

EFEITO DA CICLOFOSFAMIDA SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE GERMES DENTAIS DE MOLARES TRANSPLANTADOS PARA A CÂMARA ANTERIOR DO OLHO DE CAMUNDONGOS

Maria Tereza Giroto MATHEUS*
Sebastião HETEM*

RESUMO: Fetos de camundongos foram sacrificados entre o 13º e o 16º dia de prenhez e os germes dentais dos molares foram transplantados para a câmara anterior do olho. Os hospedeiros foram injetados com 62,5 mg ou 125 mg/kg de peso corporal de ciclofosfamida e sacrificados 15 dias após. A ciclofosfamida interferiu, irreversivelmente, sobre o desenvolvimento do germe dental ocasionando a degeneração total ou alteração de sua morfologia, levando à formação de germes dentais hipodesenvolvidos; atuou de forma diretamente proporcional à idade e à dose empregada; não induziu a formação de osteodentina embora possa levar à inclusão parcial de células na pré-dentina.

UNITERMOS: Ciclofosfamida; germe dental; transplante; câmara anterior do olho.

INTRODUÇÃO

A câmara anterior do olho tem se mostrado um local propício para o desenvolvimento de implantes dentais^{7,8,15,16,19,27,31,35}. Em virtude de sua constituição anatômica, apresenta a vantagem de possuir seu leito natural com paredes altamente vascularizadas^{17,34} que permitem a vascularização do implante dentro de 48 horas após a realização¹⁴; além disso, permite que diversas drogas atuem em seu interior, mesmo sendo descrito como um órgão segregado. É propósito deste trabalho verificar, histologicamente, a influência da administração de ciclofosfamida sobre o desenvolvimento do germe dental de molares de camundongos transplantados para a câmara anterior do olho de hospedeiros da mesma espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados germes dentais de fetos de 12 camundongos fêmeas (*Mus musculus*), com 60 dias de idade, que após a verificação do “plug” vaginal foram sacrificadas, entre o 13º e 16º dia de prenhez, por deslocamento cervical.

* Departamento de Morfologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16015 – Araçatuba – SP.

O útero foi removido, juntamente com os fetos, e colocado numa placa de Petri, esterilizada, contendo solução de Tyrode* e soro fetal bovino*, na proporção volumétrica de 4:1.

Duas outras placas foram utilizadas e nelas havia uma lâmina para microcultura, com uma concavidade central na qual foi colocada solução idêntica à acima citada. Um desses conjuntos foi levado ao microscópio estereoscópico** para a confirmação da idade cronológica dos fetos, baseado nos critérios morfológicos de GRUNEBERG¹³, e posterior dissecação dos germes dentais; o outro serviu de depositário das peças dissecadas até o momento do transplante. Os fetos foram decapitados, as mandíbulas removidas e as regiões dos germes dentais dos molares dissecadas.

A seguir, os hospedeiros – camundongos machos, com 40 dias de idade, pertencentes à mesma linhagem dos fetos – foram anestesiados com Thionembutal*** a 2%, na proporção de 50 mg/kg de peso corporal, administrado intraperitonealmente, e as peças foram colocadas na câmara anterior do olho e deslocadas para uma posição diametralmente oposta àquela da incisão; as bordas da ferida cirúrgica foram apenas aproximadas e não se fez sutura.

Metade do número dos animais hospedeiros que recebeu peças dos fetos de uma mesma prenhez passaram a constituir o grupo-controle e a outra metade, o grupo tratado.

Todos os hospedeiros controle receberam uma única injeção intraperitoneal de água destilada e os tratados uma de solução aquosa, contendo 62,5 mg ou 125 mg de ciclofosfamida**** por quilograma de peso corporal. Os hospedeiros foram sacrificados 15 dias após a realização do transplante.

Os globos oculares foram fixados em solução de formalina a 10% durante 24 horas, descalcificados segundo MORSE²³, incluídos em parafina, cortados com 6 micrômetros de espessura e corados pela hematoxina e eosina e/ou pelo tricrômico de Masson, para posterior análise microscópica.

