

AÇÃO DO FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA NO DESENVOLVIMENTO DE GERME DENTAL TRANSPLANTADO PARA A CÂMARA ANTERIOR DO OLHO DE CAMUNDONGOS*

Maria Tereza Giroto MATHEUS**

Sebastião HETEM***

- **RESUMO:** Germes dentais de molares inferiores de fetos de camundongos com 14 dias foram transplantados para a câmara anterior do olho de camundongos hospedeiros. Os animais tratados receberam, diariamente, injeções intraperitoneais de fosfato sódico de dexametasona na dosagem de 2 mg/kg de peso corporal, durante 12 dias. Verificou-se um desenvolvimento semelhante dos germes dentais do grupo tratado quando comparado aos do grupo controle. Assim, nas condições experimentais aqui utilizadas, não se verificaram efeitos prejudiciais ao desenvolvimento dos germes dentais ocasionados pelo fosfato sódico de dexametasona. São discutidas as características da câmara anterior do olho, como local para a realização de transplante de órgãos e as reações que os mesmos apresentam ante a administração de drogas por via sistêmica.
- **UNITERMOS:** Germe de dente, transplante; dexametasona, farmacologia; transplante intra-ocular.

Introdução

Após a realização dos primeiros transplantes de germes dentais, seu desenvolvimento tem sido analisado em diversos sítios e, entre eles, verificou-se que a câmara anterior do olho é um local propício para o seu desenvolvimento,^{3,5,6,23} passando esta a ser utilizada, também, com a finalidade de se estudar o desenvolvimento de germes dentais sob a ação de diversas drogas.^{7,11,15}

* Trabalho subvencionado pela FAPESP (Proc. 89/3958-0).

** Departamento de Morfologia - Faculdade de Odontologia - UNESP - 16015-050 - Araçatuba - SP.

*** Departamento de Morfologia - Faculdade de Odontologia - UNESP - 14801-903 - Araraquara - SP - Bolsista do CNPq-Proc. 301761/85-0 (RE)

O efeito de drogas sobre o desenvolvimento do germe dental, transplantado para a câmara anterior do olho, tem sido estudado com a finalidade de se verificar sua influência tóxica sobre as células.^{5,11,12,15.*}

Considerando-se a complexidade do assunto, a gama de variação de drogas que podem e devem ser utilizadas, além de novos enfoques que podem ser dados quanto ao que diz respeito à atuação dos glicocorticóides sobre peculiaridades do desenvolvimento de órgãos dentais transplantados para diferentes sítios, nos propomos a estudar, histologicamente, a ação do fosfato sódico de dexametasona sobre o desenvolvimento de germes dentais transplantados para a câmara anterior do olho de camundongos hospedeiros.

Material e métodos

Neste trabalho foram utilizados 4 camundongos fêmeas, prenhes (*Mus musculus* - var. albino Swiss), com aproximadamente 60 dias de idade, acasaladas na proporção de duas fêmeas para cada macho, durante 14 horas. Decorridos 14 dias de gestação, a contar da verificação do *plug* vaginal, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical.

Efetuiu-se a remoção do útero e a seguir dos fetos, cuja idade cronológica foi confirmada com base em critérios morfológicos.⁸ A seguir, a mandíbula foi removida e as regiões dos molares inferiores dissecadas e armazenadas num recipiente contendo solução de Tyrode e soro fetal bovino.**

O transplante foi realizado para a câmara anterior do olho de camundongos hospedeiros com, aproximadamente, 40 dias de idade, da mesma linhagem dos fetos. Os animais foram anestesiados com thionembital*** a 2%, na proporção de 50 mg/kg de peso corporal, administrado intraperitonealmente. A incisão da córnea foi realizada de forma a não lesar as estruturas adjacentes e, durante a colocação dos germes dentais, tomou-se a precaução de afastá-los para uma posição diametralmente oposta àquela da incisão. As bordas da ferida cirúrgica foram coaptadas, não tendo sido realizada sutura.

