

ESTUDO RADIOAUTOGRÁFICO DA SÍNTESE DE DNA DO EPITÉLIO GENGIVAL DE CAMUNDONGOS *Mus musculus* I. INFLUÊNCIA DA IDADE

Zuleice Viana da Silveira TARELHO*
Sebastião HETEM*

RESUMO: Foi estudada a frequência de células que sintetizam DNA na camada basal do epitélio gengival da região do primeiro molar inferior de camundongos jovens e adultos. Para isso, usou-se timidina triciada e técnica radioautográfica. A frequência de células marcadas foi determinada através do estabelecimento de sua proporção na camada basal do epitélio gengival. Os valores obtidos foram submetidos à análise estatística, e foi verificado que a frequência de células marcadas aumenta com a idade nos dois sexos.

UNITERMOS: Síntese de DNA; radioautografia; timidina triciada; epitélio gengival; idade.

INTRODUÇÃO

A renovação celular é um processo contínuo nos animais, com exceção de algumas células e tecidos altamente especializados.

O tecido pavimentoso estratificado do epitélio bucal de animais e de humanos é continuamente renovado pela divisão mitótica de células da camada basal e de células das porções mais profundas da camada espinhosa^{5, 13, 14, 16, 18, 19, 20, 21, 22}.

A periodicidade diurna na atividade mitótica do epitélio bucal do rato e do camundongo foi verificada^{4, 8, 9, 10, 11, 12} tendo sido constatado que em torno das 10:00 horas o índice mitótico no epitélio gengival atinge um máximo e à noite chega a um mínimo.

Após a verificação em camundongos de influências devidas ao sexo capazes de proporcionar diferenças estatisticamente significativas entre o número de células da camada basal marcadas por timidina triciada¹⁷, diferenças estas que podem ser devidas ao estrógeno que é capaz de estimular a atividade mitótica em geral³, bem como do epitélio gen-

gival de camundongos machos adultos², em particular, e a observação de que a variação da atividade mitótica no epitélio bucal em função da idade foi desmonstrada em ratos^{1, 6, 9, 15}, propôs-se, neste trabalho, estudar, através da radioautografia com a utilização de timidina triciada, a influência da idade sobre a frequência de células da camada basal que sintetizam DNA no epitélio gengival da região do primeiro molar inferior do camundongo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram feitas injeções intraperitoneais de timidina triciada na dosagem de 2 μ Ci (Ameshan Searle, Co.) de peso do animal em 10 camundongos adultos *Mus musculus* com 120 dias de idade, 5 de cada sexo, com aproximadamente 40g de peso, e 6 camundongos jovens com 30 dias de idade, 3 de cada sexo com aproximadamente 20g de peso. O tempo necessário para as injeções foi de 5 minutos e foram feitas no período da manhã, aproximadamente às 10:00 horas, devido à periodicidade diurna na atividade mitótica do epitélio gengival.

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

Os animais foram sacrificados por inalação de éter sulfúrico em excesso; uma hora após a injeção, as mandíbulas foram removidas, seccionadas na linha média e reduzidas a uma peça interessando a região dos molares; estas peças foram fixadas em líquido de Bouin, descalcificadas em ácido fórmico citrato de sódio (1:1), e incluídas em parafina. As peças foram incluídas de modo a fornecerem cortes frontais.

As lâminas, com os cortes de $6\mu\text{m}$ de espessura apenas da região do primeiro molar de cada um dos animais, foram cobertas com emulsão fotográfica NTB-2 (Kodak) e a seguir deixadas em exposição durante 30 dias, reveladas e coradas pela hematoxilina de Harris e eosina a 1% em solução aquosa.

Das lâminas obtidas de cada animal, foi sorteada uma e desta 3 cortes que foram utilizados para a contagem das células da camada basal, marcadas e não marcadas com o precursor radioativo.

Do número total de células marcadas e não marcadas na camada basal, tanto para os animais jovens quanto para os animais adultos, foram calculadas as proporções de células marcadas para cada animal.

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o teste t de Student.

RESULTADOS

Pode-se verificar que nos animais adultos ocorreu um número maior de células marcadas, tanto nos machos quanto nas fêmeas.

