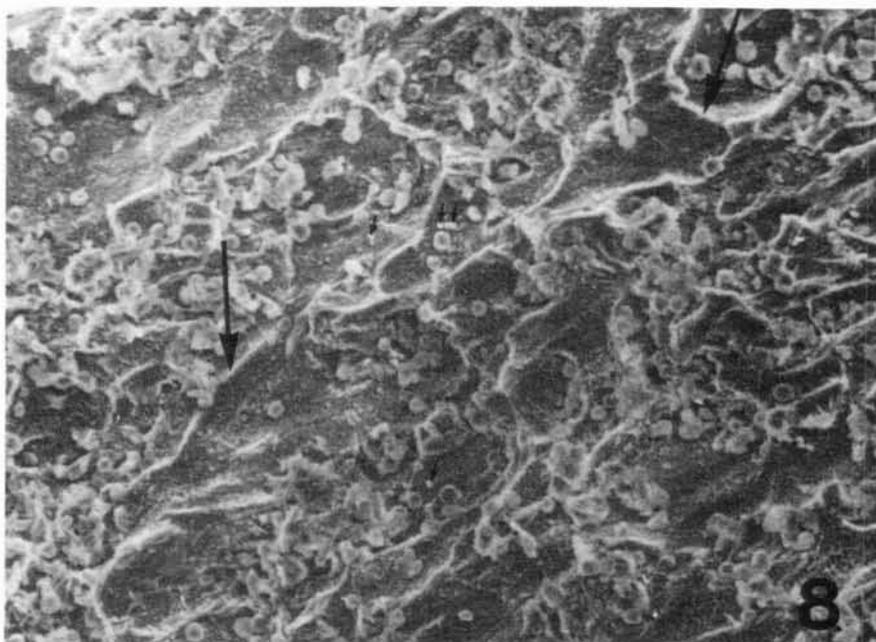


FIG. 7 — Grupo I. Quarenta dias pós-operatório. Nota-se formações globulares (setas) e estruturas trabeculares (\*). Aumento: 900 X.

FIG. 8 — Grupo II. Quarenta dias pós-operatório. Evidencia uma superfície rugosa com elevações em forma de crista (setas maiores) e depressões contendo pequenos grânulos (setas menores). Aumento: 420 X.

## DISCUSSÃO

Os nossos resultados revelam que o grupo controle apresentou um quadro estrutural, durante o processo de reparação alveolar, semelhante aos aspectos anteriormente descritos por OKAMOTO & RUSSO<sup>8</sup> e SILVA<sup>13</sup> em microscopia óptica. As trabeculações ósseas neoformadas, vistas ao microscópio eletrônico de varredura, apresentaram-se bem definidas e o processo de mineralização está bem evidente com o aparecimento de grânulos de calcosferita. Os espaços intertrabeculares, especialmente nos períodos de 20 e 40 dias, estavam ocupados por feixes de fibras colágenas espessos.

A comparação de dados, entre os grupos controle e tratado, mostra que já no terceiro dia pós-operatório existe uma diferença estrutural nítida que caracteriza o processo de reparação alveolar. Em alvéolos do grupo controle, nota-se a presença de estruturas, provavelmente coágulo sanguíneo e elementos celulares, além de bordas ósseas uniformes. Todavia, em alvéolo do grupo tratado é nítida a presença de estrutura realmente desorganizada.

Esta diferença na organização tecidual é evidenciada com maior intensidade nos animais tratados de 6 dias, nos quais a ação da prednisolona se faz presente, influenciando negativamente o processo de reparação alveolar. Nesta fase, através da microscopia eletrônica de varredura, não se percebe nenhum modelo que se assemelhe às trabéculas ósseas imaturas. Por outro lado, em alvéolos normais de 6 dias ocorre a presença de estruturas que indicam o modelo de formação de diminutas trabéculas pouco diferenciadas.

Em técnicas de microscopia óptica, SANCHES *et alii*<sup>10</sup> e TAUBENHAUS *et alii*<sup>15</sup> revelaram que a administração de corticóides após a extração dental em ratos, retarda o processo de reparação. Além disso, na comparação de dados obtidos em animais com 10 dias, foi verificado que no grupo controle aparecem estruturas trabeculares neoformadas de disposição extremamente irregular. CARVALHO & OKAMOTO<sup>4</sup>; CARVALHO *eti alii*<sup>5</sup> e OKAMOTO & RUSSO<sup>8</sup> afirmam, em nível de microscopia óptica, que as estruturas neoformadas neste período de reparação alveolar são bem definidas. Em nossos resultados, o grupo experi-

mental de 10 dias revelou estruturas totalmente desorganizadas, com a presença de grande quantidade de elementos, incluindo fibras colágenas e células não definidas.

É interessante frisar que a porção central do alvéolo, principalmente nas fases mais adiantadas do grupo controle, apresentou uma predominância de espessos feixes de fibras colágenas dispostas em várias direções. Por outro lado, nos animais tratados com prednisolona (animais de 3, 6 e 10 dias), a área central é caracterizada por estruturas amorfas, onde se percebe também a formação de coágulos sanguíneos, hemácias e elementos celulares morfológicamente não definidos. Entretanto, em períodos mais avançados de animais tratados (20 e 40 dias) ocorre uma modificação gradual, com um retardo significativo no processo de formação das trabéculas ósseas. Poucas trabéculas ósseas imaturas e amplos espaços preenchidos por fibras colágenas, células e substância amorfa caracterizam a evolução do processo de reparo.