Os hospedeiros foram divididos em um grupo controle e um tratado, e receberam injeções intraperitoneais, diariamente. Nos controles foi injetado 0,1 ml de água destilada, e nos tratados 0,1 ml de solução aquosa de fosfato sódico de dexametasona, na proporção de 2 mg/kg de peso corporal. Durante todo o período experimental, os animais receberam ração granulada e água à vontade.

* HETEM, S., MATHEUS, M. T. G., KANNO, C. M. Efeitos do metotrexato sobre o desenvolvimento do germe dental transplantado para a câmara anterior do olho, 1993. (Comunicação pessoal)

** Difco Laboratories.

*** Laboratório Abbott.

O sacrifício ocorreu 12 dias após o transplante, e os globos oculares foram removidos, fixados em formol neutro a 10%, descalcificados em solução de citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 50%, em partes iguais.¹⁶ Após a descalcificação, realizaram-se a inclusão em parafina, cortes seriados com 6 micrômetros de espessura e coloração pela hematoxilina e eosina.

Resultado

Molar controle

Aos 12 dias pós transplante, observou-se que os germes dentais, embora apresentassem pequenas variações individuais, mostraram-se bem desenvolvidos e bem estruturados (Figuras 1, 2 e 3). Observou-se uma área rica em queratina que recobria um tecido epitelial estratificado pavimentoso, característico de epitélio de revestimento. Entre esse tecido e o germe dental interpunha-se um tecido conjuntivo cuja espessura variava, em razão da área considerada da coroa dental (Figura 2).

Quanto à morfologia, os órgãos dentais tinham características próprias de molares e apresentavam a dimensão látero-lateral superior à ocluso-cervical. Estava difícil identificar o epitélio externo do órgão de esmalte. O retículo estrelado, na área intercuspídica, apresentava regiões com grandes espaços intercelulares e outras onde as células estavam próximas umas das outras e, portanto, com espaços intercelulares pequenos. Entre estas células era comum a presença de vasos sanguíneos. O estrato intermediário, quando visível, estava constituído por poucas fileiras de células paralelas. O epitélio interno do órgão do esmalte já estava diferenciado em ameloblastos (Figura 3). Os ameloblastos secretores eram células altas, com núcleo basal, alongado e citoplasma basófilo, enquanto nas áreas livres de esmalte eram representados por células cúbicas ou alongadas.

O esmalte estava depositado em toda a extensão do limite amelodentinário, exceção feita às regiões das vertentes oclusais das cúspides e, às vezes, dos sulcos, onde se localizam as regiões carentes de esmalte. A camada de esmalte era mais delgada na região cervical e mais espessa nas vertentes vestibular e lingual das cúspides (Figura 3). Acompanhando todo o limite amelodentinário, internamente, estava depositada a camada de dentina, cuja espessura variava de acordo com a região examinada. Abaixo dela encontrava-se a pré-dentina, mais espessa na região das projeções pulpares abaixo das cúspides e mais delgadas na região cervical onde se curvava em direção à câmara pulpar. Nessa região encontrava-se, externamente à pré-dentina, o epitélio interno em contato direto com o epitélio externo do órgão do esmalte.

Forando internamente a camada de pré-dentina, estavam os odontoblastos que se apresentavam como células altas, de citoplasma basófilo e núcleo basal. Entre os

odontoblastos, em algumas regiões, notava-se a presença de vasos sanguíneos. O restante do tecido pulpar estava constituído por células estreladas bem-distribuídas e com a presença de vasos sanguíneos. Era constante uma condensação maior de células na região da abertura cervical (Figura 3). Externamente ao órgão dental, encontravam-se células orientadas paralelamente em relação à sua superfície, representando o início de organização do ligamento periodontal. Também, lateralmente ao germe dental, havia tecido ósseo situado mais externamente e separado deste pelo ligamento. O tecido ósseo estava formado por trabéculas delgadas, cujo número variava de animal para animal (Figura 1).

Nem sempre, apenas, um germe dental era observado. Nestes casos, o segundo molar e, mais raramente, o terceiro molar, embora bem estruturados, estavam em estágio de desenvolvimento mais atrasado, o que é normal, considerando-se a própria seqüência de desenvolvimento desses dentes (Figura 2).

