

WALTER DARUGE, C. D.

**DA OCORRÊNCIA DE MUCOPOLISSACARÍDEOS  
ÁCIDOS EM TECIDO PULPAR DE DENTES HUMANOS  
ÍNTEGROS E CARIADOS E SUA RELAÇÃO COM O  
PROCESSO DE FIBROSAMENTO**

Tese apresentada à Faculdade de Farmácia  
e Odontologia de Piracicaba, para obtenção  
do título de Doutor em Ciências (Patologia).

**PIRACICABA  
1964**



Faculdade de  
Farmácia e Odontologia  
Piracicaba  
com meus  
emprestamentos

*[Signature]*  
10/4/64

Tese apresentada à Faculdade de  
Farmácia e Odontologia de Piracicaba,  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências (Patologia).

Piracicaba

1964



WALTER DARUGE, C.D.



1150052290



FOP

T/FFO D257d

Da ocorrência de mucopolissacarídeos  
ácidos em tecido pulpar de dentes humanos  
íntegros e cariados e sua relação com o  
processo de fibrosamento.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE FARMÁCIA E ODONTOLOGIA  
DE PIRACICABA

BIBLIOTECA

777

Tese apresentada à Faculdade de  
Farmácia e Odontologia de Piracicaba,  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências ( Patologia ).

Piracicaba

1964



N.º Classif.

T/FFO

N.º aster

D 257 d

v.

BC. 16. 124/03

Tembo

bc/52290

CM00185854-6

bibid 293777



## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique Robertson Liberralli, Diretor da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Piracicaba, por nos proporcionar recursos e incentivos para a elaboração desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Guilherme Simões Gomes, Catedrático do Departamento de Dentística Operatória da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto, que gentilmente nos apoiou com seu estímulo e segura orientação.

Ao Prof. Dr. Lucien Lison, Catedrático do Departamento de Morfologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, U.S.P., de quem recebemos proveitosos ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Victório Valeri, Livre Docente da Cadeira de Morfologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, U.S.P., pela assídua assistência na elaboração desta pesquisa.

Ao Prof. Benedicto de Campos Vidal, Professor Contratado do Departamento de Patologia da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Piracicaba, por nos haver distinguido e assistido com entusiasmo e dedicação.

A todos, que direta ou indiretamente nos auxiliaram na consecução dêste trabalho, apresentamos nosso reconhecimento.



## HOMENAGEM PÓSTUMA

À memória de Calil Daruge, meu pai,  
que com exemplo e abnegação, me le-  
gou a persistência e o desejo de vencer.



## I - INTRODUÇÃO

### 1.1. - REVISTA DA BIBLIOGRAFIA

Entre 1948-1950, Wislocki et alii (61-62) Sogn  
naes e Wislocki (51), demonstraram a presença de mucopolissacarídeo ácido (M.P.A.) nas estruturas dentais normais assim como as suas variações ante o processo de cárie.

Em 1953, Todescan e Sasso (56) evidenciaram a presença de M.P.A. e da fosfatase alcalina na polpa de dentes de camundongos em desenvolvimento, assinalando que a medida que aumenta a fosfatase alcalina, diminuem os mucopolissacarídeos ácidos.

Em 1956, Johnson e Bevelander (20) por métodos histoquímicos detectaram na polpa dental humana, os polissacarídeos ácidos que se concentravam nos nódulos e nas calcificações difusas.

Em 1958, Fulmer e Alpher (13) observaram que a amelogênese no desenvolvimento do dente, ocorria após a formação de M.P.A. na dentina e na junção amelodentária, assim como na papila dental, desaparecendo progressivamente durante o desenvolvimento do órgão dental.

Em 1959, Lucif (17) identificou em polpas dentais de boi, o M.P.A. e outras substâncias, tais como: glicogênio, fosfatase alcalina, cálcio e lipídeos. Neste mesmo ano, Shroff (48) estudando o que denominou "o poder de cura da polpa dental" citou a necessidade de M.P.A. e ênzimos específicos para o início da calci



ficação.

Em 1960, Cabrine (8) publicou um estudo histoquímico destacando a importância de M.P.A., glicogênio e fosfatase alcalina no mecanismo da cura do tecido pulpar.

Nesse mesmo ano (1960) Vidal (57), apresentou o trabalho "Histoquímica das lesões pulpares" que nos sugeriu a continuação da pesquisa de M.P.A. no tecido pulpar.

Em 1961, Vidal (58) comprovou a diminuição da celularidade do tecido pulpar em função do fibrosamento. Este autor chamou a atenção à concentração de M.P.A., que aumentava nas regiões de fibrosamento e de calcificação, assim como nas regiões de fibrosamento que circundavam as necroses e abscessos pulpares. Ainda em 1961, Quintarelli (45) estudando a distribuição de M.P.A. e glicoproteínas no gérmen dental verificou a presença de M.P.A. na papila dental e na dentina do rato recém-nascido.

Snyder e Kaufman (49) no mesmo ano de 1961, estudando histoquimicamente processos inflamatórios ocorridos na polpa, concluíram que os mucopolissacarídeos mais importantes, presentes nesse tecido, são os condroitine e mucoitine-sulfatos, assim como o ácido hialurônico.

Em 1962, Vidal (60) estudando as calcificações pulpares, concluiu pela predominância de M.P.A. em regiões onde foram observadas essas calcificações.

Baseados nos princípios encontrados nesse trabalho é que fomos pesquisar no fibrosamento pulpar



a presença e variação do condroitinsulfúrico.

Em 1962, Applebaum (1) detectou por meio de azul de toluidina e pelo P.A.S. a presença do M.P.A. nas polpas dentais de leão.

Os trabalhos abaixo relacionados encontrados durante a pesquisa bibliográfica tiveram o mérito de aumentar o nosso interesse relativo ao fibrosamento do tecido pulpar assim como a sua relação com o M.P.A. Hill (16) em 1934, Thomas (55) em 1946, Kronfeld e Boyle (22) em 1955, Soeda (50) em 1959, Vidal (57-58) em 1960 e finalmente Stanley em 1961 (52) e Stanley e Ranney em 1962 (54).

Finalmente destacamos os trabalhos de Asboe-Hansen (2), de Kaplan e Meyer (21), de Clausen (9-10), Buddecke (6) e de Zugibe (63-64), que evidenciaram os M.P.A., principalmente o condroitine-sulfato, em tecido conjuntivo de vasos normais e patológicos, correlacionando-o com a idade dos pacientes.

## 1.2. - FINALIDADES DO TRABALHO

Na presente pesquisa nos propusemos:

a) Estudar o fibrosamento do tecido pulpar, relacionando-o com a idade e com a presença de cáries de diferentes profundidades.

b) Verificar as variações de M.P.A. existentes no tecido pulpar normal e no patológico, em diferentes grupos etários.

oooOooo



## II - MATERIAL E TÉCNICAS

### 2.1. - MATERIAL

O material utilizado no presente trabalho foi obtido de pacientes do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Piracicaba, nos anos letivos de 1961-1962.

Foram colhidos 126 dentes, dos quais foram utilizadas 86 polpas.

As 86 polpas foram classificadas da seguinte maneira.

a) em função do tipo anatômico do dente.

22 polpas de incisivos.

37 polpas de caninos.

27 polpas de pré-molares.

b) em função da idade segundo tabela 1

18 polpas de dentes do grupo I 1.

49 polpas de dentes do grupo I 2.

19 polpas de dentes do grupo I 3.

TABELA 1

GRUPOS DE IDADE				
I 1	-	11	—————	26 anos
I 2	-	26	—————	41 anos
I 3	-	41	—————	56 anos



c) em função do estado clínico das estruturas dentárias.

18 polpas de dentes íntegros.

29 polpas de dentes com cárie superficial.

15 polpas de dentes com cárie média.

24 polpas de dentes com cárie profunda.

Antes da coleta deste material, os pacientes receberam número de inscrição variável de 1 a 126.

Adotou-se o critério semiológico, sugerido por Grossman (14) que permitiu selecionar os dentes que constituíram o material no qual utilizamos as investigações propostas no presente estudo.

## 2.2. - TÉCNICAS

### 2.2.1. - Técnicas da coleta e preparação do material.

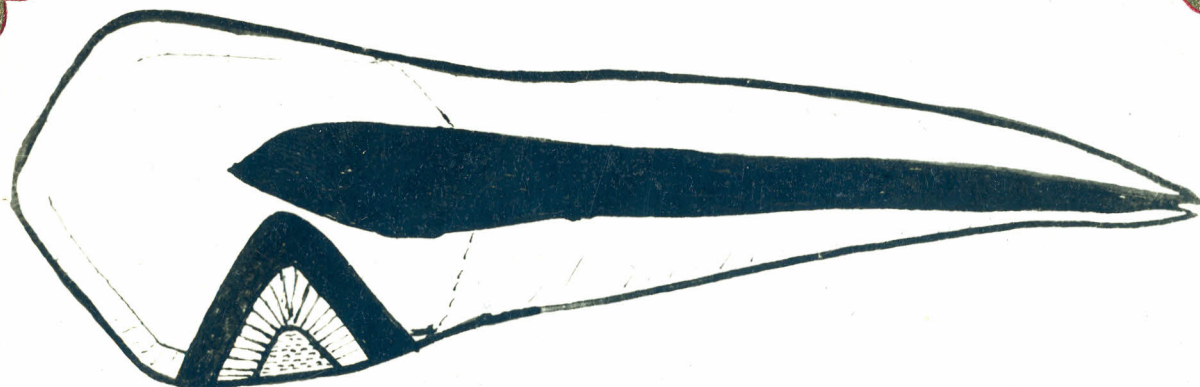
Obtido o diagnóstico clínico e o resultado radiográfico, os dentes foram extraídos.

Após a extração dos dentes tomaram-se novas radiografias para comprovação da profundidade das cáries; idêntica prática foi seguida com os dentes isentos de cáries.

A técnica empregada para tomada dessas radiografias obedeceu a um plano, que evidenciasse e favorecesse a interpretação da profundidade e extensão do processo carioso, esquematizado na figura 1.