RESULTADOS

A grande maioria dos germes dentais tratados apresentava dimensão látero-lateral inferior à cérvico-oclusal e ocupava uma área relativamente pequena no campo microscópico, quando comparado aos controles.

O órgão do esmalte nem sempre apresentava suas camadas individualizadas e, por vezes, era constituído por poucas fileiras de células achatadas, dispostas paralelamente à superfície do órgão dental, tanto nos animais-controle quanto nos tratados com 62,5 mg de ciclofosfamida. Nos animais tratados, com 125 mg da droga, as

* Difco Laboratories, Michigan; U.S.A.

** Carl Zeiss, West Germany.

*** Abbott Laboratório do Brasil Ltda.

**** Enduxan – Laboratório Pravaz – Recordati.

camadas que constituíam o órgão do esmalte eram mais difíceis de ser distinguidas, principalmente as mais externas, chegando, às vezes, a mostrar apenas poucas fileiras de células paralelas sobre os pontos mais elevados das cúspides.

O retículo estrelado, nos animais controle, estava constituído por células poligonais unidas por prolongamentos citoplasmáticos e separadas por espaços de dimensões variáveis, inclusive em áreas bem próximas ao estrato intermediário (Fig. 1), enquanto nos tratados era identificável apenas na porção entre as cúspides, apresentando pequenos espaços intercelulares. Entre as células do retículo estrelado estavam presentes capilares sangüíneos (Fig. 2).

O estrato intermediário, nos animais controle, estava constituído por células alongadas, com núcleo oval, cromatina densa e dispostas em poucas camadas, enquanto nos tratados era de difícil identificação, sendo formado por algumas fileiras de células achatadas que acompanhavam a camada ameloblástica.

A camada ameloblástica, tanto nos animais controle quanto nas tratados, era constituída por células altas com citoplasma abundante, basófilo, e núcleos basais alongados; dispunham-se em paliçada. Na região das cúspides eram mais baixas e nas superfícies laterais da coroa, mais altas; em algumas áreas eram visíveis os processos de Thomes. Nas áreas livres de esmalte eram cúbicas baixas ou achatadas e de distribuição irregular; próximo a estas células observaram-se vasos sangüíneos (Fig. 3).

O esmalte, nos animais controle, era mais espesso no terço médio da coroa e, progressivamente, mais delgado em direção à vertente externa das cúspides; o mesmo acontecia nos animais tratados com 62,5 mg de ciclofosfamida (Fig. 4). Nos animais tratados com 125 mg da droga, o esmalte formava uma camada regular, pouco espessa, indo desde as cúspides até a região cervical da coroa, alcançando sua maior espessura no terço médio. O esmalte aparecia como uma trama de material fibrilar orientado perpendicularmente à dentina. Na região das vertentes oclusais e, às vezes, nos sulcos não havia deposição de esmalte.

A camada de dentina, tanto nos animais-controle como nos tratados, não apresentava solução de continuidade e era de espessura variável, de acordo com a área do órgão dental examinada (Fig. 5). A polpa dental estava limitada superficialmente pelos odontoblastos, dispostos paralelamente entre si, justapostos e perpendiculares à superfície interna da pré-dentina; os odontoblastos possuíam núcleos basais e prolongamentos citoplasmáticos que se estendem até o limite amelodentinário. Em alguns casos, nos animais tratados com 125 mg de ciclofosfamida, os corpos celulares estavam parcialmente incluídos na pré-dentina.

O restante da polpa constituía-se de tecido conjuntivo frouxo, rico em fibroblastos, próximos uns dos outros e cuja densidade celular era maior na região cervical; apresentava vascularização intensa e, às vezes, os vasos situavam-se acima e entre os odontoblastos, nos animais tratados.

O diafragma epitelial estava bem delimitado, projetando-se para o interior, e sobre a superfície interna, exceto na sua extremidade, havia pré-dentina sobre a qual encontravam-se odontoblastos (Fig. 6).