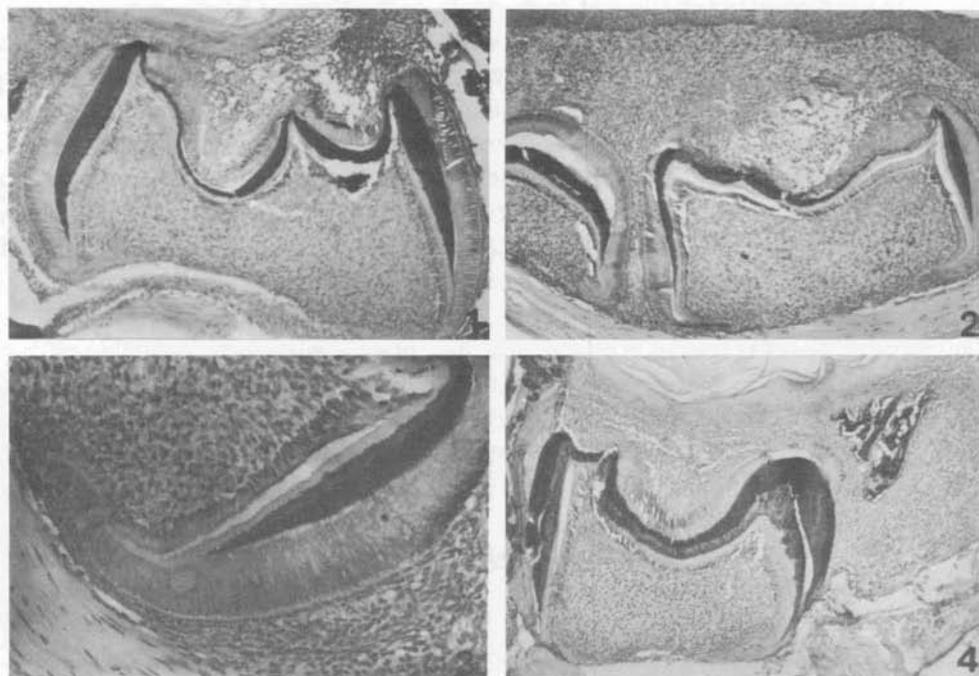


FIGURA 1 - Molar controle. Bem desenvolvido e bem estruturado, mostrando trabeculado ósseo delgado, correspondente ao início da formação do osso alveolar. HE. 63 X.

FIGURA 2 - Molar controle. Tecido conjuntivo entre o epitélio estratificado pavimentoso de revestimento e o germe dental; presença de segundo molar. HE. 63 X.

FIGURA 3 - Molar controle. Diferenciação do estrato intermediário, ameloblastos, esmalte, processos de Tomes e condensação celular na região da abertura cervical. HE. 160 X.

FIGURA 4 - Molar tratado. Notar a semelhança com os molares controles e início de formação de tecido ósseo alveolar. HE. 63 X.

Molar tratado

Os molares tratados apresentavam-se com bom desenvolvimento, bem-estruturados e com características morfológicas bastante semelhantes às dos molares controles (Figura 4).

O órgão do esmalte estava presente com todas as suas camadas mais ou menos evidenciadas, dependendo do espécime observado. No retículo estrelado, observavam-se vasos sanguíneos contendo, quase sempre, hemácias em seu interior (Figura 5); as camadas de ameloblastos e odontoblastos possuíam células diferenciadas e dispostas de maneira semelhante às do grupo controle. O mesmo ocorria com as camadas de esmalte, dentina e pré-dentina; a polpa também era rica em células estreladas e em vasos sanguíneos, com concentração maior de células na região cervical (Figura 6).

Circundando o germe dental, dispunham-se células alongadas, paralelas entre si, com início de organização do ligamento periodontal (Figura 7). Esse tecido era bem vascularizado. Pôde-se notar a presença de tecido ósseo a alguma distância do germe dental (Figuras 4 e 8).

Nestes animais foi possível observar também a presença de mais de um germe dental, que, da mesma maneira como ocorreu nos animais do grupo controle, apresentava diferenças no seu desenvolvimento (Figura 8).