Classificamos os dentes segundo Prophete Miller(44), James et alii(19) e Bradford(4) em: a) dentes íntegros, b) dentes com cáries superficiais, c) dentes com





## ESQUEMATIZAÇÃO DA PROFUNDIDADE DAS CÁRIES

- ▲ = Região de cárie profunda,
- ▨ = Região de cárie média.
- ▩ = Região de cárie superficial.

Figura 1



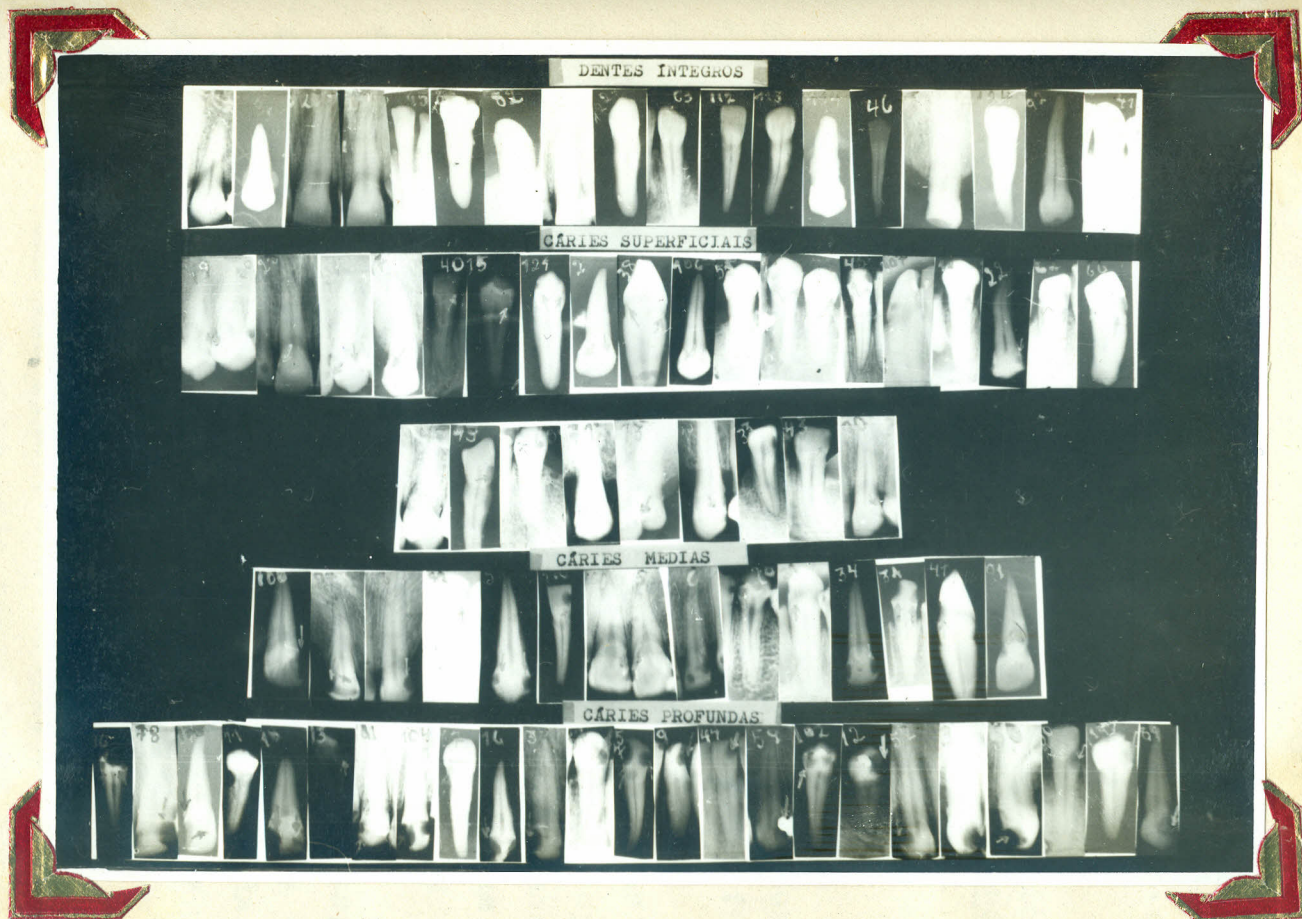


Figura 2

- A- Dentes íntegros
- B- Dentes com cáries superficiais
- C- Dentes com cáries médias
- D- Dentes com cáries profundas



cáries médias e d) dentes com cáries profundas.

Na figura 2, estão agrupadas após a sua classificação, as radiografias do material empregado no presente trabalho.

Posteriormente, removeu-se o têrço apicilar-dos dentes, como fêz Stanley (53), seguindo-se a fixação do material em líquido de Zenker (38).

### 2.2.2. - Técnica da fixação do material, inclusão, cortes e preparações para colorações.

#### 2.2.2.1. - Fixação do material

Estando o tecido pulpar alojado na cavidade dental (Cavum Dentis) que é envolta por tecidos que dificultam a penetração dos fixadores usuais, foi necessário fixarmos êste material em duas etapas:

1ª etapa - Para possibilitar a penetração do fixador nas estruturas pulpares, os têrços apiculares foram removidos e desprezados (53). Logo após os dentes foram colocados no fixador e permaneceram uma hora no vácuo donde foram retirados e deixados em pressão ambiente por mais duas horas.

2ª etapa - No início da segunda etapa os dentes foram bipartidos com aparelho semelhante ao de Engström e Ohman (12), o tecido foi removido da cavidade pulpar e fixado em pressão ambiente por mais três horas, o que perfez um total de seis horas de fixação, tempo indicado por McManus e Mowry (38).

Uma vez fixado o material, as peças foram lavadas em água corrente pelo tempo de 12 horas ou então conservadas em álcool a 70% até o momento da inclusão,



segundo sugestões de McManus e Mowry (38).

2.2.2.2. - Inclusão, cortes e preparações para colorações.

2.2.2.2.1- Inclusão em parafina.

2.2.2.2.2.-Cortes de 5 microns de espessura obedecendo a um plano de orientação passando pelo eixo longitudinal e pelo maior diâmetro do tecido pulpar.

2.2.2.2.3.-Desparafinização e hidratação.

2.2.2.2.4.-Antes da coloração os cortes receberam tratamento para remoção do cloreto de mercúrio (HgCl), segundo McManus e Mowry (38).

2.2.2.2.5.-O material foi corado pelas seguintes técnicas: tricrômico de Masson (23), hematoxilina fosfotúngstica ácida de Mallory (H.F.A.M.) (27), azul de toluidina pH 4,1 (33-40), azul de toluidina pH 7,1 e 2,5 (30-39-47), Azur I pH 2,0 - pH 2,5 - pH 3,0 - .. pH 3,5 - pH 4,1 (33), pelo Azur I pH 4,1, após metilação e saponificação, segundo Lillie, in Lison (31), e finalmente pelo azul de Alcian (26).

2.2.3.-Técnicas para colorações histológicas comuns.

Procedeu-se a duas colorações padrão: tricrômico de Masson, segundo Langeron (23), e hematoxilina fosfotúngstica ácida de Mallory (H.F.A.M.), segundo Lillie (27).

2.2.4.- Técnicas histoquímicas para evidenciar o M.P.A.

Com a finalidade de detectar a presença de Mucopolissacarídeos Ácidos (M.P.A.) no tecido pulpar,



foram feitas as seguintes colorações:

#### 2.2.4.1.- Metacromasia pelo azul de toluidina

Azul de toluidina, solução a 0,05% tamponada com tampão fosfato M/50 para pH 4,1 de McVaine, indicado por Lillie (28), segundo técnica de Lison (33), McManus e Mowry (40).

A metacromasia pelo azul de toluidina foi também estudada após os cortes serem sucessivamente colocados em solução de corante tamponada para pH 7,1, e .. 2,5, segundo Lison (30), McManus e Mowry (39) e Sasso, (47).

Os cortes corados pelo azul de toluidina foram tratados por uma solução constituída de partes iguais de ferrocianeto de potássio a 1% e molibdato de amônio a 4%, afim de conservar a metacromasia, segundo técnica de McGlun (37).

#### 2.2.4.2.- Basofilia: Azur I, segundo Dempsey et alii in Lillie (25) com solução a 0,05% tamponada em McVaine M/50 para pH 2,0 - 2,5 - 3,0 - 3,5 - 4,1.

Técnica do bloqueio químico segundo Lillie.. (25) e Lison (31-33):

#### 2.2.4.2.1.- Metilação para esterificação dos grupos carboxílicos e dissulfatação dos sulfatos.

#### 2.2.4.2.2.- Metilação seguida de saponificação para constatar a presença dos grupos carboxílicos.

Os cortes corados por esta técnica foram igualmente tratados pela solução de ferrocianeto de potássio a 1% e molibdato de amônio a 4%, segundo McGlun (37).



2.2.4.3.-Azul de Alcian (8GS) solução a 1%, pH 2,2 segundo Steedman, in Lillie (26) e conforme princípios fundamentais citados por Lison (32-33).

2.2.5. - Técnicas físicas (Birrefringência).

A técnica física que utilizamos foi a da verificação de birrefringência, com auxílio do microscópio de polarização.

Sabe-se, após os trabalhos de Vidal (59), e Jackson (18), que a fibra de colágeno apresenta birrefringência. Esta propriedade favoreceu-nos o estudo do fibrosamento do tecido pulpar, efetuado também por técnicas histológicas já mencionadas.

2.2.6. - Classificação do fibrosamento.

O conteúdo de colágeno (índice de fibrosamento) foi avaliado em tecido corado pelo tricrômico de Masson, segundo Stanley (52), Stanley e Ranney (54) e também pelo estudo da birrefringência observada em material corado pelo H.F.A.M.

Para cada técnica de coloração empregada, a classificação do fibrosamento foi efetuada segundo a escala de valores representada na tabela II.

TABELA II

LEGENDA	VALORES	SIGNIFICADO
A	(1) ou (+)	Mínimo
B	(2) ou (++)	Fraco
C	(3) ou (+++)	Forte
D	(4) ou (++++)	Máximo



Efetuamos um estudo topográfico do fibrosamento e das várias reações histoquímicas empregadas, levando em conta os grupos etários. Estudamos as seguintes regiões de tecido pulpar, tanto em dentes íntegros como em dentes cariados.