De todas as fases analisadas em nossos resultados, o retardamento do processo de reparação alveolar é mais acentuado nas primeiras fases, evidenciando que, a partir do 6.º dia, delgadas fibras colágenas são encontradas no interior da estrutura alveolar. É descrito pelos autores que o processo de reparação normal se completa por volta de 21 dias<sup>3, 7, 8, 13</sup>, em aspectos de microscopia óptica e em microscopia eletrônica de varredura<sup>16</sup>. Comparando os nossos dados decorrentes da administração de prednisolona, verifica-se realmente um retardo significativo no processo de reparação alveolar. No grupo controle, os nossos resultados são semelhantes àqueles obtidos anteriormente<sup>16</sup>.

Estes dados não são suficientes para afirmar, em nível de microscopia eletrônica de varredura, as modificações que ocorrem no interior do alvéolo durante o processo de reparação alveolar. São necessários outros trabalhos para se detectar as alterações celulares e dos elementos envolvidos neste processo. O emprego de técnicas como a de criofraturas e "freeze-etching" e a técnica de microscopia eletrônica de transmissão poderão elucidar melhor as diferentes alterações das células, suas organelas e membranas em cada fase de evolução do processo de reparo.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP n.º 81/1217-0 pelo auxílio concedi-

do e ao Professor Nilso Barelli, do "Campus" de Araraquara, UNESP, por ter permitido o uso do Microscópio Eletrônico de Varredura.

WATANABE, I. & OKAMOTO, T. — Scanning electron microscopic study of extraction socket healing in rats after injection of prednisolone. *Rev. Odont. UNESP*, São Paulo, 13(1/2):61-69, 1984.

**ABSTRACT:** Forty adult rats were utilized and divided into control and experimental groups of twenty animals each. In the control group, the upper right incisor of each animal was extracted, sutured, and treated in normal conditions. On the other hand, in the experimental group, immediately after the extractions, each animal received daily intraperitoneal injections of 2 mg of prednisolone, until the date of sacrifice. The animals were killed on the 3th, 6th, 10th, 20th, and 40th days after postoperative treatments. The specimens were fixed in Karnovsky modified solutions and osmium and examined in a scanning electron microscope. From these data it may be concluded that: a) in the experimental group, prednisolone injection modified intensively the healing extraction socket process in rats; b) in animals of control group, the healing of tooth socket presents a well defined formation of trabecular bone, bundles of collagen fibers and intertrabecular spaces of variable diameter; c) on the 20th and 40th days of the experimental group, small neoformed trabeculae and large intertrabecular spaces which are characterized by the presence of collagen fibers and amorphous substance were verified.

**KEY-WORDS:** Healing sockets; Mineralization; scanning electron microscopy.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABREU, E.M. — Reparação alveolar, pós-extração, em condições normais e sob ação hormonal. Estudo histológico em cães. *Rev. bras. Pesq. Med. Biol.*, 4: 37-48, 1971.
2. BARROSO, J.S.; SANTOS-PINTO, R. & OKAMOTO, T. — Efeito do propiltiouracil no processo de reparo em ferida de extração dental. Estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 1: 17-82, 1972.
3. CARVALHO, A.A.F. — *Processo de reparo em feridas de extração dental em ratos com hipertensão renal. Estudo histológico.* Araçatuba, Faculdade de Odontologia, Unesp, 1980. (Tese — Mestrado).
4. CARVALHO, A.C.P. & OKAMOTO, T. — Estudo preliminar sobre os efeitos anticonceptivos no processo de reparo em feridas de extração dental em ratos. *Ars Cvrandi*, 8: 60-8, 1981.
5. CARVALHO, A.C.P.; OKAMOTO, T. & SANCHES, M.G. — Implante de cera óssea em cavidade óssea. *Odont. Moderno*, 8: 6-10, 1981.
6. GRANDINI, S.A.; MIGLIORINI, R.H. & OKAMOTO, T. — Processo de reparo em feridas de extração dental em ratos com diabetes aloxânico. Estudo histológico. *Bol. Fac. Farm. Odont. Ribeirão Preto*, 7: 47-71, 1970.
7. JOHANSEN, J.R. & GILHUUS-MOE, O. — Repair of the pos-extraction alveolar in the guinea pig. A histological and autoradiographic study. *Acta Odont. Scand.*, 27: 249-62, 1969.
8. OKAMOTO, T. & RUSSO, M.C. — Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 2: 153-68, 1973.
9. RUSSO, M.C.; HOLLAND, R. & OKAMOTO, T. — Effect of hydrocortisone on rat tooth germ. Histochemical study. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 2: 253-67, 1973.
10. SANCHES, M.G.; OKAMOTO, T. & CARVALHO, A.C.P. — Efeitos da prednisona no processo de reparo em feridas de extração dental. Estudo histológico. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 4: 195-203, 1975.
11. SELA, J. — Bone remodelling in pathologic conditions. *Calcif. Tiss. Res.*, 23: 229-34, 1977.
12. SHAFFER, W.G. — The effect of cortisone on the healing of extractions wounds in the rat. *J. dent. Res.*, 33: 4-11, 1954.
13. SILVA, A.O. — *Processo de reparo em feridas de extração dental em ratos. Influência de remoção parcial da parede óssea alveolar.* Araçatuba, Faculdade de Odontologia, UNESP, 1981. (Tese — Mestrado).
14. SMALES, R.J. — Effects of systemic cortisone on the healing of tooth sockets in rats. *Oral Surg.*, 45: 685-8, 1978.
15. TAUBENHAUS, M.; TAYLOR, B. & MORTON, J.U. — Endocrinology: 51-83. *Apud ASBOEHANSEN, G.* — Hormonal effects of connective tissue. *Physiol. Rev.*, 38: 446-62, 1958.
16. WATANABE, I. & OKAMOTO, T. — Processo de reparo em feridas de extração dental em ratos. Estudo ao microscópio eletrônico de varredura. *Vida Odont.*, 5: 73-81, 1982.

Recebido para publicação em 26.10.83.