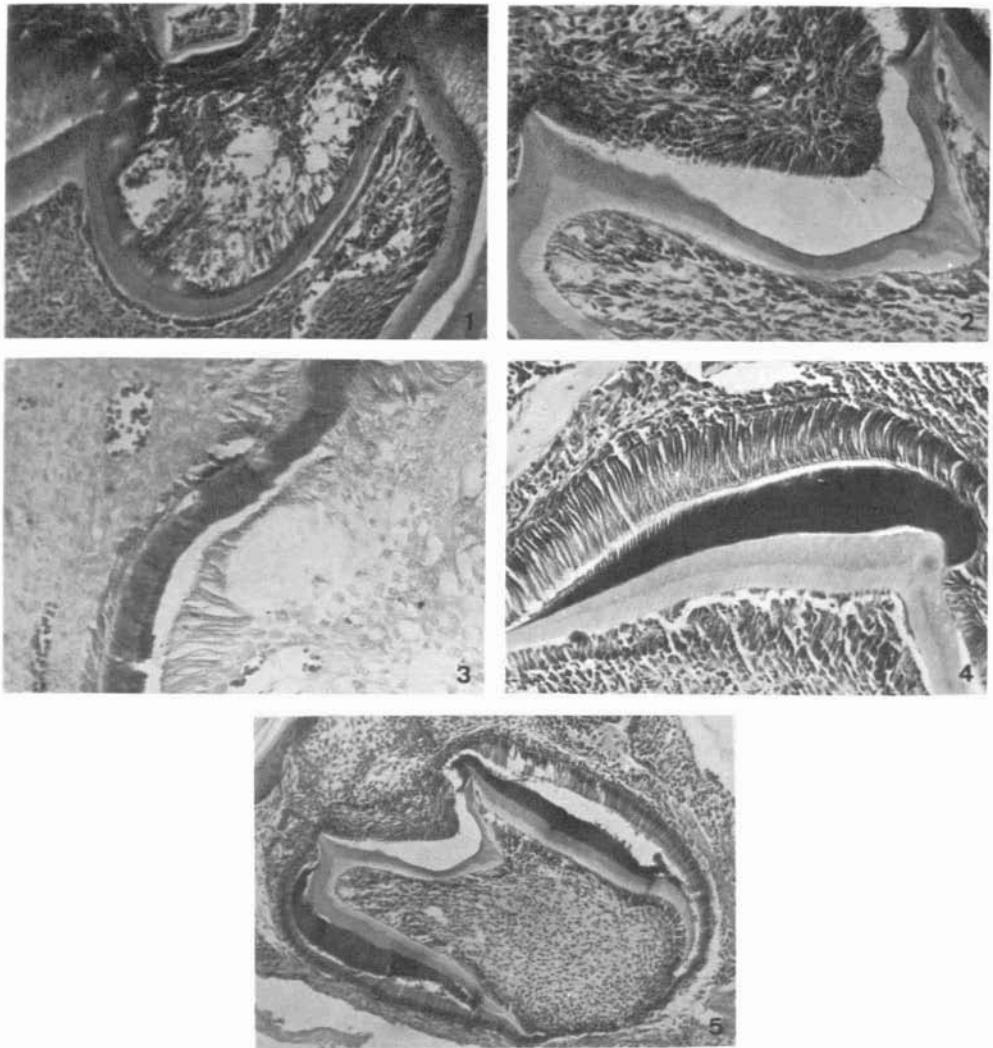


FIG. 1 - Animal controle. H.E. 157,5 X

FIG. 2 - Animal tratado com 62,5 mg de ciclofosfamida. H. E. 157,5 X

FIG. 3 - Animal tratado com 125 mg de ciclofosfamida. Tricrômico de Masson. 800 X

FIG. 4 - Animal controle. H.E. 157,5 X

FIG. 5 - Animal tratado com 62,5 mg de ciclofosfamida. H.E. 63 X

O saco dental, nos animais-controle e tratados com 62,5 mg de ciclofosfamida, era vascularizado, apresentava-se constituído por tecido conjuntivo denso e era mais facilmente individualizado nos germes obtidos mais precocemente. Já nos animais tratados com 125 mg da droga, o saco dental, às vezes de difícil identificação, estava constituído por fibroblastos achatados e fibras colágenas finas.