Discussão

A câmara anterior do olho, como já destacado em trabalho anterior,¹⁵ tem se mostrado um local plenamente favorável para o desenvolvimento de germes dentais transplantados. Assim, esse local para transplante merece ser explorado mais acentuadamente, pois, além dos trabalhos que permitiram obter uma série de informações sobre a odontomorfogênese^{4,5,6,13} e de se estabelecer o papel das estruturas epiteliais e conjuntivas nesse fenômeno,^{1,14,21,23} tem-se mostrado útil à verificação de efeitos de substâncias medicamentosas administradas aos hospedeiros^{6,7,11} ou até mesmo os efeitos da radiação X.²⁰

A obtenção de resultados plenamente satisfatórios sobre o desenvolvimento de germes dentais, transplantados para a câmara anterior do olho, deve-se, provavelmente, não só às condições imunológicas favoráveis desse local^{1,17} mas também às condições de rápida nutrição do transplante, graças à riquíssima rede vascular presente nas estruturas que circundam a câmara anterior do olho.²² Desse modo, o sucesso dos transplantes na câmara anterior do olho deve-se à escolha de um bom leito, associada à presença de condições adequadas de vascularização e nutrição,¹⁵ de tal modo que, após um período muito curto, o germe é nutrido pelas estruturas do hospedeiro.⁹

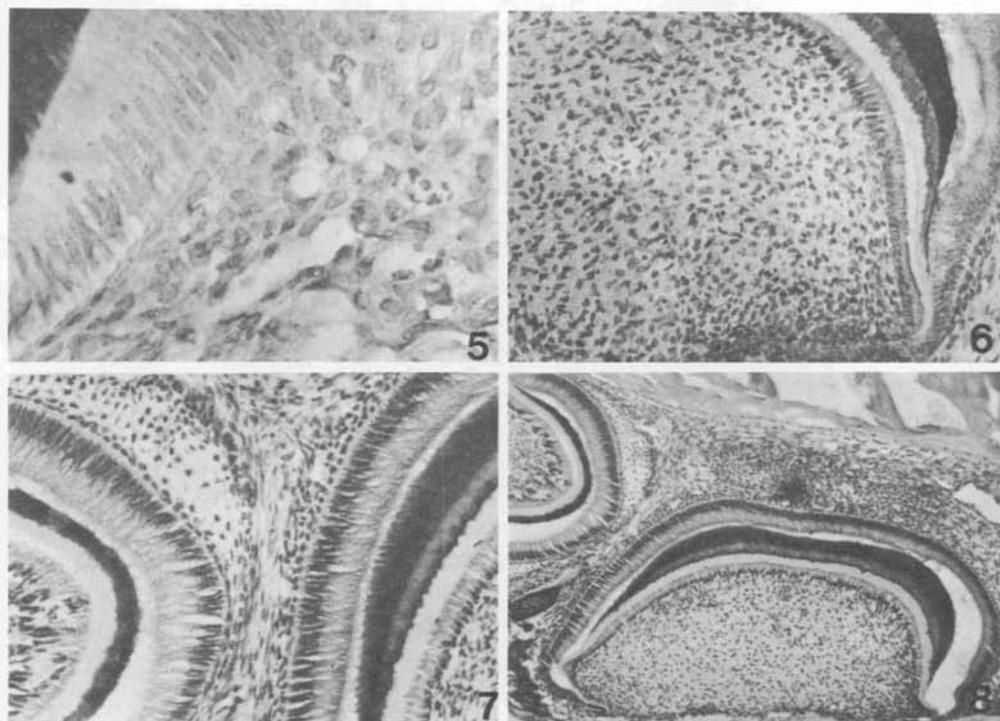


FIGURA 5 – Molar tratado. Presença de vasos sanguíneos no retículo estudado. HE. 400 X.

FIGURA 6 – Molar tratado. Notar a semelhança de seus componentes com os dos molares controles. HE. 160 X.

FIGURA 7 – Molar tratado. Início de organização do ligamento periodontal; presença de um segundo molar. HE. 160 X.

FIGURA 8 – Molar tratado. Notar a presença de um segundo molar e trabeculado ósseo lateralmente. HE. 63 X.

