ESTUDO HISTOMORFOLÓGICO DO PERIODONTO DE SUSTENTAÇÃO DE MOLARES DE RATO SUBMETIDOS À HIPOFUNÇÃO

Eleny Balducci ROSLINDO*
Jaqueline Braga BARBOSA**
Nelson Caldeira ROSLINDO*
Paulo Sérgio CERRI*
Sebastião HETEM***

- RESUMO: Com o objetivo de analisar, histologicamente, o periodonto de sustentação de molares de ratos submetidos à hipofunção, foram utilizados 30 ratos machos, divididos em dois grupos: controle e experimental. Os animais do grupo experimental tiveram os molares superiores direitos extraídos e, após 2, 8 e 16 dias, foram sacrificados juntamente com os animais do grupo controle, que não receberam tratamento. A hemimandíbula direita foi removida e fixada em Bouin. Após a tramitação laboratorial, os cortes obtidos foram corados pelo tricrômico de Mallory e pela hematoxilina e eosina, para estudo histológico. A análise dos resultados revelou a ocorrência de alterações no nível do osso alveolar, do ligamento periodontal e do cemento, donde concluiu-se que: 1. o periodonto de sustentação sofre atrofia por desuso; 2. as fibras do ligamento periodontal apresentam-se em quantidade e densidade reduzidas; 3 as fibras colágenas mostram-se desorganizadas e com ausência de alinhamento funcional; 4. o espaço periodontal encontra-se estreito e preenchido por uma faixa de tecido conjuntivo com densidade inferior à normal.
- PALAVRAS-CHAVE: Periodonto; molar; extração dentária.

Introdução

A atividade funcional normal dos dentes é importante para manutenção da integridade estrutural do ligamento periodontal e para manter as forças mecânicas

^{*} Departamento de Morfologia - Faculdade de Odontologia - UNESP - 14801-903 - Araraguara - SP.

 ^{**} Aluna – Iniciação Científica do Departamento de Morfologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903
 - Araraquara – SP.

^{***} Departamento de Morfologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903 – Araraquara – SP – Bolsista do CNPq – Processo n.301.761-O(RE).

dos tecidos de apoio. ⁹ As fibras colágenas estão dispostas sob a forma de feixes principais, tendo diferentes orientações em diferentes partes do ligamento. ^{1, 11}

As forças mecânicas exacerbadas que atuam causando sobrecarga oclusal iniciam uma cadeia de eventos nos tecidos periodontais. Embora as reações histológicas e fisiológicas dos tecidos periodontais sejam conhecidas, a natureza exata das forças mecânicas que atingem o periodonto com capacidade de produzir trauma oclusal tem sido difícil de ser avaliada. 9. 14

Quando a função oclusal está diminuída ou ausente, em decorrência da perda do dente antagonista ou se ocorrer perda da coroa clínica, em consequência de cárie, o periodonto entra em atrofia por desuso, junto com a extrusão e a mobilidade do dente 4,9

O periodonto de sustentação é formado por tecido conjuntivo mineralizado (cemento e osso alveolar) e por tecido fibroso (ligamento periodontal). Tem como função unir os dentes à maxila ou à mandíbula por meio das fibras colágenas do ligamento periodontal, que se inserem tanto no cemento quanto no osso alveolar. Age "também como um aparelho de suporte para os dentes em adaptação contínua durante sua atividade funcional.^{4, 5, 11}

A permanência do dente na cavidade bucal é fundamental para o posicionamento dos maxilares e para a integridade do periodonto; entretanto, a doença periodontal atinge aproximadamente 90% da população, podendo envolver o periodonto de proteção (gengiva) e o de sustentação; é responsável pela maioria das perdas dentárias após os 35 anos de idade. 4, 11

Os relatos na literatura indicam que os tecidos periodontais sofrem mudanças degenerativas quando são privados de suas funções. Em dentes humanos sem função, foi mostrado que as fibras principais do ligamento periodontal eram relativamente poucas em número e as fibras de Sharpey estavam ausentes.^{7, 10}

Estudos realizados em animais de laboratório demonstraram que a atrofia do ligamento periodontal ocorreu após algumas horas de perda de contato oclusal dos dentes analisados.^{2, 3, 8, 9, 13} Além disso, outros trabalhos, em ratos^{6, 8, 10} e em camundongos,³ mostraram que a hipofunção ocasiona extrusão e mobilidade dos dentes, bem como diminuição ou ausência das fibras de Sharpey.