Nas porções laterais do órgão dentário, nos animais controle e nos tratados com 62,5 mg de ciclofosfamida, notava-se início de organização do ligamento periodontal, onde fibras colágenas delgadas estavam dispostas paralelamente entre si e obliquamente em relação à coroa dental. Já nos animais tratados com 125 mg da droga, o ligamento periodontal mostrava início de organização com as células e fibras com orientação não muito bem definida (Fig. 7).

Externamente à região de organização do ligamento periodontal, tanto nos animais controle quanto nos tratados, havia tecido ósseo em desenvolvimento, com trabéculas imaturas e amplos espaços medulares irrigados ou a presença de trabéculas ósseas com grau maior de maturação (Fig. 8); enquanto a presença de osteoblastos e osteócitos era uma constante, só raramente osteoclastos eram observados.

Cerca de 85% dos germes dentais controle transplantados se desenvolveram. Embora com pequenas variações, apresentavam crescimento e desenvolvimento compatíveis com a idade dos germes dentais transplantados. Com relação aos animais tratados com 62,5 mg de ciclofosfamida, 40% dos germes estavam presentes, apresentando-se porém hipodesenvolvidos. Nestes animais, os germes dentais obtidos de fetos mais jovens desenvolveram-se em maior número e dentro de um padrão próximo do normal. A ausência de desenvolvimento de germe dental progredia conforme aumentava a idade dos fetos, sendo que o desenvolvimento não ocorreu para os espécimes obtidos com 16 dias de vida intra-uterina. Apenas 20% dos germes transplantados, cujos animais receberam 125 mg da droga, apresentavam desenvolvimento. Nesses casos ocorria a formação de órgãos hipodesenvolvidos e havia variação, tanto no padrão de desenvolvimento quanto no de crescimento; relacionada à idade fetal, era inversamente proporcional à idade. Nos germes obtidos a partir de 15 dias, não houve desenvolvimento; por outro lado, eram maiores aqueles que se desenvolveram a partir de fetos de 14 e 14 1/2 dias do que aqueles obtidos de fetos de 13 dias de vida intra-uterina.

Nos animais controle e tratados, quando dois germes estavam presentes, em alguns casos notava-se um desenvolvimento diferente entre os germes dentais, sendo um completamente desenvolvido e outro na fase de campânula; em outros casos, a morfologia e o desenvolvimento eram semelhantes porém com suas dimensões reduzidas.

Nos animais tratados com 62,5 mg e 125 mg de ciclofosfamida, era comum observar vestígios de estruturas dentais degeneradas e/ou reabsorvidas (Fig. 9).

Apenas nos animais-controle notou-se a presença de três germes dentais, porém suas dimensões eram reduzidas e não havia característica morfológica própria dos molares, sendo suas formas bastante semelhantes entre si (Fig. 10).

DISCUSSÃO

É possível que o desenvolvimento satisfatório dos germes dentais transplantados para a câmara anterior do olho, nos animais-controle, passa estar relacionado não só às condições imunológicas favoráveis desse sítio, mas principalmente à constituição

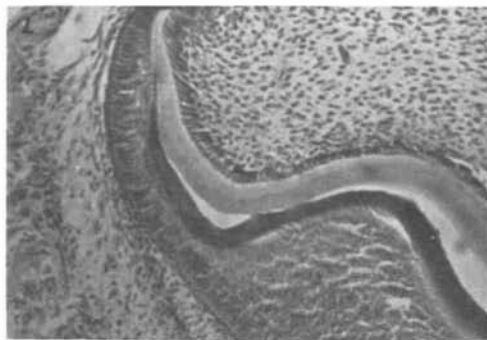
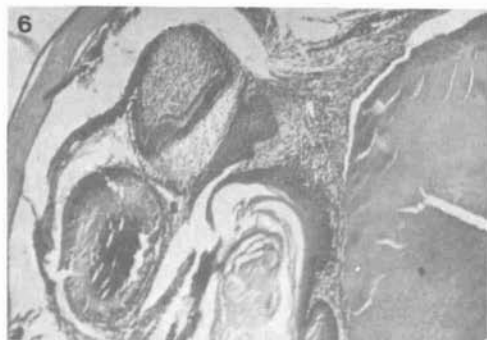