Os resultados alcançados neste trabalho confirmam as qualidades especiais que possui a câmara anterior do olho como sítio para transplante, uma vez que houve um crescimento com as características e dentro dos padrões, tanto morfológico quanto temporal dos germes transplantados.^{2,10,19}

A ausência de diferenças entre germes dentais dos grupos controle e tratado corrobora as informações de que a administração de cortisona favorece, principalmente no início, o desenvolvimento do germe dental transplantado, embora não mantenha essas características nos períodos tardios,⁵ ou de que não produz diferença entre os grupos tratado e controle pela adição de até 100 µg/ml no meio de cultura, antes do transplante para a bolsa da bochecha do hamster.¹⁸ Nossos resultados, considerando a duração do período de análise, por um lado, divergem da observação de que a cortisona determina um crescimento menor nos germes dos animais injetados, e, por outro lado, não trazem nenhuma sugestão de que possa haver reabsorção dos transplantes após a suspensão da sua administração.⁵ Talvez em virtude da dosagem

empregada, nossos resultados não corroboram as observações de ocorrências de injúrias às células do germe dental *in vitro* nas concentrações de 200 ou 300 µg/ml, determinando uma redução da velocidade de crescimento do transplante decorrente do grau de injúria da droga, produzindo dentina irregular com inclusão de células.¹⁸

Os resultados alcançados neste trabalho corroboram os de autores que, usando metodologia semelhante, também não encontraram efeitos deletérios produzidos pela administração de tetraciclina na concentração de 100 mg/kg de peso corporal diariamente, por 10 dias¹¹ ou de 30 mg/kg do imunomodulador SB-73, por 7 ou 9 dias.¹²

Já, quando comparados com estudos que empregaram ciclofosfamida, pode-se notar a discrepância de resultados, uma vez que estes últimos verificaram efeitos irreversíveis sobre o desenvolvimento, tanto em virtude da dose empregada quanto da idade fetal em que os germes dentais foram obtidos,¹⁵ o mesmo acontecendo quando do uso de 15 mg/kg de metotrexato*.

Diante do exposto e do descrito na literatura, pode-se deduzir que a câmara anterior do olho não só tem se mostrado altamente qualificada para receber transplantes de órgãos, uma vez que possibilita seu pleno desenvolvimento, como também se presta para a realização de estudos dessa natureza, uma vez que reflete com fidelidade as conseqüências às quais o organismo é submetido pela administração sistêmica de diferentes drogas.

Conclusão

O fosfato sódico de dexametasona, nas condições utilizadas neste trabalho, não produziu alterações no desenvolvimento do germe dental transplantado para a câmara anterior do olho de camundongos hospedeiros.

* HETEM, S., MATHEUS, M. T. G., KANNO, C. M. Efeitos do metotrexato sobre o desenvolvimento do germe dental transplantado para a câmara anterior do olho, 1993. (Comunicação pessoal)

MATHEUS, M. T. G. , HETEM, S. Effects of dexamethasone sodium phosphate on intra-ocular graft of tooth germ development. *Rev. Odontol. UNESP*, v. 22, p 203-211, 1993.

- **ABSTRACT:** Lower first molar tooth germs of 14 days mouse foetuses were grafted to the anterior chamber of the eye. The animals were daily injected with 2 mg/kg body weight of dexamethasone sodium phosphate, during 12 days. It was not found any significant difference between the animals from the control and drug injected groups. Thus, based on the experimental conditions used here, it was concluded that the drug does not determine deleterious effects on the tooth germ development. It is presented a discussion about the characteristics of the anterior chamber of the eye as a local for organ transplantations and the reactions that they present when systemic drugs are administered.
- **KEYWORDS:** Tooth germ, transplantation; dexamethasone, pharmacology; intra-ocular graft.