O objetivo deste trabalho foi verificar, em cortes histológicos, as alterações provocadas no periodonto de sustentação dos molares inferiores de ratos, quando submetidos à hipofunção, em decorrência da extração dos antagonistas.

Material e método

Foram utilizados neste trabalho 30 ratos machos (*Rattus norvegicus*, *albinus*, Holtzman) com peso corporal médio de 200 gramas, procedentes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

Os animais foram divididos em dois grupos: controle e experimental. Os animais do grupo controle não receberam tratamento, enquanto os do grupo experimental

foram anestesiados com 50 mg/kg de peso de Thionembutal, administrado por via intraperitonial e tiveram os molares superiores direitos extraídos. Os animais do grupo experimental foram alimentados durante 24 horas com ração triturada. Após esse período receberam ração granulada e água à vontade.

Decorridos os períodos de 2, 8 e 16 dias, os animais, tanto do grupo experimental quanto do grupo controle, foram sacrificados por inalação excessiva de éter sulfúrico e removeu-se a hemimandíbula direita.

As peças obtidas foram fixadas em Bouin por 48 horas, descalcificadas, 12 aproximadamente, por 30 dias e incluídas em parafina, segundo rotina histológica. Pela microtomia, obtiveram-se cortes seriados com a espessura de 6 μm que foram corados por hematoxilina e eosina ou pelo tricrômico de Mallory.

Resultado

A análise histológica deste trabalho foi realizada em três regiões específicas: terços médio e apical das raízes e crista óssea inter-radicular dos molares inferiores direitos.

Grupo controle

Nos períodos analisados, as estruturas histológicas apresentaram aspectos semelhantes.

Terço médio (Figura 1A)

O ligamento periodontal apresentou-se formado por fibras colágenas arranjadas em feixes, dispostas num trajeto ondulado firmemente aderidas ao cemento e ao osso alveolar, por meio das fibras de Sharpey. Os fibroblastos com núcleos ovóides e volumosos constituíam a maioria das células presentes, além de outras células do tecido conjuntivo normal.

O cemento, recobrindo a dentina radicular, mostrava-se delgado, aumentando sua espessura em direção apical. Os cementoblastos eram vistos na periferia do cemento com núcleos ovóides, característicos de células em atividade.

O osso alveolar que revestia a parede interna do alvéolo era do tipo compacto, rodeado por osso esponjoso, cujas trabéculas estavam dispostas horizontalmente. Notavam-se muitos vasos sanguíneos e nervos.

Terço apical (Figura 1B)

O ligamento periodontal apresentava-se formado por feixes de fibras colágenas, projetando-se desde o cemento até o osso circundante. As células mais evidentes eram os fibroblastos com núcleos volumosos.

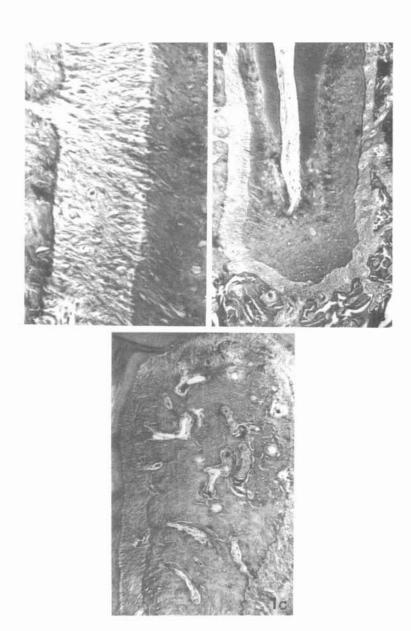


FIGURA 1A - Grupo controle - Terço médio - Estrutura do periodonto de sustentação normal, mostrando intensa atividade metabólica. Fibras de Sharpey. Tricrômico de Mallory, 100X.