FIG. 6 - Animal controle. H.E. 396,9 X

FIG. 7 - Animal tratado com 62,5 mg de ciclofosfamida. H.E. 157,5 X

FIG. 8 - Animal tratado com 125 mg de ciclofosfamida. H.E. 157,5 X

FIG. 9 - Animal tratado com 62,5 mg de ciclofosfamida. H.E. 63 X

FIG. 10 - Animal controle. H.E. 63 X

anatômica da câmara anterior do olho³⁴, limitado anteriormente pela córnea, revestida por um epitélio que não possui circulação linfática nem sangüínea, e posteriormente pela íris, que possui um estroma modificado altamente vascularizado, sendo ambas muito inervadas. Além disso, o transplante na câmara anterior do olho é depositado em um espaço natural, com revestimento próprio, tal como o que ocorre na

bolsa facial do hamster²⁹. Assim, além das vantagens advindas do leite natural cuja parede é altamente vascularizada, o germe dental é, de imediato, mantido pelo humor aquoso, que constitui-se em excelente via metabólica para tecidos avasculares³⁴. Por outro lado, pode-se atribuir o sucesso dos transplantes à escolha de um bom leite, associada à presença de condições ideais de vascularização e nutrição.

Após 3 dias, o germe dental transplantado desenvolveu-se de acordo com os padrões normais^{5,15} *in vivo*, tanto no local original de desenvolvimento quanto na câmara anterior do olho, além de ser nutrido, após um período curto, pelo humor aquoso ou pela sua vascularização que ocorre dentro de 48 horas¹⁴.

Os germes dentais com 15 dias pós-transplante, na câmara anterior do olho, evoluem e produzem as estruturas dentais; a papila dental e o órgão do esmalte desenvolvem-se, diferenciam-se os odontoblastos e os ameloblastos e depositam os tecidos mineralizados da coroa dental, de forma similar à descrita em outros modelos experimentais^{7,8,19}.

Além do esmalte e da dentina, há produção também de tecido ósseo por um mecanismo de indução das células transplantadas sobre o conjunto receptor²⁹ ou sobre o revestimento do assoalho da câmara anterior ou, mais provavelmente, por terem sido transplantados juntamente com o germe dental, células periféricas do mesmo, potencialmente capazes de produzir tecido ósseo²⁹. Esta hipótese é mais válida, pois as células do saco dental ou até mesmo da papila dental, na idade em que os espécimes foram obtidos, possuem potencialidade para originar as estruturas de suporte dental^{32,35}, o que confirma que as estruturas periodontais são de origem dental³¹.

É possível que o desenvolvimento ocorrido, em nossos resultados, seja devido ao fato dos transplantes terem se constituído de órgãos inteiros, pois quando fragmentos de germes dentais são transplantados continuam a se diferenciar²⁰ e formam, às vezes, um dente perfeito mas em miniatura¹².

Os controles forneceram espécimes plenamente satisfatórios, embora 15% deles não tenham se desenvolvido, o que corrobora as observações de que, embora possuindo condições plenas de desenvolvimento, nem todos os transplantes o fazem e muitos sofrem metaplasia e até mesmo desaparecem^{2,4,29}.

Nos órgãos dentais a ciclofosfamida determina, em camundongos, um retardo na proliferação epitelial⁶ e, no homem, alterações na mucosa bucal²⁶; desta forma, interfere na proliferação de células do epitélio da mucosa gengival e diminui o número de células epiteliais⁹. As células mesenquimais também são sensíveis à ciclofosfamida¹ e, na camada odontoblástica, assim como nas demais células pulpares, produz zonas de necrose²⁴.