Referências bibliográficas

1. ATKINSON, M. E. Histological and immunological aspects of tooth transplantation. *J. Oral Pathol.*, v. 7, p. 43-61, 1978.
2. COHN, S. A. Development of molar teeth in the albino mouse. *Am. J. Anat.*, v. 101, p. 295-319, 1957.
3. COLAO, E. J., CORDLE, O. E. Experimental tooth germ transplantation. *Dent. Stud. Mag.*, v. 38, p. 9-14, 1959.
4. FLEMING, H. S. Homologous and heterologous intra-ocular growth of transplanted tooth germs. *J. Dent. Res.*, v. 31, p. 166-88, 1952.
5. _____. Early influence of methylcholanthrene on transplanted tooth germs: a histopathogenics study. *J. Dent. Res.*, v. 31, p. 398-411, 1952.
6. _____. Effects of crystalline cortisone acetate on growth of intra-ocular transplants of tooth germs. *J. Dent. Res.*, v. 32, p. 101-9, 1953.
7. GOLDMAN, H. M., GOULD, B. S. Ocular tooth germ implant in the ascorbic acid-deficient guinea pig. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v. 19, p. 392-7, 1965.
8. GRUNEBERG, H. The development of some external features in mouse embryos. *J. Hered.*, v. 34, p. 89-92, 1943.
9. GURALNICK, W. C., SCHULMAN, L. B. Tooth transplantation. *Dent. Clin. N. Am.*, v. 15, p. 499-511, 1962.
10. HAY, M. F. The development *in vivo* and *in vitro* of the lower incisor and molars of the mouse. *Arch. Oral Biol.*, v. 3, p. 86-109, 1961.
11. HETEM, S. Influence of tetracycline on development of intra-ocular grafts of tooth germs. *Rev. Fac. Odontol. Araçatuba*, v. 4, p. 29-31, 1975.
12. KANNO, C. M., HETEM, S. Efeitos do imunomodulador SB-73 sobre o desenvolvimento de germes dentais em transplante intra-ocular. In: JORNADA ACADÊMICA DE ARAÇATUBA, 12., 1992. *Anais...* Araçatuba, Faculdade de Odontologia, 1992. p. 4.
13. KOLLAR, E. J. Histogenetic aspects of dermal-epidermal interactions. In: SLAVKIN, H. C., BAVETTA, L. A. (Ed.) *Developmental aspects of oral biology*. New York: Academic Press, 1972. p. 25-49.

14. KOLLAR, E. J., FISCHER, C. Tooth induction in chick epithelium: Expression of quiescent genes of enamel synthesis. *Science*, v. 207, p. 993-5, 1980.
15. MATHEUS, M. T. G., HETEM, S. Efeito da ciclofosfamida sobre o desenvolvimento de germes dentais de molares transplantados para a câmara anterior do olho de camundongos. *Rev. Odontol. UNESP*, v. 19, p. 51-61, 1990.
16. MORSE, A. Formic acid-sodium citrate decalcification and bytyl-alcohol dehydration of teeth and bone for sectioning in paraffin. *J. Dent. Res.*, v. 24, p. 143-53, 1945.
17. ROITT, T., BROSTOFF, J., MALE, D. K. *Immunology*. London: Gower Med. Publ., 1985. p. 24-6.
18. SAIKI, A. Effect of dexamethasone on growth of tooth germ. *Nippon Dent. Univ. Annual Publ.*, v. 181, p. 39-41, 1984.
19. SCHOUR, I., MASSLER, M. The teeth. In: FARRIS, E. J., GRIFFITH, J. O. *The rat in laboratory investigation*. 2. ed. Philadelphia: Lippincott, 1949. p. 104-65.
20. SIQUEIRA, E., MATHEUS, M. T. G., HETEM, S. Desenvolvimento intra-ocular de germes dentais irradiados. *Rev. Fac. Odontol. UNESP*, v. 10, p. 49-54, 1981.
21. THOMAS, H. F., KOLLAR, E. J. Epithelio-mesenchymal interactions in root development. *J. Dent. Res.*, v. 64, p. 274, 1984.
22. WARWICK, R., WILLIAMS, D. L. *Gray Anatomia*. 35. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979. p. 1036.
23. YOSHIKAWA, D. K., KOLLAR, E. J. Recombination experiments on the odontogenic roles of mouse dental papilla and dental sac tissues in ocular tissues. *Arch. Oral Biol.*, v. 26, p. 303-7, 1981.

Recebido em 25.2.1993.