FIGURA 1B - Grupo controle - Terço apical. Estruturação normal da região com intensa atividade de todos os elementos celulares. HE 63X.

FIGURA 1C – Grupo controle – Crista óssea inter-radicular – Trabéculas ósseas regulares e feixes de fibras colágenas definidos. Células em grande atividade. HE 63X.

O cemento desta região mostrava-se mais espesso que no terço médio, com células no seu interior alojadas em lacunas e cementoblastos na superfície externa em grande atividade.

O osso alveolar estava formado por numerosas trabéculas, dispostas em direção vertical, próximas umas das outras e espessas. Os osteoblastos, dispostos em fileira na superfície externa, mostravam núcleos ovóides e os osteócitos com forma arredondada estavam alojados no interior do osso.

Vasos sanguíneos de vários calibres e feixes nervosos nutrem e inervam essa região, respectivamente.

Crista óssea inter-radicular (Figura 1C)

Nessa região, as fibras colágenas do ligamento periodontal mostravam-se arranjadas em feixes definidos e distintos. Os feixes de fibras dirigiam-se do cemento para o osso da crista alveolar.

O osso dessa região apresentava as trabéculas regulares e arranjadas horizontalmente, próximas umas das outras, espessas e com muitas perfurações, por onde passam nervos e vasos sanguíneos.

Grupo experimental

Período de 2 dias

Terço médio (Figura 2A)

O ligamento periodontal mostrava uma discreta desorganização dos feixes de fibras colágenas e uma diminuição do espaço periodontal quando comparado com o grupo controle. Os fibroblastos, ainda que em grande número, apresentavam núcleos menos volumosos e mais alongados. Foram vistos também vários macrófagos.

No cemento, a atividade dos cementoblastos na periferia foi observada através da formação de novas camadas de tecido.

No osso alveolar, os osteoblastos estavam localizados em fileiras na superfície com núcleos arredondados e volumosos. No interior do osso, os osteócitos em lacunas mantinham a integridade do tecido ósseo.

Terço apical (Figura 2B)

As fibras do ligamento periodontal estavam delgadas e com perda de alinhamento funcional. Fibroblastos com núcleos alongados eram as células presentes em maior quantidade, além de alguns macrófagos.

O cemento mostrava grande atividade dos cementoblastos, através da aposição de novas camadas de tecido.

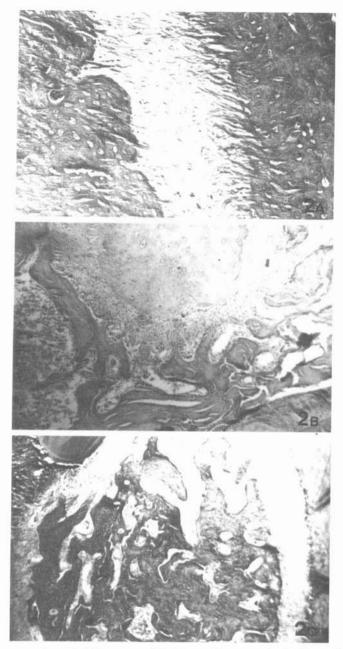


FIGURA 2A – Grupo experimental – 2 dias – terço médio. Discreta desorganização das fibras colágenas, fibroblastos com núcleos alongados e vários macrófagos – Osteoblastos e cementoblastos em atividade. Tricrômico de Mallory, 100X.