Sendo uma droga que age principalmente sobre células em grande atividade proliferativa^{3,33}, deve ter exercido sua ação nos germes dentais por nós transplantados, uma vez que eles estavam em pleno desenvolvimento embrionário e a fração proliferativa era bastante alta, o que explica a porcentagem dos germes dentais que não se desenvolveram tanto para os animais tratados com 62,5 mg quanto para os tratados com 125 mg/kg de peso corporal de ciclofosfamida. A diferença das porcentagens de

germes dentais que se desenvolveram, em função da, e em ordem inversamente proporcional à dose de ciclofosfamida administrada, deve resultar do fato de que ela tem ação diretamente proporcional à dose empregada²¹ e causa um efeito danoso sobre os dentes em desenvolvimento, de forma temporária³⁰.

A ocorrência de um percentual de desenvolvimento dos germes controles muito superior ao dos tratados, verificada neste trabalho, leva a crer que, mesmo sendo o olho um dos órgãos segregados do organismo, a droga atingiu o germe dental modificando sua morfologia, tanto pela administração de 62,5 mg/kg quanto de 125 mg/kg de peso corporal de ciclofosfamida, levando à formação de germes alongados no sentido ocluso-cervical devido à sua ação sobre as células em proliferação ou menos diferenciadas, isto é, onde as mitoses usualmente ocorrem³⁰.

Sendo citotóxica, a droga bloqueia a duplicação do RNA, promovendo o desaparecimento de células, interferindo no desenvolvimento do germe, o que se reflete na constituição de um germe diminuído em tamanho.

Quanto aos germes dentais que não se desenvolveram, é provável que seja uma decorrência da correlação administração de ciclofosfamida e idade fetal, uma vez que, nos animais de mais idade, há um desenvolvimento maior de células diferenciadas e, provavelmente, sem o mesmo potencial de recuperação.

Em função da dose empregada ocorre falta de desenvolvimento também de germes obtidos de fetos mais jovens, cuja causa deve ser atribuída a uma ação mais drástica da ciclofosfamida, envolvendo maior população celular, independentemente da idade, de modo que, quanto maior a dose empregada, maior a quantidade de células afetadas e maior a extensão da injúria, a ponto de não se desenvolver o germe transplantado.

A presença de mais de um germe em um mesmo globo ocular com características morfológicas e com desenvolvimento semelhantes pode ser devida à dicotomização da lâmina dental posterior ou decorrente da expressão de uma pré-disposição inerente à formação de dentes adicionais^{18,27}; por outro lado, a ocorrência de germes dentais adicionais apenas nos animais do grupo-controle, por nós observada, pode ser devida à fragmentação do germe dental no momento da sua implantação. Fragmentos de germes dentais podem desenvolver dentes de tamanho reduzido¹², assim como em reimplantes de incisivos o trauma gera o aparecimento de dentículos nos animais controles, o que não se verifica nos animais do grupo tratado, devido aos traumatismos durante a implantação associados aos efeitos da ciclofosfamida atuando de forma a impedir seu desenvolvimento¹¹. Tal fenômeno não ocorreria se o desenvolvimento se devesse apenas à dicotomização e crescimento da lâmina dental posterior; assim, nos casos em que houve o aparecimento de dois germes dentais, nos animais tratados, um estava em fase inicial de desenvolvimento e o outro degenerado, sendo que o dente em desenvolvimento corresponde ao germe do segundo molar em seu processo normal de evolução e em época apropriada de desenvolvimento.

A presença de capilares sangüíneos ao nível do retículo estrelado do órgão do esmalte deve estar relacionada à grande demanda metabólica dos ameloblastos e,

apesar de corroborar descrições anteriores de trabalhos feitos em ratos^{22,25} e em camundongos^{10,28}, é contrária aos conceitos de constituição do tecido epitelial.

Pelo que pudemos observar, a ciclofosfamida, que possui propriedades citotóxicas, apesar de possibilitar o desenvolvimento tardio de alguns espécimes, leva à dedução de que seus efeitos são totalmente irreversíveis, permitindo inferir que a sua administração em doses sucessivas e com prescrição adequada deve ocasionar o impedimento total do desenvolvimento de órgãos ou estruturas, agindo no nível celular.