- a) camada odontoblástica.
- b) em tórno das fibras de colágeno.
- c) região perivascular.
- d) substância fundamental.
- e) calcificações pulpares.
- f) região de infiltrado inflamatório

Com a finalidade de avaliar as variações de M.P.A. no tecido pulpar, a mesma escala de valores utilizada no estudo do fibrosamento foi empregada nas técnicas histoquímicas. (tabela II).

A birrefringência foi estudada também nos cortes corados pelo azul de toluidina em solução de pH .. 4,1.

Executamos um estudo comparativo da frequência da calcificação nos tecidos pulpares de dentes íntegros e cariados levando em conta os grupos etários.

#### 2.2.7.- Determinação da frequência do infiltrado inflamatório do tecido pulpar de dentes cariados.

Determinou-se a frequência do infiltrado inflamatório de tecido pulpar, levando-se em conta o grupo etário e a profundidade de cárie do dente examinado.



### 3 - RESULTADOS

Os índices de fibrosamento e os resultados obtidos com as várias técnicas empregadas no estudo do tecido pulpar de dentes íntegros e cariados, estão re-presentados nas tabelas nºs. III, IV, V e VI e quadros X e XI.



TABELA III

TÉCNICAS EMPREGADAS NO ESTUDO DO TECIDO PULPAR DE DENTES ÍNTEGROS

				FIBROSAMENTO PULPAR			TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS									CALCIFI- CAÇÃO			
				BASOFILIA - AZUR I - pH 2,0 - 4,1															
GRUPOS DE IDADES	NÚMERO DE POLPAS	INSCRIÇÃO PACIENTE	TIPO DE DENTE	Técnica Histol. Tricrômico Masson	Técnica Física Birrefring.	Metacromasia pH 4,1 Birref.	pH 2,0 Ort.(+) Met.(-)	pH 2,5 Ort.(+) Met.(-)	pH 3,0 Ort.(+) Met.(±)	pH 3,5 Ort.(-) Met.(+)	pH 4,1 Ort.(=) Met.(++)	Metila- ção pH 4,1 Ort.(-) Met.(-)	Saponifi- cação pH 4,1 Ort.(+) Met.(+)	AZUL ALCIAN					
I 1	1	87	P	B	A	A	C	C	C	C	C	-	C	C	A				
	2	88	P	A	A	A	C	A	C	C	C	-	C	B	B				
	3	23	I	B	C	C	B	C	C	C	C	-	C	A	A				
	4	24	I	C Média	D Média	D Média	C Média	B Média	B Média	C Média	C Média	-	C Média	A Média	B Média				
	5	95	I	A 2,00	C 2,50	C 2,50	C 2,875	C 2,50	C 3,00	C 2,00	C 3,00	-	C 3,00	C 2,125	A 1,375				
	6	84	P	A	B	B	C	C	C	C	C	-	C	C	A				
	7	82	C	B	C	C	C	C	C	C	C	-	C	C	A				
	8	33	C	D	C	C	C	B	C	C	C	-	C	A	B				
TO- TAL	8	POLPAS		16	20	20	23	20	24	24	24	-	24	17	11				
I 2	1	122	C	B	B	B	A	C	C	B	B	-	B	C	A				
	2	63	C	D Média	D Média	D Média	B Média	B Média	C Média	C Média	C Média	-	C Média	A Média	C Média				
	3	112	I	C 3,30	D 3,00	D 3,00	B 1,60	B 2,00	B 2,00	A 1,80	C 2,20	-	C 2,20	C 2,20	C 2,20				
	4	113	C	D	C	C	A	B	A	A	A	-	A	B	C				
	5	114	P	C	B	B	B	A	A	B	B	-	B	B	A				
TO- TAL	5	POLPAS		16	15	15	8	10	10	9	11	-	11	11	11				
I 3	1	46	I	D	D	D	C	C	C	C	C	-	C	A	A				
	2	7	C	B Média	B Média	B Média	B Média	B Média	C Média	C Média	C Média	-	C Média	A Média	C Média				
	3	124	C	D 3,40	D 3,40	D 3,40	B 1,80	A 1,60	B 2,20	B 2,40	B 2,20	-	B 2,20	B 1,60	D 3,00				
	4	92	C	C	C	C	A	A	B	B	B	-	B	C	C				
	5	41	C	D	D	D	A	A	A	B	A	-	A	A	D				
TO- TAL	5	POLPAS		17	17	17	9	8	11	12	11	-	11	8	15				
TO- tal	18	POLPAS		52	52	52	40	38	45	45	46	-	46	36					

LEGENDAS

DENTE	AFINIDADE DO TECIDO AO CORANTE EM CADA pH.	TÉCNICA HISTOQUÍMICA
I - Incisivos	- = ausência	Ort. = Basofilia ortocromática
C - Caninos	+ = média	Met. = Basofilia metacromática
P - Pré-molares	± = mínima	
	++ = máxima	



ÍNDICES DE FIBROSAMENTOS E RESULTADOS OBTIDOS COM AS VÁRIAS  
TÉCNICAS EMPREGADAS NO TECIDO PULPAR DE DENTES ATACADOS POR CÁRIE SUPERFICIAL

TABELA IV

TABELA IV					FIBROSAMENTO PULPAR			TÉCNICA HISTOQUÍMICA								INFILTRADO	CALCIFICAÇÕES
					BASOFILIA - AZUR 1 - pH 2,0 - 4,1												
GRUPOS DE IDADES	NÚMERO DE POLPAS	INSCRIÇÃO PACIENTE	TIPO DE DENTE	TOPOGRAFIA DA CÁRIE	TÉCNICA HISTOLÓGICA TRICRÔMICO DE MASSON	TÉCNICA FÍSICA Birrefringência, H.F.A.M.	METACROMASIA pH 4,1 Birref.	pH 2,0	pH 2,5	pH 3,0	pH 3,5	pH 4,0	pH 4,1		AZUL DE ALCIAN		
								Ort.(±) Met.(-)	Ort.(+) Met((-)	Ort.(-) Met.(+)	Ort.(-) Met.(+)	Ort(-) (Met.(++)	MetilgãopH 4,1	Saponif. Met.(+) Ort.(+)			
I 1	1	79	P	Co.	A	A	A	C	B	B	B	C	-	C	C	Lp	A
	2	80	P	Cp.	A Média	A Média	A Média	C Média	C Média	C Média	C Média	C Média	-	C Média	C Média	-	B Média
	3	25	I	Cp.	D 2,00	D 2,00	D 2,00	C 2,75	B 2,25	C 2,75	C 2,50	C 2,75	-	C 2,75	C 2,25	-	C 2,00
	4	54	P	Cp.	B	B	B	B	B	C	B	B	-	B	B	-	B
Total 4 Polpas					8	8	8	11	9	11	10	11	-	11	9	-	8
I 2	1	17	C	Cp.	B	C	C	A	B	B	B	B	-	B	B	Lp	B
	2	40	I	Cp.	D	C	C	A	B	B	B	B	-	B	B	Lp	A
	3	15	P	Cp.	C	C	C	A	A	A	A	A	-	A	A	-	B
	4	121	C	Cp.	B	B	B	A	A	A	A	B	-	B	C	-	A
	5	2	C	Cp.	D	D	D	A	A	B	B	C	-	C	B	-	B
	6	38	C	Cl.	D Média	D Média	D Média	A Média	B Média	B Média	B Média	B Média	-	B Média	B Média	Lp	D Média
	7	106	P	Cp.	B 2,75	B 2,80	B 2,80	B 1,562	B 2,00	A 1,875	A 2,00	B 2,312	-	B 2,312	B 2,187	Lp	C 2,123
	8	55	P	Cp.	B	B	B	C	C	C	C	C	-	C	C	-	A
	9	76	P	Cp.	B	B	B	B	B	B	C	C	-	C	C	-	B
	10	77	P	Cp.	C	B	B	B	C	B	C	C	-	C	C	-	A
	11	45	I	Cp.	C	D	D	A	B	B	C	C	-	C	B	-	D
	12	107	C	Cp.	D	D	D	B	B	A	A	B	-	B	C	-	C
	13	14	P	Cp.	B	B	B	B	B	B	B	B	-	B	A	-	C
	14	22	P	Cp.	C	C	C	B	B	B	B	B	-	B	A	-	C
	15	62	C	Cl.	C	C	C	A	B	B	B	B	-	B	B	-	C
	16	66	P	Cl.	A	A	A	B	C	C	B	C	-	C	C	Lp	A
Total 16 Polpas					44	45	45	25	32	30	32	37	-	37	35	-	34
I 3	1	48	P	Cp.	B	A	A	A	B	A	A	B	-	B	B	-	B
	2	93	C	Cl.	D	D	D	C	C	B	B	C	-	C	C	Lp.	D
	3	60	P	Co.	D	D	D	C	C	C	B	A	-	A	C	-	A
	4	71	C	Cp.	D	D	D	C	B	B	B	C	-	C	C	-	C
	5	73	P	Cp.	D Média	D Média	D Média	B Média	B Média	B Média	B Média	B Média	-	B Média	B Média	-	D Média
	6	19	C	Cp.	B 3,46	C 3,47	C 3,47	A 2,111	A 2,00	B 1,888	A 1,444	A 2,111	-	A 2,111	A 1,777	Lp.	A 2,555
	7	33	C	Cp.	D	D	D	A	B	B	A	A	-	A	A	Lp.	C
	8	43	C	Cp.	D	D	D	B	B	A	A	C	-	C	B	-	D
	9	90	I	Cp.	C	C	C	C	A	A	A	C	-	C	A	Lp.	A
Total 9 Polpas					31	31	31	19	18	16	13	19	-	19	16	-	23
Total Geral 29 Polpas					84			55	59	57	55	67	-	67	60	-	

L E G E N D A

Topografia da Cárie      Infiltrado  
Co= Cárie Oclusal      Lp= Linfoplasmocitário  
Cp= Cárie Proximal      N = Neutrófilos.  
Cl= Cárie Cervical



ÍNDICE DE FIBROSAMENTO E RESULTADOS ÓPTICOS COM AS VÁRIAS TÉCNICAS  
EMPREGADAS NO TECIDO PULPAR DE DENTES ATACADOS POR CÁRIE MÉDIA