Os resultados obtidos através do teste t mostraram que há diferença estatisticamente significativa na frequência de células marcadas na camada basal, tanto nos camundongos machos ($P < 0,05$), quanto nas fêmeas ($P < 0,01$) quando são comparados os valores

entre os animais jovens e os adultos (Tabela 1).

Por outro lado, ficou claro que os valores absolutos referentes às células marcadas na camada basal do epitélio gengival foram sempre maiores nos animais fêmeas do que nos machos, tanto em jovens quanto em adultos.

DISCUSSÃO

Os nossos resultados mostram que no epitélio gengival do camundongo, o número de células marcadas na camada basal aumenta com a idade, o que está de acordo com os resultados obtidos por HANSEN^{8, 9, 10} no epitélio bucal de ratos machos e com os de MEYER *et alii*⁸ e de GARGIULLO *et alii*⁷ em epitélio bucal de camundongos. Neste último caso, verificou-se que houve um aumento na duração do ciclo mitótico das células do epitélio bucal de camundongos em S e G-1 com a idade, acarretando uma diminuição da atividade mitótica nos animais mais velhos, o que não pode ser analisado por comparação pela metodologia empregada neste trabalho. Desta forma, o aumento do número de células marcadas nos animais adultos não significa, necessariamente, que houve um aumento na atividade mitótica das células da camada basal, mas pode ser decorrente de um aumento na duração do ciclo mitótico das células do epitélio bucal em S e G-1, em função da idade⁷, o que acarretaria, na realidade, uma diminuição da atividade mitótica das células desses animais.

A diferença, estatisticamente significativa, obtida através do teste t entre os animais jovens e adultos, pode ser decorrente, principalmente, da diferença de hábitos alimentares entre os animais das duas idades, pois, os jovens encontram-se em fase de desmama

TABELA 1 — Proporção de células em S na camada basal do epitélio gengival de camundongos machos e fêmeas de diferentes idades.

Sexo	Idade	N.º de Animais	Proporção de Células em S x 100 ± SE	Significância
macho	jovem	3	8,8 ± 0,02	P < 0,05
	adulto	5	16,6 ± 0,01	
fêmea	jovem	3	10,5 ± 0,001	P < 0,01
	adulto	5	22,1 ± 0,01	

enquanto que os adultos alimentam-se de ração granulada já há muito tempo.

Com base nos resultados encontrados, que por sua vez reforçam os dados encontrados na literatura, fica evidente a influência da idade sobre a atividade mitótica das células do epitélio gengival de camundongos, fato este que deve ser levado na devida conta na realização de experimentos deste tipo.

CONCLUSÕES

Com base nas nossas observações, alcançadas nas condições deste trabalho, podemos concluir que: 1) há aumento, com a idade, do número de células marcadas com timidina triciada na camada basal do epitélio gengival do camundongo; 2) o número de células marcadas é maior tanto em jovens quanto em adultos, nos animais fêmeas.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Morfologia da Faculdade de Medicina do "Campus" de Ribeirão Preto (USP) nas pessoas do Prof. Dr. A. Haddad e do Técnico de Laboratório Herculanio S. Reis Filho, pelas facilidades criadas para a realização da técnica radioautográfica; ao Setor de Computação de Dados do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina do "Campus" de Ribeirão Preto (USP) na pessoa da técnica em computação Srta. Libertad M. Nali, pela análise estatística dos dados; ao Prof. Dr. Mauro Airtton Rulli, pela leitura e críticas do manuscrito; ao Sr. Gilmar Martins de Oliveira, ex-Auxiliar de Laboratório da disciplina de Biologia, pela colaboração no processamento histológico; a Srta. Shirleni Cantieri pelo trabalho datilográfico; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo — FAPESP — pela concessão de auxílio financeiro que suportou parcialmente a execução deste trabalho (Proc. 74/1262).

TARELHO, Z.V. da S. & HETEM, S. — Radioautographic DNA synthesis study on mice *Mus musculus* gingival epithelium. I. Age effect. *Rev. Odont. UNESP*, São Paulo, 13(1/2):105-108, 1984.

ABSTRACT: It was studied the DNA-synthetizing cells frequency in the gingival epithelium basal layer of the first lower molar region in young adult mice during 3H-thymidine and radioautography. The labeled cells frequency was determined by calculating their proportions. The data were statistically analysed and it was determined that the market cells frequency increases with age in both sexes.