CONCLUSÕES

Nas condições experimentais deste trabalho e com base nos resultados alcançados podemos concluir que a ciclofosfamida interfere, irreversivelmente, sobre o desenvolvimento do germe dental, ocasionando a degeneração total do germe dental ou alteração da morfologia dental, pois leva à formação de germes dentais hipodesenvolvidos; atua de forma diretamente proporcional à idade e à dose empregada; não induz a formação de osteodentina, embora possa levar à inclusão parcial de células na pré-dentina, e não produz alterações observáveis ao nível celular.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo auxílio concedido para a realização deste trabalho (Processo 84/1681-7).

MATHEUS, M. T. G. & HETEM, S. – Effects of the cyclophosphamide on mouse molar tooth germ development grafted into the anterior chamber of the eye. **Rev. Odont. UNESP**, São Paulo, **19**: 51-61, 1990.

ABSTRACT: Mice foetus were killed between 13 and 16 days of the gestational period and their molar tooth germs grafted into the anterior chamber of the eye. The hosts were injected either with 6.25 mg/Kg or with 125 mg/Kg of cyclophosphamide and killed 15 days later. The cyclophosphamide irreversibly, interferes on tooth germ development causing either its total degeneration or an alteration on its morphology forming hypodeveloped tooth germs; its action is directly proportional to the foetus age and to the dose used; it does not induce the formation of osteodentin while some predentin partial cell inclusion may occur.

KEY-WORDS: Cyclophosphamide; tooth germ; grafts; anterior chamber of the eye.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADATIA, A. K. – Effect of cyclophosphamide on dentinogenesis in the rat. *J. dent. Res.*, 52: 981, 1973. (abst.)
2. ATKINSON, M. E. – The role of host tissue in repair of transplanted mouse molar teeth. A reappraisal of induction of odontoblasts during tooth development and repair. *Arch. oral Biol.*, 21: 91-3, 1976.
3. BACH, J. F.; DARDENNE, M.; FOURNIER, C. & DORMOUNT, J. – Pharmacologie des immunosupresseurs. *G.M. France*, 78: 27-44, 1971.
4. BARTLETT, P. F. & READE, P. C. – The antigenicity of mouse tooth germs. *Transplantation*, 16: 479-88, 1973.
5. COHN, S. A. – Development of the molar teeth in the albino mouse. *Am. J. Anat.*, 101: 295-319, 1957.
6. DESPREZ, J. D. & KIELRN, C. L. – The effects of cytoxan (cyclophosphamide) on wound healing. *Plast. reconstr. Surg.*, 26: 301-8, 1960.
7. FONG, C.; BERGER, J. E. & MORRIS, M. – Experimental allogeneic tooth transplantation in the rhesus monkey. *J. dent. Res.*, 47: 351-7, 1968.
8. FONG, C.; MORRIS, M.; GRANT, J. & BERGER, J. – Experimental tooth transplantation in the rhesus monkey. *J. dent. Res.*, 46: 492-6, 1967.
9. FURUSE, T. A. – *Processo de reparo de extração dental após administração de ciclofosfamida. Estudo histológico em ratos.* Araçatuba, Fac. Odont. Araçatuba, UNESP, 1973. (Tese – Doutorado)
10. GARANT, P. R. & GILLESPIE, R. – The presence of fenestrated capillaries in the capillary layer of the enamel organ. *Anat. Rec.*, 163: 71-80, 1968.
11. GARRAFA, V. – *Transplantes homogêneos de incisivos de ratos submetidos à ação da ciclofosfamida. Estudo histológico.* Araçatuba, Fac. Odont. Araçatuba, UNESP, 1973. (Tese – Doutorado)
12. GLASSTONE, S. – The development of halved tooth germs. A study in experimental embryology. *J. Anat.*, 86: 12-5, 1952.
13. GRUNEBERG, H. – The development of some external features in mouse embryos. *J. Hered.*, 34: 89-92, 1943.
14. GURALNICK, W. C. & SHULMAN, L. B. – Tooth transplantation. *Dent. Clin. N. Am.*, 15: 499-511, 1962.
15. HAHN, W. E. – The capacity of developing tooth elements for self-differentiation when transplanted. *J. dent. Res.*, 20: 4-19, 1941.
16. HETEM, S. – Influence of tetracycline on development of intraocular grafts of tooth germs. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 4: 29-31, 1975.
17. JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. – *Histologia Básica*, 6ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1985.
18. KERLEY, M. A. & KOLLAR, E. J. – Supernumerary tooth formation in mouse molar transplants. *J. dent. Res.*, 56: 1344, 1977.
19. KLEIN, J.; SECOSKY, W. R. & KLEIN, D. – Tooth transplantation in the mouse. The use of procion dyes and tritiated proline in a study of syngeneic tooth germ transplantation. *Am. J. Anat.*, 131: 371-85, 1971.
20. KOCH, W. E.; KOCH, B. & LEDBURY, P. – *In vitro* differentiation of tooth rudiments of embryonic mice. II. Growth of isolated thirds of embryonic mouse incisors. *Anat. Rec.*, 166: 517, 1970.