TABELA V

TABELA V					FIBROSAMENTO PULPAR			TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS										INFILTRADO	CALCIFICAÇÕES
GRUPOS DE IDADES	NÚMERO DE POLPAS	INSCRIÇÃO PACIENTE	TIPO DE DENTE	TOPOGRAFIA DA CÁRIE	TÉCNICA HISTOLÓGICA - TRICRÔMICO DE MASSON	TÉCNICA FÍSICA - Birref. H.F.A.M.	METACROMASIA - pH 4,1 - Birrefr. ngênica	BASOFILIA - AZUR I - pH 2,0 - 4,1								AZUL DE ALCIAN - pH 2,2			
								pH 2,0	pH 2,50	pH 3,0	pH 3,5	pH 4,1	pH 4,1						
													Ort.(+) Met.(-)	Ort.(+) Met.(-)	Ort.(+) Met.(+)		Ort.(-) Met.(-)		
I 1	1	100	I	Cp.	C	C	C	B	C	B	C	C	C	-	C	C	Lp	A	
	2	27	C	Cl.	D	D	D	A	B	B	A	B	B	-	B	A	-	B	
	3	28	C	cp.	D Média 3,00	D Média 3,00	D Média 3,00	B Média 2,00	B Média 2,50	C Média 2,25	C Média 2,50	C Média 2,50	C Média 2,50	-	C Média 2,50	B Média 2,25	-	B Média 2,00	
	4	81	C	Cp.	A	A	A	C	C	B	C	B	B	-	B	C	Lp	C	
Total	4	Polpas			12	12	12	8	10	9	10	10	-	10	9	-	8		
I 2	1	58	C	Cp.	D	D	D	C	B	B	B	B	B	-	B	A	-	D	
	2	110	I	Cp.	C	C	C	B	A	B	B	A	A	-	A	C	-	A	
	3	4	I	Cp.	A	A	A	B	B	C	C	C	C	-	C	B	-	B	
	4	5	I	Cp.	B	B	B	B	B	C	C	C	C	-	C	B	-	B	
	5	6	I	Cl.	C Média 3,00	C Média 3,00	C Média 3,00	B Média 2,00	C Média 2,00	C Média 2,222	C Média 2,222	C Média 2,111	C Média 2,111	-	C Média 2,111	B Média 1,888	Lp	B Média 2,222	
	6	20	P	Cl.	B	B	B	A	A	A	A	A	A	-	A	A	Lp	A	
	7	21	C	Cl.	D	D	D	B	A	A	A	A	A	-	A	A	Lp	B	
	8	34	C	Cp.	D	D	D	B	C	B	B	B	B	-	B	C	-	C	
	9	31	C	Cp.	D	D	D	B	C	C	C	C	C	-	C	B	-	C	
Total	9	Polpas			27	27	27	18	18	20	20	19	-	19	17	-	20		
I 3	1	47	C	Cl.	D Média	D Média	D Média	B Média	C Média	C Média	C Média	C Média	-	C Média	B Média	Lp	B Média		
	2	91	I	Cp.	D 4,00	D 4,00	D 4,00	C 2,50	B 2,50	B 2,50	C 3,00	C 3,00	-	C 3,00	C 2,50	Lp	D 3,00		
Total	2	Polpas			8	8	8	5	5	5	6	6	-	6	5	-	6		
Total Geral	15	Polpas			47	47	47	31	33	34	36	35	-	35	31	-	34		



ÍNDICE DE FIBROSAMENTO E RESULTADOS OBTIDOS COM AS VÁRIAS  
TÉCNICAS EMPREGADAS NO TECIDO PULPAR DE DENTES ATACADOS POR CÁRIE PROFUNDA

TABELA VI

TABELA VI					FIBROSAMENTO PULPAR			TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS								INFILTRADO	CALCIFICAÇÃO
GRUPOS DE IDADES	NÚMERO DE POLPAS	INSCRIÇÃO PACIENTE	TIPO DE DENTE	TOPOGRAFIA DA CÁRIE	TÉCNICA HISTOLÓGICA TRICRÔMICO DE MASSON	TÉCNICA FÍSICA Birref. H.F.A.M.	METACROMASIA pH 4,1 Birrefringência	BASOFILIA AZUR -I - pH 2,0 - 4,1									
								pH 2,0	pH 2,5	pH 3,0	pH 3,5	pH 4,1	pH 4,1		AZUL DE ALCIAN		
								Ort.(±) Met.(-)	Ort.(+) Met.(-)	Ort.(+) Met.(±)	Ort.(-) Met.(+)	Ort.(-) Met.(++)	Metila- lação Ort.(-) Met.(-)	Saponi- ficação Ort.(+) Met.(+)			
I 1	1	36	P	Cp.	C Média	B Média	B Média	B Média	B Média	C Média	C Média	A Média	=	A Média	B Média	=	A Média
	2	78	I	Cl.	D 3,50	C 2,50	C 2,50	C 2,50	C 2,50	C 3,00	C 3,00	C 2,00	=	C 2,00	C 2,50	N	D 2,50
To- tal	2	Polpas			7	5	5	5	5	6	6	4	-	4	5	-	5
I 2	1	120	I	Cp.	D	D	D	C	C	C	C	C	=	C	C	=	A
	2	11	P	Cl.	B	C	C	C	C	C	B	B	=	B	B	Lp	A
	3	18	I	Cp.	D	C	C	B	C	B	C	B	=	B	A	Lp	C
	4	13	P	Cp.	C	D	D	A	A	A	A	B	=	B	A	=	D
	5	61	P	Cp.	B	B	B	B	B	B	B	B	=	B	B	=	B
	6	104	I	Cp.	C	C	C	A	A	B	B	A	=	A	C	=	D
	7	37	C	Cp.	D	D	D	B	B	B	B	B	=	B	A	=	D
	8	16	I	Cp.	C	D	D	A	A	B	B	A	=	A	A	=	A
	9	30	C	Cp.	D Média	D Média	D Média	B Média	B Média	B Média	B Média	B Média	=	B Média	A Média	Lp	D Média
	10	57	P	Cp.	C 3,10	C 3,15	C 3,15	B 1,842	B 1,894	B 1,894	B 2,00	A 1,842	=	A 1,842	A 1,736	=	C 2,684
	11	75	C	Cp.	D	D	D	B	B	B	B	B	=	B	C	=	C
	12	9	I	Cp.	B	C	C	B	B	B	B	B	=	B	B	=	B
	13	44	I	Cp.	C	C	C	B	B	B	C	B	=	B	B	=	D
	14	59	C	Cp.	C	C	C	B	A	B	A	A	=	A	C	=	B
	15	102	P	Cp.	C	B	B	B	B	A	A	B	=	B	A	=	B
	16	12	P	Cp.	C	C	C	A	B	A	B	B	=	B	A	Lp	B
	17	52	C	Cp.	C	C	C	B	B	C	C	B	=	B	A	=	C
	18	3	C	Cp.	A	A	A	A	B	A	B	C	=	C	A	=	C
	19	56	C	Cp.	D	D	D	B	A	A	A	A	=	A	B	=	C
To- tal	19	Polpas			58	60	60	35	36	36	38	35	-	35	33	-	51
I 3	1	50	C	Cp.	D Média	D Média	D Média	C Média	C Média	C Média	C Média	C Média	=	C Média	B Média	N	D Média
	2	119	P	Cp.	B 3,33	B 3,33	B 3,33	C 3,00	C 3,00	C 3,00	C 3,00	C 3,00	=	C 3,00	C 2,666	N	B 3,33
	3	89	C	Cp.	D	D	D	C	C	C	C	C	=	C	C	N	D
To- tal	3	Polpas			10	10	9	9	9	9	9	9	-	9	8		10
To- tal Gera	24	Polpas			75	75	75	49	50	51	53	48	-	48	46	-	66



INDICE DE FIBROSAMENTO E RESULTADOS HISTOQUIMICOS  
OBTIDOS NAS VÁRIAS REGIÕES DO TECIDO PULPAR DE DENTES INTEGROS

REGIÃO DO TECIDO PULPAR	I D A D E	Técnica Comum	TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS											Técnicas Físicas	
		Fibrosa- mento  H.F.A.M.	Metacromasia Azul Toluidina pH			AZUL DE ALCIAN	AZUR I - pH 2,0 ————— 4,1								Fibrosa- mento-Mi- croscopia de Polari- zação. H.F.A.M.
			pH 4,1	pH 7,1	pH 2,5		Ort.(+) Met.(-)	Ort.(+) Met.(-)	Ort.(+) Met.(±)	Ort.(-) Met.(+)	Ort.(-) Met.(++)	Metila- ção	Metil. e Saponif. Ort. (+) Met. (+)		
							pH.2,0	pH.2,5	pH.3,0	pH.3,5	pH.4,1	pH.4,1	Met. (+)		
CAMADA ODONTOBLÁSTICA SUB-ODONTOBLAS- TICA.	I 1	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+	
	I 2	++	++	++	++	+++	+	++	++	+	++	-	++	++	
	I 3	+++	+++	+++	-	+	+	+	++	++	++	-	++	+++	
EM TÔRNO DAS FIBRAS DE COLÁGENO	I 1	++	++	++	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	++++	++	
	I 2	+++	+++	+++	+	++++	++	+++	+++	++	+++	-	+++	+++	
	I 3	++++	++++	++++	-	++	++	++	+++	+++	+++	-	+++	++++	
PERIVASCULAR	I 1	++	++	++	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	++++	++	
	I 2	+++	+++	+++	+	++++	++	+++	+++	++	+++	-	+++	+++	
	I 3	++++	++++	++++	-	++	++	++	+++	+++	+++	-	+++	++++	
NA SUBSTÂNCIA FUNDAMENTAL (DIFUSA)	I 1	+++	+++	+++	-	++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	-	
	I 2	++	++	++	-	++	+	++	++	+	++	-	++	-	
	I 3	+	+	+	-	+	+	+	++	++	++	-	++	-	
CALCIFICAÇÕES	I 1	+	Met.Ort ++	Met. ++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-	
	I 2	++	++	++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-	
	I 3	+++	++	++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-	