FIGURA 2B - Grupo experimental - 2 dias - Terço apical. Fibras colágenas delgadas e desorganizadas. Trabéculas ósseas invaginando espaço periodontal. Cementoblastos em atividade com aposição de novas camadas. HE 100X.
FIGURA 2C - Grupo experimental - 2 dias - crista óssea inter-radicular. Osso alveolar com espaços medulares aumentados e novas trabéculas ósseas imaturas. HE 63X.

No osso alveolar, observou-se a deposição de trabéculas invaginando o espaço periodontal, imaturas ainda, e grande atividade osteogênica.

Vasos sanguíneos e nervos de vários calibres estavam presentes nesta região.

Crista óssea inter-radicular (Figura 2C)

As fibras do ligamento apresentavam-se em número e com densidade reduzidos.

O osso alveolar mostrava trabéculas ósseas arranjadas horizontalmente, com espaços medulares aumentados e formação de novas trabéculas imaturas.

Período de 8 dias

Terço médio (Figura 3A)

Observadas as mesmas alterações do período anterior, mas com formas progressivas de desarranjo das fibras do ligamento e aposição de cemento e osso alveolar.

O espaço periodontal apresentava-se mais estreito com a aproximação das superfícies do cemento e do osso alveolar. Era intensa a atividade dos cementoblastos e osteoblastos.

Terço apical (Figura 3B)

A desorganização das fibras do ligamento era mais evidente nesse período. Elas mostravam-se mais delgadas, em menor quantidade e sem direcionamento funcional do cemento ao osso alveolar.

As atividades osteogênica e cementogênica estavam mais acentuadas com a formação de trabéculas ósseas alongadas, com graus de maturação variáveis no osso alveolar e discreta alteração na superfície do cemento, pela deposição irregular desse tecido.

Crista óssea inter-radicular (Figura 3C)

As fibras do ligamento mostravam-se em número e com densidade reduzidos e com perda de continuidade do osso alveolar ao cemento. O osso da crista estava mais delgado em relação ao controle, com maior quantidade e volume dos espaços medulares.

Período de 16 dias

Terco médio (Figura 4A)

O ligamento periodontal mostrava-se atrofiado, com as fibras colágenas bastante delgadas, pequenas, desarranjadas, pouco inseridas no osso alveolar e no cemento. O espaço periodontal bem estreito com aposições de osso e cemento. Os fibroblastos presentes possuíam núcleos achatados e eram em número reduzido.

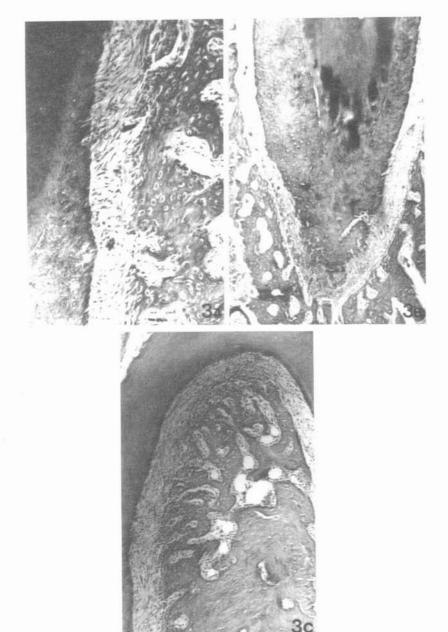


FIGURA 3A – Grupo experimental – 8 dias – terço médio. Desorganização mais acentuada dos feixes de fibras colágenas. Aposição de cemento e osso alveolar. Fibroblastos em menor número e vários macrófagos. Fibras de Sharpey. Tricrômico de Mallory, 100X.

FIGURA 3B - Grupo experimental - 8 días - terço apical. Fíbras colágenas desorganizadas e delgadas. Atividades osteogênica e cementogênica acentuadas e formação de novas trabéculas ósseas. HE 63X.

FIGURA 3C - Grupo experimental - 8 dias - Crista óssea inter-radicular. Fibras do ligamento em número e com densidade reduzidos. Maior quantidade e volume dos espaços medulares. HE 63X. No cemento, notava-se aposição de novas camadas de cementóide e a presença de poucas fibras de Sharpey.