21. KOROKOLVAS, A. – Mecanismo de ação dos agentes antineoplásicos. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*, 9: 5-60, 1971.
22. MARCHI, F. – Comunicação pessoal, 1985.
23. MORSE, A. – Formic acid-sodium citrate decalcification and butyl alcohol dehydration of teeth and bone for sectioning in paraffin. *J. dent. Res.*, 24: 143-53, 1945.
24. SANTOS-PINTO, M. C. – *Reimplante de incisivos após a administração de ciclofosfamida. Estudo clínico, radiográfico e histológico em ratos*. Araçatuba, Fac. Odont. Araçatuba, UNESP, 1973. (Tese – Doutorado)
25. SASAKI, T.; TOMINAGA, H. & HIGASHI, S. – Microvascular architecture of the enamel organ in the rat incisor maturation zone. Scanning and transmission electron microscopic studies. *Acta anat.*, 118: 205-13, 1984.
26. SCEVOLA, A. – La alterazioni citomorfologiche della mucosa orale in corso di trattamento con sostanze citostatiche. *Arch. ital. Otol.*, 78: 873-84, 1968.
27. SIQUEIRA, E.; MATHEUS, M. T. G. & HETEM, S. – Desenvolvimento intra-ocular de germes dentais irradiados. *Rev. Odont. UNESP*, 10: 49-54, 1981.
28. SILVEIRA, Z. V. – Informação pessoal, 1985.
29. SMERILLI, A. L. & ITOIZ, M. E. – Transplante de germen dentario a la bolsa facial del hamster. *Rev. Asoc. odont. arg.*, 18: 21-4, 1980.
30. SMITH, C. E. & WARSHAWSKY, H. – Cellular renewal in the enamel organ and the odontoblast layer of the rat incisor as followed by radioautography using ³H-proline. *Anat. Rec.*, 183: 523-61, 1975.
31. TEN CATE, A. R. & MILLES, C. – The development of the periodontium. The origin of alveolar bone. *Anat. Rec.*, 173: 69-78, 1971.
32. THOMAS, H. F. & KOLLAR, E. J. – Epithelio-mesenchymal interactions in root development. *J. dent. Res.*, 64: 274, 1985. (abst.)
33. VAN PUTTEN, L. M. & LELIEVELD, P. – Factors determining cell killing by chemotherapeutic agents *in vivo*. I. Cyclophosphamide. *Europ. J. Cancer*, 6: 313-31, 1970.
34. WARWICK, R. & WILLIAMS, P. L. – *GRAY anatomy*. Trad. – O. Machado de Sousa, 35ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1979. (tomo II)
35. YOSHIKAWA, D. K. & KOLLAR, E. J. – Recombination experiments on the odontogenic roles of mouse dental papilla and dental sac tissues in ocular grafts. *Arch. oral Biol.*, 26: 303-7, 1981.

Recebido para publicação em 05.10.1989