QUADRO XI

ÍNDICE DE FIBROSAMENTO E RESULTADOS HISTOQUÍMICOS OBTIDOS  
NAS ESTRUTURAS PULPARES DE DENTES CARIADOS

REGIÃO DO TECIDO PULPAR	I D A D E	TIPOS DE CÁRIE	TÉCNICA COMUM H.F.A.M.	TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS											Técnicas Físicas		
				METACROMASIA			AZUL DE ALCIAN	A Z U R - I									Fibrosa- mento-Micros- copia de Po- larização.
				Azul Toluidina pH				Ort. (±)	Ort. (+)	Ort. (+)	Ort. (-)	Ort. (-)	Metila	Met. Sapon.			
				pH 4,1	pH 7,1	pH 2,5		Met. (-)	Met. (-)	Met. (±)	Met. (+)	Met. (++)	ção	Ort. + Met.			
				pH 4,1	pH 7,1	pH 2,5										pH. 4,1	
								pH. 2,0	pH. 2,5	pH. 3,0	pH. 3,5	pH. 4,1	pH. 4,1	pH. 4,1			
CAMADA ODONTO- BLÁSTICA	I 2	S	+	+	+	-	+++	++++	+++	++++	+++	++++	-	++++	+		
		M	++	++	++	-	+++	++	+++	++	+++	+++	-	+++	++		
		P	++	++	+	++++	+++	+++	++++	+++	++	-	++	++			
	I 2	S	++	++	+	+++	+	++	++	++	+++	-	+++	++			
		M	+++	+++	+	++	++	++	++	++	++	-	++	+++			
		P	+++	+++	+	+	++	++	++	++	++++	-	++++	+++			
I 3	S	+++	+++	+	+	++	++	++	+	++	-	++	+++				
	M	++++	++++	+	++++	+++	+++	+++	++++	++	-	++	++++				
	P	++++	++++	+	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	++++	++++				
EM TÓRNO DAS FIBRAS DE COLÁGENAS	I 1	S	+	+	+	-	+++	++++	+++	++++	+++	++++	-	++++	+		
		M	++	++	++	-	+++	++	+++	++	+++	+++	-	+++	++		
		P	++	++	+	++++	+++	+++	++++	+++	++	-	++	++			
	I 2	S	++	++	+	+++	+	++	++	++	+++	-	+++	++			
		M	+++	+++	+	++	++	++	++	++	++	-	++	+++			
		P	+++	+++	++	+	++	++	++	++	++++	-	++++	+++			
I 3	S	+++	+++	++	+	++	+++	++	+	++	-	++	+++				
	M	++++	++++	++	++++	+++	+++	+++	++++	++	-	++	++++				
	P	++++	++++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	++++	++++				
PERIVAS- CULAR	I 1	S	+	+	+	-	+++	++++	+++	++++	+++	++++	-	++++	+		
		M	++	++	++	-	+++	++	+++	++	+++	+++	-	+++	++		
		P	++	++	+	++++	+++	+++	++++	+++	++	-	++	++			
	I 2	S	++	++	+	+++	+	++	++	++	+++	-	+++	++			
		M	+++	+++	+	++	++	++	++	++	++	-	++	+++			
		P	+++	+++	+	+	++	++	++	++	++++	-	++++	+++			
I 3	S	+++	+++	+	+	++	+++	++	+	++	-	++	+++				
	M	++++	++++	+	++++	+++	+++	+++	++++	++	-	++	++++				
	P	++++	++++	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	++++	++++				
NA SUBSTÂN- CIA FUNDAMEN- TAL (DIFUSA)	I 1	S	++++	++++	++++	-	+++	++++	+++	++++	+++	++++	-	++++	-		
		M	+++	+++	+++	-	+++	++	+++	++	+++	+++	-	+++	-		
		P	+++	+++	+++	-	++++	+++	+++	++++	+++	-	++	-			
	I 2	S	+++	+++	+++	-	+++	+	++	++	++	+++	-	+++	-		
		M	++	++	++	-	++	++	++	++	++	-	++	-			
		P	++	++	++	-	+	++	++	++	++	++++	-	++++	-		
I 3	S	++	++	++	-	+	++	++	++	+	++	-	++	-			
	M	+	+	+	-	++++	+++	+++	+++	+++	++	-	++	-			
	P	+	+	+	-	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	++++	-			
CALCIFI- CAÇÕES	I 1	S	+	++	++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-		
		M	+	++	++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-		
		P	+	++	++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-		
	I 2	S	++	++	++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-		
		M	++	++	++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-		
		P	++	++	++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-		
I 3	S	+++	++	++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-			
	M	+++	++	++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-			
	P	+++	++	++++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	-			



Apresentaremos separadamente os resultados obtidos com as várias técnicas empregadas no presente trabalho.

### 3.1. - RESULTADOS OBTIDOS COM O EMPRÊGO DE TÉCNICAS HISTOLÓGICAS COMUNS

No estudo do tecido pulpar corado pela técnica H.F.A.M. e tricrômico de Masson, examinado topograficamente e relacionando-se os grupos etários com o tipo de cárie, observamos:

3.1.1.- Presença de fibroblastos na zona acelular de Weill, bem como o aumento das fibras de colágeno nesta zona, perivascular, nos dentes íntegros e cariados, em relação direta com o aumento da idade dos pacientes. (quadros X e XI).

3.1.2.- O tecido pulpar radicular mostrou um aumento quantitativo de colágeno, numa correlação positiva do fibrosamento nos dentes íntegros e atacados por cárie, com o aumento da idade. (quadro I) fig. 3 e 4

3.1.3.- A afinidade do tecido ao corante foi diretamente proporcional ao fibrosamento, diminuindo na substância fundamental com o aumento da idade. (quadros X e XI).



3.1.4. - O tecido pulpar de dentes com cárie média ou profunda mostrou análogo aumento do fibrosamento com o progredir da idade, fibrosamento maior que o observado nos dentes íntegros ou atacados por cárie superficial (quadro II).

3.1.5. - O aumento das calcificações foi proporcional à idade tanto para os dentes íntegros como para os atacados por cárie. (quadro III).

3.1.6. - Nas 68 polpas de dentes atacados pe los diversos tipos de cárie, verificou-se em 38,23% um infiltrado inflamatório.

O estudo do infiltrado inflamatório encontrado no tecido pulpar, quando relacionados os grupos de idade com os tipos de cáries, apresentou o seguinte resultado:

3.1.6.1.- Frequência elevada do infiltrado inflamatório nos tecidos pulpaes do grupo jovem (II) -, aumentando no grupo de pacientes idosos (I3) e diminuindo no grupo de pacientes de idade média (I 2). (quadro IV).

3.1.6.2.-O tecido pulpar atacado por cáries superficiais e médias apresentou um aumento de fre-quência do infiltrado inflamatório do tipo linfoplasmocitário, diretamente proporcional ao aumento da idade do paciente. (quadro V).



# QUADRO I

ÍNDICE DE FIBROSAMENTO VERIFICADO NO TECIDO PULPAR DE DENTES ÍNTEGROS E ATACADOS POR CÁRIES (SUPERFICIAIS, MÉDIAS E PROFUNDAS).

GRUPOS DE IDADES	DENTES ÍNTEGROS			CÁRIES SUPERFICIAIS			CÁRIES MÉDIAS			CÁRIES PROFUNDAS			MÉDIA TOTAL
	Nº DE POLPAS	FIBROSAMENTO	MÉDIA	Nº DE POLPAS	FIBROSAMENTO	MÉDIA	Nº DE POLPAS	FIBROSAMENTO	MÉDIA	Nº DE POLPAS	FIBROSAMENTO	MÉDIA	
I 1	8	20	2,50	4	8	2,00	4	12	3,00	2	5	2,50	10,00
I 2	5	15	3,00	16	45	2,80	9	27	3,00	19	60	3,15	11,95
I 3	5	17	3,40	9	31	3,47	2	8	4,00	3	10	3,33	14,20



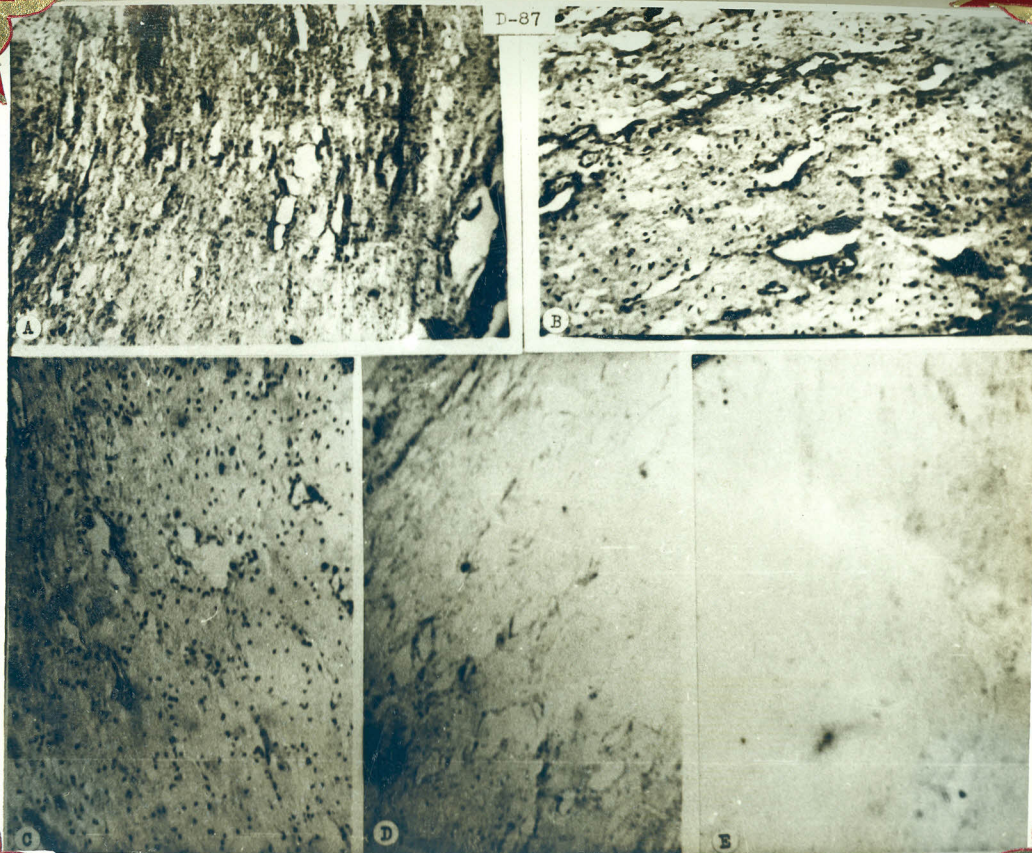


Figura 3

Fotomicrografia do tecido pulpar de dente íntegro. Pacientes jovens. - Microscópio Leitz Ortholux - Aumento de 125 X - Obj:10, Oc. 10

- A- Tricrômico de Masson
- B- Metacromasia Azul de toluidina pH 4,1
- C- Azur I, pH 4,1
- D- Azur I, pH 4,1 - após metilação e saponificação
- E- Azul de Alcian.