No osso neoformado, observava-se perda de inserção ou ausência das fibras de Sharpey.

Atividades osteogênica e cementogênica eram intensas nesse período; as células mostravam núcleos volumosos e ovóides.

Terço apical (Figura 4B)

O ligamento periodontal apresentava-se com fibras atrofiadas, desarranjadas, limitando-se o espaço periodontal a uma estreita faixa de tecido conjuntivo entre o cemento e o osso alveolar. Raras fibras de Sharpey foram observadas nesse período.

Notou-se espessa camada de cemento, com cementócitos abrigados em lacunas e cementoblastos na superfície, contendo núcleos grandes e ovóides.

No osso alveolar, observaram-se várias camadas de osso neoformado em graus diferentes de maturidade, contendo osteócitos alojados em lacunas no seu interior. Osteoblastos em fileiras na superfície externa e alguns osteoclastos eram visíveis.

Crista óssea inter-radicular (Figura 4C)

O ligamento periodontal mostrou-se desarranjado com fibras delicadas, sem continuidade e raras inseridas no cemento e no osso alveolar.

O osso, nessa região, apresentava grande quantidade de espaços medulares, com tamanhos variáveis.

Discussão

Quando a função oclusal está diminuída ou ausente, em decorrência de perda do dente antagonista ou de perda da coroa clínica em conseqüência de cárie, o periodonto entra em atrofia por desuso, junto com a extrusão e a mobilidade do dente.^{4, 9} Essa atrofia é progressiva, levando a uma desorganização dos feixes principais de fibras e à perda quase total do periodonto.^{3, 9}

Em nosso trabalho realizado em ratos, dos quais foram extraídos os molares superiores direitos, observamos, nos períodos de 2, 8 e 16 dias após a exodontia, alterações histológicas progressivas no periodonto de sustentação dos molares inferiores direitos, decorrentes da perda de função.

Os resultados mostraram que as modificações mais marcantes foram a atrofia progressiva das fibras do ligamento periodontal, com a perda ou ausência de inserção no osso alveolar ou no cemento (fibras de Sharpey), com diminuição no número e na densidade dos feixes colágenos, além de sua desorganização. Cabe destaque à observação de que essas alterações ocorreram muito rapidamente, divergindo dos achados que relataram tais alterações após 300 dias pós-operatórios.³ A alteração progressiva das fibras do ligamento periodontal até a atrofia destas ocorreu semelhantemente nos três segmentos dentais por nós analisados.

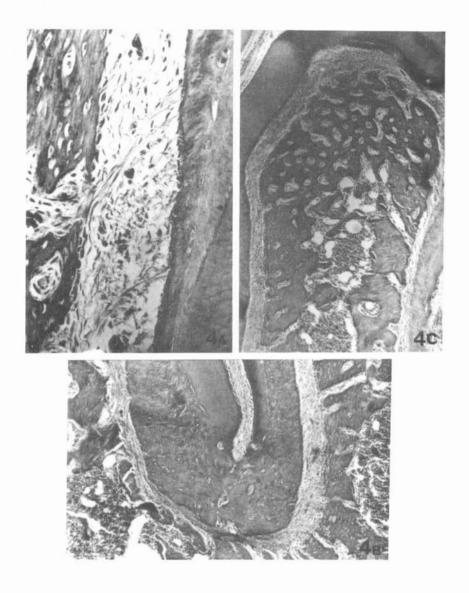


FIGURA 4A – Grupo experimental – 16 dias – Terço médio. Ligamento periodontal atrofiado, com fibras delgadas, pequenas e desarranjadas. Poucas fibras de Sharpey. Osteoblastos e cementoblastos com núcleos volumosos. Aposição de novas camadas de osso e de cemento. Tricrômico de Mallory, 100X.