KEY-WORDS: DNA synthesis; radioautography; 3H-thymidine; gingival epithelium; age.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARAKAT, W.J.; TOTO, P.D. & CHOUKAS, N.C. — Aging and cell renewal of epithelium. *J. Periodont.*, 40:599-602, 1969.
2. BEAGRIE, G.S. — Observations on cell biology of gingival tissues of mice. *Br. dent. J.*, 121:417-420, 1966.
3. BULLOUGH, W.S. — A study of the hormonal relations of epidermal mitotic activity in vitro. III. *Adrenalin. Exp. Cell Res.*, 9:108-115, 1955.
4. BULLOUGH, W.S. & LAURENCE, E.B. — The diurnal cycle in epidermal mitotic duration and its relation to chalone and adrenalin. *Exp. Cell Res.*, 43:343-350, 1966.
5. CAMERON, I.L. — Cell proliferation, migration and specialization in the epithelium of the mouse tongue. *J. exp. Zool.*, 163:271-284, 1966.
6. CLEATON-JONES, P. — Mitotic activity in the oral epithelium of the albino rat. *J. dent. Res.*, 55:859-863, 1976.
7. GARGIULLO, A.W.; WENTZ, F.M. & ORBAN, J. — Mitotic activity of human oral epithelium exposed to 30 percent hydrogen peroxide. *Oral Surg.*, 14:474-492, 1961.
8. HANSEN, E.R. — Mitotic activity in the oral epithelium of the rat. Variations according to age and time of the day. *Odont. T.*, 74:196-202, 1966.
9. HANSEN, E.R. — Mitotic activity of the gingival epithelium in colchicized rats. *Odont. T.*, 74:229-239, 1966.
10. HANSEN, E.R. — Mitotic activity and cell densities in gingival epithelium of rats. *Odont. T.*, 75:28-32, 1967.
11. HANSEN, E.R. — Mitotic activity and mitotic duration in tongue epithelium of rats. *Odont. T.*, 75:473-479, 1967.
12. HANSEN, E.R. — Mitotic activity and mitotic duration in tongue and gingival epithelium of mice. *Odont. T.*, 75:480-487, 1967.

13. HAYES, R.L.; SILBERKWEIT, M.; SONI, N.N. & SIMPSON, T.H. — Pattern of mitotic activity and cell densities in normal gingival epithelium of children. *J. dent. Res.*, 43:217-223, 1964.
14. HENRY, J.L.; MEYER, J.; WEINMANN, J.P. & SHCHOUR, I. — Pattern of mitotic activity in oral epithelium of rabbits. *Arch. Path.*, 54:281-297, 1952.
15. KARRING, T. & LOE, H. — The effect of age on mitotic activity in rat oral epithelium. *J. Periodont. Res.*, 8:164-170, 1973.
16. LOE, H.; KARRING, T. & HARA, K. — The site of mitotic activity in rat and human oral epithelium. *Scand. J. dent. Res.*, 80:111-119, 1972.
17. MEYER, J.; MARWAH, A.S. & WINMANN, J.P. — Mitotic rate of gingival epithelium in two age groups. *J. invest. Derm.*, 27:237-247, 1956.
18. MEYER, J.; MEDAK, H. & WINMANN, J.P. — Mitotic activity and rates of growth in regions of oral epithelium differing in width. *Growth*, 24:29-46, 1960.
19. SHAEAV, Y. & MASSLER, M. — Age changes in oral epithelia. *Exp. Cell Res.*, 47:132-138, 1967.
20. SILBERKWEIT, M.; SONI, N.N. & HAYES, R.L. — Pattern of mitotic activity and cell densities in the epithelium of inflamed gingival of children. *J. dent. Res.*, 42:1503-1510, 1963.
21. SONI, N.N.; SILBERKWEIT, M. & HAYES, R.L. — Pattern of mitotic activity and cell densities in human gingival epithelium. *J. Periodont.*, 36:15-21, 1965.
22. TARELHO, Z.V. da S. & HETEM, S. — Estudo radioautográfico da síntese de DNA no epitélio gengival de camundongos *Mus musculus*. II. Influência do sexo. *Rev. Odont. UNESP*, 13:109-112, 1984.

Recebido para publicação em 11.4.84.