QUADRO II

**ÍNDICE DE FIBROSAMENTO VERIFICADO NO TECIDO PULPAR  
DE DENTES ÍNTEGROS E ATACADOS POR CÁRIES SUPERFICI-  
AIS, MÉDIAS E PROFUNDAS.**

L E G E N D A	POLPAS IN- TEGRAS		CÁRIES SU- PERFICIAIS		CÁRIES MÉDIAS		CÁRIES PRO- FUNDAS	
	Nº DE FI- BROSAMENTO	Nº DE POLPAS	Nº DE FI- BROSAMENTO	Nº DE POLPAS	Nº DE FI- BROSAMENTO	Nº DE POLPAS	Nº DE FI- BROSAMENTO	Nº DE POLPAS
A (1)	2	2	4	4	2	2	1	1
B (2)	8	4	14	7	4	2	8	4
C (3)	18	6	18	6	9	3	30	10
D (4)	24	6	48	12	32	8	36	9
Total	52	18	84	29	47	15	75	24
Média	2,888...		2,893		3,133...		3,125	



# QUADRO III

ÍNDICE DE CALCIFICAÇÕES ENCONTRADAS NO TECIDO PULPAR DE DENTES ÍNTEGROS E ATACADOS POR CÁRIES SUPERFICIAIS, MÉDIAS E PROFUNDAS.

GRUPOS DE IDADES	DENTES ÍNTEGROS			CÁRIES SUPERFICIAIS			CÁRIES MÉDIAS			CÁRIES PROFUNDAS		
	Nº DE POLPAS DE CALCIFICAÇÃO	MÉDIA		Nº DE POLPAS DE CALCIFICAÇÃO	MÉDIA		Nº DE POLPAS DE CALCIFICAÇÃO	MÉDIA		Nº DE POLPAS DE CALCIFICAÇÃO	MÉDIA	
I 1	8 11	1,375		4 8	2,00		4 8	2,00		2 5	2,50	
I 2	5 11	2,20		16 34	2,125		9 20	2,222		19 51	2,684	
I 3	5 15	3,00		9 23	2,555		2 6	3,00		3 10	3,33	
	18 37			29 65			15 34			24 66		
	2,055			2,241			2,266			2,750		



**QUADRO IV**

FREQUÊNCIA DE INFILTRADO INFLAMATÓRIO OBSERVADA NO TECIDO PULPAR DE DENTES ATACADOS POR CÁRIE			
GRUPO DE IDADE	Nº DE POLPAS	Nº DE INFILTRADO	PORCENTAGENS
I 1	10	4	40,00%
I 2	44	12	27,250%
I 3	14	9	64,285%
TOTAL	68	25	38,23%



QUADRO V

FREQÜÊNCIA DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO OBSERVADA NO TECIDO PULPAR DE DENTES PORTADORES DE CÁRIES.									
GRUPOS DE IDADES	CÁRIES SUPER- FICIAIS			CÁRIES MÉDIAS			CÁRIES PRO- FUNDAS		
	Nº DE POLPAS	INFILTRADO LINFPL.	PORCENTAGEM	Nº DE POLPAS	INFILTRADO	PORCENTAGEM	Nº DE POLPAS	INFILTRADO Linf. Neut.	PORCENTAGEM
I 1	4	1	25,00	4	2	50,00	2	- 1	50
I 2	16	5	31,25	9	3	33,33	19	4 -	21,052
I 3	9	4	44,4	2	2	100,	3	- 3	100,
TOTAL	29	10		15	7		24	8	



3.1.6.3.- O tecido pulpar de dentes atacados por cáries profundas apresentou infiltrado inflamatório, predominantemente do tipo neutrófilo para os pacientes de idade jovem (I 1), e idosos (I 3); do tipo predominantemente linfoplasmocitário no grupo de pacientes de idade média (I 2).

A frequência do infiltrado inflamatório, independente do tipo do infiltrado, foi elevada nos pacientes jovens, maior no grupo de pacientes de idade adulta (I 3) e menor nos de idade média (I 2). (Quadro V).

o00000o



### 3.2. - RESULTADOS OBTIDOS COM O EMPRÊGO DE TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS

#### 3.2.1.- Metacromasia. a) Azul de toluidina (pH 4,1)

O tecido pulpar dos dentes íntegros e atacados por cárie mostrou maior concentração de substâncias metacromáticas: na camada odontoblástica ( região fibrosada), perivascular e em tórno das fibras de colágeno. (quadros X e XI).

A metacromasia no tecido pulpar de dentes íntegros e atacados por cárie, foi mais intensa à medida que aumentava o fibrosamento. (fig. 3) - fig. 4).

O tecido pulpar de dentes de pacientes jovens revelou, na substância fundamental, metacromasia homogênea que diminuía com a idade e com o fibrosamento. (fig. 3 e 4) (quadros X e XI).

As calcificações pulpaes apresentaram metacromasia em pH 4,1. (Quadro X e XI)

A substância fundamental nas zonas do infiltrado inflamatório não apresentou metacromasia, exceto nas regiões de fibrosamento que circundavam o infiltrado. (fig. 5).



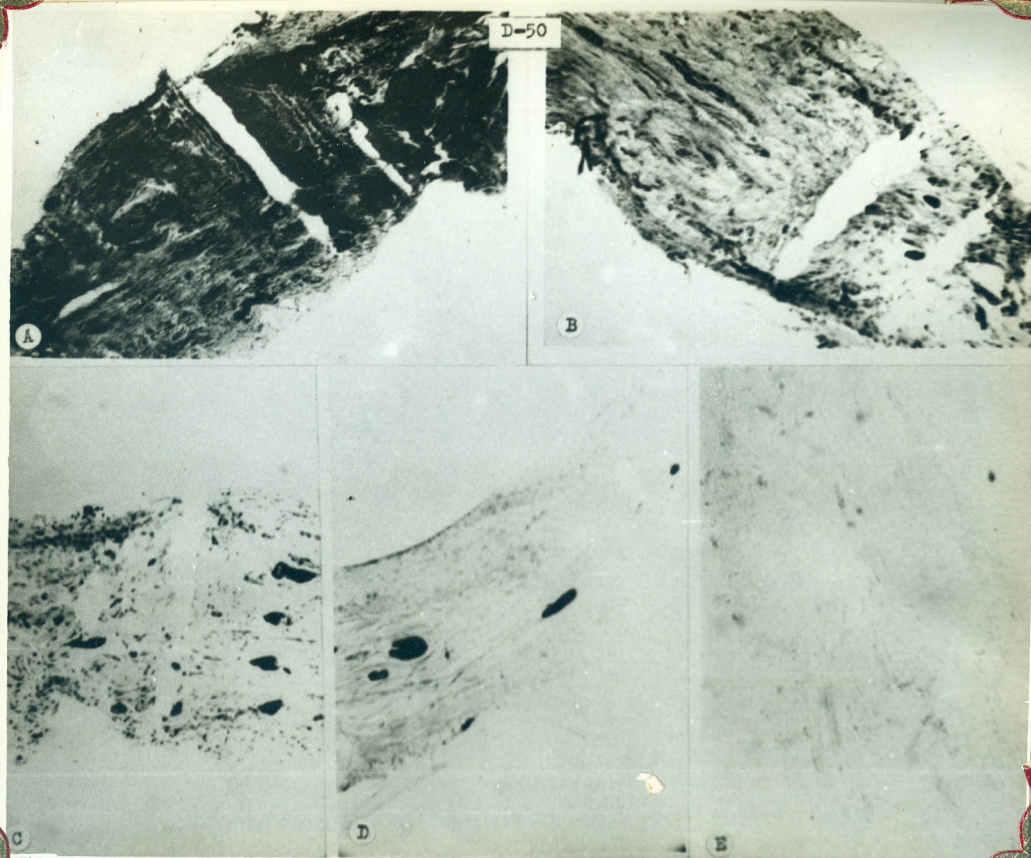


Figura 4

Fotomicrografia do tecido pulpar de dentes com cáries profundas  
 Pacientes idosos - Microscópio Leitz Ortholux - Aumento de 125 X  
 Obj. 10 - Oc. 10.