FIGURA 4B - Grupo experimental - 16 dias - Terço apical. Feixes de fibras atrofiadas, desarranjadas. Raras fibras de Sharpey. Espessas camadas de cemento e de osso neoformadas. HE 63X.

FIGURA 4C - Grupo experimental - 16 dias - Crista óssea inter-radicular. Ligamento periodontal atrofiado, com fibras delicadas e raras inseridas no osso alveolar e no cemento. Numerosos espaços medulares com tamanhos variáveis. HE 63X.

Nossos resultados concordam tanto com os obtidos por Cohn, 3 quanto com os que afirmam serem essas as características histológicas mais evidentes em um periodonto hipofuncional. 2 , 6 , 8 , 9 , 10 , 13

A aposição de trabéculas ósseas em grau variável de maturação, ao longo do osso alveolar nos terços médio e apical, por nós observada em quantidade crescente, à medida que o período de observação era mais longo, foi interpretada como um fenômeno associado aos movimentos eruptivos acelerados, decorrentes do desimpedimento pela extração dos dentes antagonistas, mesmo considerando que há um aumento de remodelação do colágeno dos dentes sem antagonista. Além disso, as alterações localizadas, causadas pela extração dos dentes antagonistas, levam a uma acomodação que é inerente ao osso alveolar, a qual aparece como aposição óssea tendente a manter as relações anatômicas dos dentes e de sua estrutura de suporte.

O movimento oclusal dos molares e a aposição do osso básico são fenômenos associados, surgindo em razão da ausência dos dentes antagonistas. Assim, podemos inferir que, pela remoção dos dentes opostos, foi permitida a erupção contínua dos molares inferiores para além do plano oclusal, causando marcada recessão gengival e exposição radicular nos dentes sem função. Tais achados, entretanto, divergem dos relatados em estudos realizados em camundongos, nos quais, após longos períodos de observação de dentes sem antagonistas, não foram encontradas hiperplasia do cemento ou supra-erupção. Entretanto, houve uma intensa reabsorção do osso alveolar, remanescendo apenas traços do tecido periodontal na região interdental, em virtude da falta quase completa de estimulação dos tecidos periodontais pelo contato oclusal, pois a falta de função causa involução dos tecidos periodontais moles e atrofia do osso, conforme, aliás, já foi observado em humanos de em macacos. Se macacos dos desentes dos desentes dos desentes dos desentes dos desentes de em macacos. Se macacos de em mac

O aumento da espessura do cemento nos terços médio e apical por nós observado em dentes com hipofunção está de acordo, portanto, com os verificados em seres humanos e em animais de laboratório. ¹⁰, ¹³

Com a aproximação das superfícies dos tecidos mineralizados do periodonto de sustentação, graças à hiperplasia cementária, da mesma forma que o verificado em macacos, ¹³ e a aposição de lamelas ósseas no osso alveolar, o espaço periodontal tornou-se mais estreito, desorganizado e constituído apenas de uma faixa de tecido conjuntivo menos denso que o normal, o que concorda com a observação de que dentes sem função mostram uma membrana periodontal pobremente desenvolvida, constituída de tecido conjuntivo frouxo, quase sem feixes de fibras. ¹⁰ Esses resultados são concordantes com os que se observaram em macacos: o espaço periodontal sofria um estreitamento nos dentes com hipofunção, ¹³ e as fibras do ligamento tornavam-se desorganizadas e finas em camundongos.³

Conclusão

O estudo histológico do periodonto de sustentação dos molares de rato submetidos à hipofunção permitiu as seguintes conclusões:

- Quando a função oclusal está diminuída ou ausente por perda do dente antagonista, o periodonto sofre atrofia por desuso.
- O espaço periodontal encontra-se estreito e preenchido por uma faixa de tecido conjuntivo constituído por fibras que se apresentam em quantidade e densidade reduzidas.
- As fibras colágenas do ligamento periodontal mostraram-se desorganizadas e com ausência de alinhamento funcional.
- O osso alveolar e o cemento dental mostram-se espessados.
- As alterações verificadas são progressivas em relação aos períodos de observação e atingem todas as áreas analisadas dos segmentos dentais.
- ROSLINDO, E. B. et al. Histomorphologic study of the rat molar periodontium submited to hypofunction. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.24, n.2, p.221-233, 1995.
- ABSTRACT: In order to histologically analyse the molars periodontium submited to hypofunction 30 rats were used. The animals were divided in two groups: experimental and control. The animals of the experimental group have had the right upper molars extracted and after 2, 8 and 16 days they were killed together with the control animals whose did not receive any kind of treatment. The right hemi-mandible was removed and fixed in Bouin's fixative. After the histological routine technique, the slides were stained either with Mallory thricromic or hematoxylin and eosin methods. The results showed the occurrence of alterations at the alveolar bone, periodontal ligament and cementum. Based on the results obtained we conclude: 1. the periodontium presents a disuse atrophy; 2. the periodontal ligament fibers are present in a reduced amount and density; 3. the collagen fibers appear as disorganized and with absence of functional alignment; 4. the periodontal space was narrowed and filled with a less than normal dense connective tissue layer.
- KEYWORDS: Periodontium; molar; tooth extraction.

Referências bibliográficas

- 1 BERKOVITZ, B. K. B. The structure of the periodontal ligament: an update. *Eur. J. Orthod.*, v.12, p.51-76, 1990.
- 2 BURKLAND, G. A., HEELEY, J. D., IRVING, J. T. A histological study of regeneration of the completely disrupted periodontal ligament in the rat. Arch. Oral Biol., v.21, p.349-54, 1976.
- 3 COHN, S. A. Disuse atrophy of periodontium in mice. Arch. Oral Biol., v.10, p.909-19, 1965.
- 4 FAVA DE MORAES, F. et al. Histologia do periodonto. In: LASCALA, N. T., MOUSSALLI, N. H. *Periodontia clínica*: especialidades afins. São Paulo: Artes Médicas, 1980, p.23-35.
- 5 FREEMAN, E. Periodonto. In: TEN CATE, A. R. *Histologia bucal*: desenvolvimento, estrutura e função. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. p.209-34.
- 6 GLICKMAN, I. The effect of acute starvation upon the apposition of alveolar bone associated with the extraction of functional antagonists. *J. Dent. Res.*, v.24, p.155-60, 1945.

- 7 HENRY, J. L., WEINMANN, J. P. The pattern of resorption and repair of human cementum. J. Am. Dent. Assoc., v.42, p.270-90, 1951.
- 8 KANOZA, R. J. J. et al. A biochemical analysis of the effect of hypofunction on collagen metabolism in the rat molar periodontal ligament. *Arch. Oral Biol.*, v.25, p.663-8, 1980.
- 9 KINOSHITA, Y., TONOOKA, K., CHIBA, M. The effect of hypofunction on the mechanical properties of the periodontium in the rat mandibular first molar. *Arch. Oral Biol.*, v.27, p.881-5, 1982.
- 10 KRONFELD, R. Histologic study of the influence of function on the human periodontal membrane. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.18, p. 1242-74, 1931.
- 11 MELCHER, A. H. Ligamento periodontal. In: BHASKAR, S. N. Histologia e embriologia oral de Orban. 8.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1978. p.209-37.
- 12 MORSE, A. Formic acid-sodium citrate decalcification and butyl alcohol dehydration of teeth and bones for sectioning in paraffin. *J. Dent. Res.*, v.24, p.143-53, 1945.
- 13 PIHLSTROM, B. L., RAMFJORD, S. P. Periodontal effect of nonfunction in monkeys. *J. Periodontol.*, v.42, p.748-56, 1971.
- 14 REINHARDT, R. A., PAO, Y. C., KREJCI, R. F. Periodontal ligament stresses in the initiation of occlusal traumatism. *J. Periodontol. Res.*, v.19, p.238-46, 1984.

Recebido em 10.6.1994.