- A - Tricrômico de Masson
- B - Metacromasia, Azul de toluidina pH 4,1
- C - Azur I, pH 4,1
- D - Azur I, pH 4,1 após metilação e saponificação
- E - Azul de Alcian



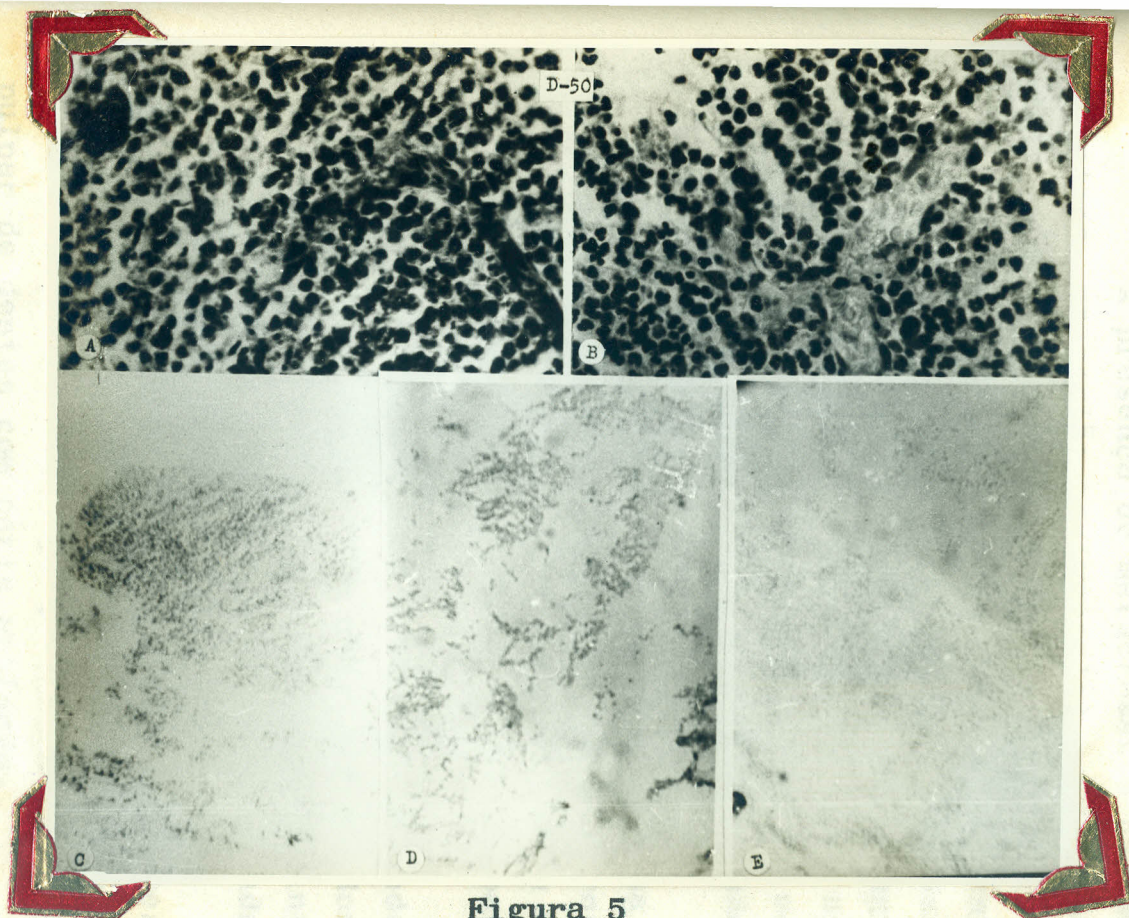


Figura 5

Fotomicrografia do infiltrado inflamatório do tecido pulpar de dentes de pacientes idosos, com cáries profundas.-Microscópio Leitz Ortholux. A-H.F.A.M.-Hematoxilina Fosfotungstica Ácida de Mallory-Aum. 560 X-Obj.45 Oc. 10.

B-Metacromasia, Azul de toluidina pH 4,1- Aum. 560 X - Obj. 45-Oc. 10.

C-Azur I, pH 4,1 - Aumento de 125 X - Obj. 10 - Oc. 10.

D-Azur I, pH 4,1 - após metilação e saponificação-Aum. 125 X-Obj.10-Oc.10.

E-Azul de Alcian . Aumento de 125 X - Obj. 10 - Oc. 10



3.2.1.- Metacromasia. b) Azul de toluidina  
(pH 7,1 - pH 2,5)

A técnica do azul de toluidina em pH 7,1 e pH 2,5 revelou: (quadros X e XI).

A presença de metacromasia na camada odontoblástica, na região perivascular, em torno das fibras de colágeno e nas calcificações pulpare, diminuindo em função da idade no tecido pulpar de dentes íntegros e aumentando no tecido pulpar de dentes cariados.

No tecido pulpar de dentes íntegros de pacientes do grupo I 1, a metacromasia apresentou-se mais intensa nas regiões supra citadas, menos intensa nos pacientes do grupo I 2, e desaparecendo nos pacientes do grupo I 3. (quadro X).

Essa metacromasia é mais intensa junto à camada odontoblástica, menos intensa em torno das fibras de colágeno e, finalmente, menos intensa ainda nas regiões perivascular e calcificações pulpare. (quadro X).

O tecido pulpar de dentes cariados mostrou fraca metacromasia na região da camada odontoblástica, perivascular e regiões de calcificação, intensificando-se em torno das fibras de colágeno. (quadro XI), em função da idade e do tipo de cárie.

Nos pacientes jovens, portadores de dentes com cárie superficial e média, o tecido pulpar não apresentou metacromasia, que foi observada no tecido pulpar de dentes com cárie profunda.

Nos pacientes dos grupos I 2 e I 3, portadores de dentes atacados por cáries superficiais, mé-



dias e profundas, o tecido pulpar mostrou metacromasia nas várias regiões já citadas, que se intensificava com o aumento da idade e tipo de cárie. (quadro XI).

Resumindo, os resultados até aqui expostos indicam uma regressão quantitativa da metacromasia em dentes íntegros e uma progressão quantitativa nos dentes cariados, em função da idade dos pacientes.

### 3.2.2. - Basofilia - Azur I

Após a coloração pelo Azur I obtiveram-se resultados variáveis segundo o pH da solução corante empregada. (quadro X e XI).

O tecido pulpar de dentes íntegros e cariados, corados pelo Azur I pH 2,0 - pH 2,5 - pH 3,0, mostrou basofilia ortocromática na camada odontoblástica, no citoplasma dos plasmócitos, em torno das fibras de colágeno e na substância fundamental, basofilia esta mais intensa nas calcificações. Em pH 3,0 - pH 3,5 - pH 4,1 o tecido pulpar mostrou basofilia metacromática que se intensificava em relação direta com o aumento do pH. (quadro X-XI).

Em outros termos, a coloração pelo Azur I, com o pH da solução corante, verificamos que as várias regiões do tecido pulpar apresentaram basofilia ortocromática quando o pH variou de 2,0 a 3,0 e basofilia metacromática nos pH 3,0 - 3,5 - 4,1. (quadros X e XI).

O tecido pulpar de dentes portadores de cáries médias e profundas mostrou maior afinidade ao corante do que o tecido pulpar de dentes íntegros e de cáries superficiais. Entretanto, quando comparados entre si, os elementos dos 2 grupos (cárie média e pro-



funda, cárie superficial e dente íntegro) não mostraram diferenças significativas no teor do M.P.A., analisado pelo Azur I (quadro VI e VII).

A substância fundamental nas zonas do infiltrado inflamatório, não apresentou basofilia metacromática ou ortocromática a este corante, exceto nas regiões de fibramento que circundavam o infiltrado. (fug. 5).

A técnica do bloqueio químico apresentou:

a) Reações de coloração com Azur I pH 4,1 após metilação, não apresentaram colorações no tecido pulpar das estruturas estudadas, exceto nos núcleos e citoplasma dos plasmócitos.

b) Cortes tratados pela metilação e saponificação e após coloração pelo Azur I pH 4,1, apresentaram colorações idênticas às citadas, quando coradas pelo pH 3,5 (quadros X e XI).

ooo0ooo



TEOR DE M.F.A. AVALIADO PELO AZUR I PH 2,0 - 4,1 NO TECIDO PULPAR DE DENTES ÍNTEGROS E ATACADOS POR CÁRIES SUPERFICIAIS, MÉDIAS E PROFUNDAS.

GRUPOS DE IDADES		POLPAS DE DENTES INTEGROS										POLPAS DE DENTES SUPERFICIAIS																	
NÚMERO DE POLPAS		pH 2,0		pH 2,5		pH 3,0		pH 3,5		pH 4,1		METILAÇÃO		Met. + Sapon		pH 2,0		pH 2,5		pH 3,0		pH 3,5		pH 4,1		Met. + Sapon			
I 1	8	23	2,875	20	2,50	24	3,00	24	3,00	24	3,00	-	24	3,00	139	2,895	4	11	9	2,25	11	2,75	10	2,50	11	2,75	-	11	2,75
I 2	5	8	1,60	10	2,00	10	2,00	9	1,80	11	2,20	-	11	2,20	59	1,966	16	25	32	2,00	30	1,875	32	2,00	37	2,312	-	37	2,312
I 3	5	9	1,80	8	1,60	11	2,20	12	2,40	11	2,20	-	11	2,20	62	2,066	9	19	18	2,00	16	1,888	13	1,444	19	2,111	-	19	2,111
TOTAL	18	40:18	38:18	45:18	45:18	46:18	-	46:18	6,927	29	55:29	59:29	57:29	35:29	67:20	-	67:20	104	1,925	222	2,343	63	2,625	104	1,925	222	2,343	63	2,625
MÉDIA	2,222	2,111	2,500	2,300	2,555	-	2,555	6,927	2,066	2,111	2,111	2,034	1,963	1,896	2,310	-	2,310	6,893	1,925	2,343	2,625	6,893	1,925	2,343	2,625	6,893	1,925	2,343	2,625

POLPAS - CÁRIES MÉDIAS

[illegible]

## POLPAS - CÁRITES PROFUNDAS



QUADRO VII

**TEOR DO M.P.A. AVALIADO PELO AZUR I pH (2,0 - 2,5 - 3,0 - 3,5 - 4,1)  
NAS POLPAS DE DENTES ÍNTEGROS E ATACADOS POR CÁRIES SUPERFICIAIS, MÉ  
DIAS E PROFUNDAS**

GRUPOS DE IDADES	DENTES ÍNTEGROS			CÁRIES SUPERFICIAIS			CÁRIES MÉDIAS			CÁRIES PROFUNDAS			TOTAIS GRUPOS DE IDADES
	NÚMERO POLPAS	VALÔRES + NOS 5 pH	MÉDIAS	NÚMERO POLPAS	VALÔRES + NOS 5 pH	MÉDIAS	NÚMERO POLPAS	VALÔRES + NOS 5 pH	MÉDIAS	NÚMERO POLPAS	VALÔRES + NOS 5 pH	MÉDIAS	
I 1	8,5	139	2,895	4.5	63	2,625	4.5	57	2,375	2.5	30	2,500	10,395
I 2	5.5	59	1,966	16.5	225	2,345	9.5	114	2,111	19.5	215	1,885	8,307
I 3	5.5	62	2,066	9.5	104	1,925	2.5	33	2,750	3.5	54	3,000	9,741
TOTAIS	18		6,927	29		6,893	15		7,236	24		7,385	



### 3.2.3. - Azul de Alcian

Com solução de azul de Alcian, obtivemos os seguintes resultados no estudo do tecido pulpar de dentes íntegros e cariados: (quadros VIII e IX).

a) Nas regiões do tecido pulpar de dentes íntegros e atacados por cárie, independente da idade, observaram-se maiores concentrações do corante em torno das fibras de colágeno, e uma diminuição gradativa do corante na camada odontoblástica, substância fundamental e calcificações pulpares. (quadro X e XI).

b) No tecido pulpar de dentes íntegros e atacados por cárie superficial, a afinidade pelo corante mostrou resultado inversamente proporcional ao aumento da idade dos pacientes. (quadro VIII).

c) No tecido pulpar de dentes atacados por cárie, do tipo média e profunda, a afinidade pelo corante foi elevada nos pacientes do grupo I 1, maior nos pacientes do grupo I 3, e menor nos pacientes do grupo I 2. (quadro VIII).

d) O estudo comparativo geral entre dentes íntegros e com cárie superficial, média e profunda apresentou um resultado pouco significante, mostrando porém, que a afinidade pelo corante nos dentes de cárie profunda foi menor que a dos outros grupos estudados. (quadro IX).

A substância fundamental nas zonas do infiltrado inflamatório não apresentou afinidade ao corante empregado. (fig. 5).



QUADRO VIII

**TEOR DE M.P.A. AVALIADO PELO AZUL DE ALCIAN EM TECIDO PULPAR  
DE DENTES ÍNTEGROS E ATACADOS POR CÁRIES SUPERFICIAIS, MÉDIAS E  
PROFUNDAS.**

GRUPOS DE IDADES	DENTES ÍNTEGROS			CÁRIES SUPERFICIAIS			CÁRIES MÉDIAS			CÁRIES PROFUNDAS			MÉDIA TOTAL
	Nº DE POLPAS	VALOR QUAN- TITATIVO	MÉDIAS	Nº DE POLPAS	VALOR QUAN- TITATIVO	MÉDIAS	Nº DE POLPAS	VALOR QUAN- TITATIVO	MÉDIAS	Nº DE POLPAS	VALOR QUAN- TITATIVO	MÉDIAS	
I 1	8	17	2,125	4	9	2,25	4	9	2,25	2	5	2,50	2,222
I 2	5	11	2,20	16	35	2,187	9	17	1,888	19	33	1,736	1,673
I 3	5	8	1,60	9	16	1,777	2	5	2,50	3	8	2,666	1,947
TOTAIS	18	$\frac{36 : 18}{2,00}$		29	$\frac{60 : 29}{2,068}$		15	$\frac{31 : 15}{2,066}$		24	$\frac{46 : 24}{1,925}$		



**QUADRO IX**

**TEOR DE M.P.A., AVALIADO PELO AZUL DE ALCIAN NO TECIDO PULPAR  
DE DENTES ÍNTEGROS E ATACADOS POR CÁRIES SUPERFICIAIS, MÉDIAS  
E PROFUNDAS**

L E G E N D A	POLPAS ÍNTEGRAS		P. CÁRIES SUPERFICIAIS		P. CÁRIES MÉDIAS		P. CÁRIES PROFUNDAS		VALORES + ATRIBUIDOS HISTOQUIM.
	VALORES HISTOQUIM.	NÚMERO DE POLPAS	VALORES HISTOQUIM.	NÚMERO DE POLPAS	VALORES HISTOQUIM.	NÚMERO DE POLPAS	VALORES HISTOQUIM.	NÚMERO DE POLPAS	
A	7	7	8	8	4	4	9	9	(+)
B	8	4	22	11	12	6	16	8	(++)
C	21	7	30	10	15	5	21	7	(+++)
<b>TOTAL MÉDIA</b>	<b>36 : 18 2,00</b>		<b>60 : 29 2,068</b>		<b>31 : 15 2,066</b>		<b>46 : 24 1,916</b>		



### 3.3. - RESULTADOS OBTIDOS COM O EMPRÊGO DE TÉCNICA FÍSICA

#### Birrefringência

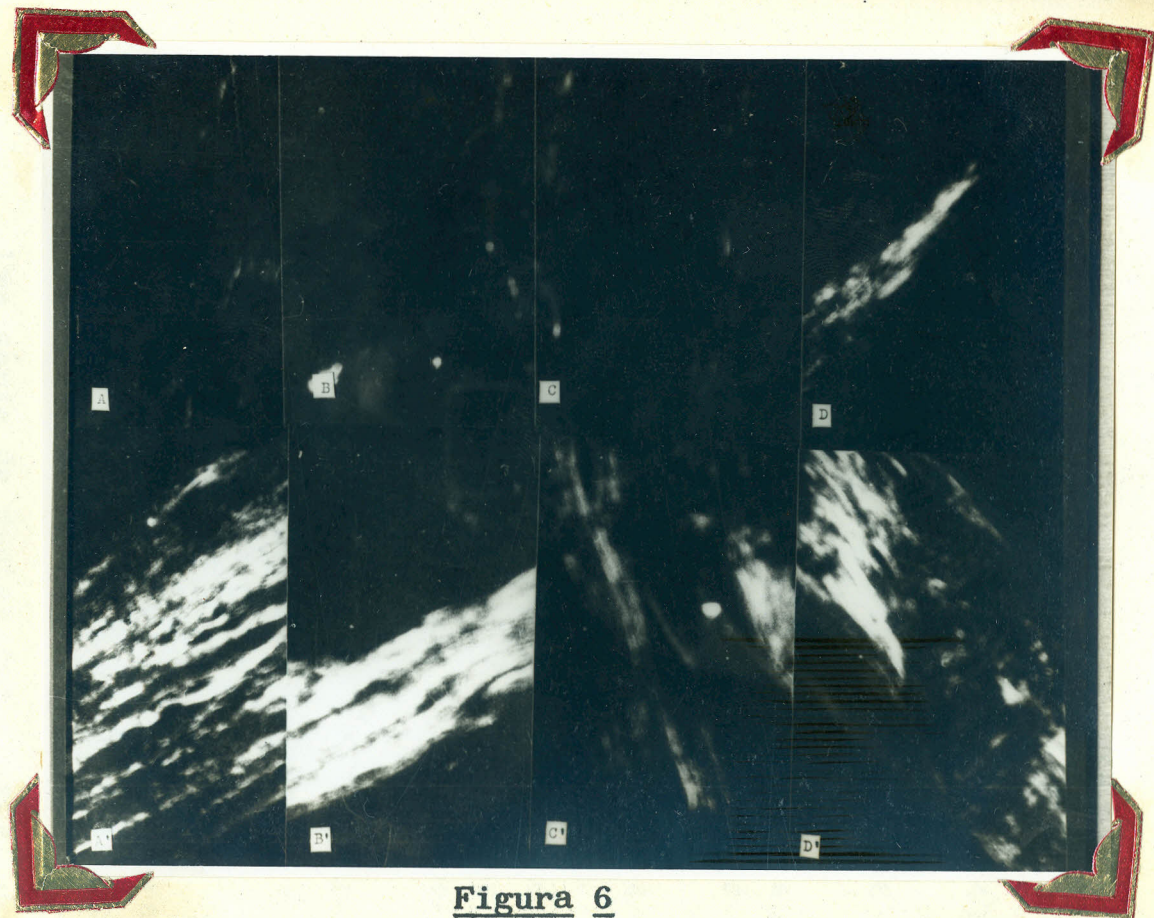
Utilizando a microscopia de polarização pelo exame da birrefringência e baseados nas propriedades de birrefringência intrínseca do colágeno, obtivemos:

a) Fibrosamento do tecido pulpar, observado por técnica histológica comum ( tricrômico de Masson ) foi verificado com melhores detalhes pelo exame da birrefringência do colágeno corado pelo H.F.A.M. ( quadro I e II - fig. 6).

b) Com o emprêgo da técnica histoquímica com azul de toluidina pH 4,1, e pela microscopia de polarização (birrefringência do colágeno) observou-se uma variação da intensidade da birrefringência em função da coloração, numa relação positiva com o fibrosamento do tecido pulpar.

ooo0ooo





**Figura 6**

Fotomicrografia do tecido pulpar - Microscopia de Polarização (Birrefringência) - Microscópio Reichert R.C.P..

Aumento 100 X - Obj. 10 - Oc. 10.

- |                                     |                                       |
|-------------------------------------|---------------------------------------|
| A- Tecido pulpar íntegro jovem.     | A'- Tecido pulpar íntegro idoso.      |
| B- Tecido pulpar cárie sup. jovem.  | B'- Tecido pulp. cárie superf. idoso. |
| C- Tecido pulpar cárie média jovem. | C'- Tecido pulp. cárie média idoso.   |
| D- Tecido pulpar cárie prof. idoso. | D'- Tecido pulp. cárie prof. idoso.   |



## 4 - DISCUSSÃO

### 4.1. - DISCUSSÃO DAS TÉCNICAS DE FIXAÇÃO

#### 4.1.1.- Fixação para técnicas histológicas comuns.

Os fixadores constituem problemas para a técnica de fixação do material, com finalidades histológicas (53), com finalidades histoquímicas (34), bem como na imobilização dos corantes utilizados na pesquisa do M.P.A., segundo Love (35), Love e Walsh (36) e McGlun- (37).

Stanley (53), pesquisou este assunto referindo-se às técnicas empregadas para a fixação do tecido pulpar, bem como para o exame histológico deste tecido sem remoção das estruturas dentinárias. As conclusões deste autor, no que concerne à pesquisa das degenerações reticulares, como consequência da desintegração espontânea do tecido pulpar, provocada por enzimas autógenos, verificadas por fixação inadequada do material, foram comprovadas em nossa pesquisa.

A técnica empregada por nós, para a fixação do material, não ofereceu sucesso integral, pois que todas as polpas apresentaram vacúolos de degeneração reticular.

Novas pesquisas foram feitas para comprovação destes resultados, utilizando dentes íntegros, cariados e de diversas idades.

Uma série de dentes foi fixada conforme a técnica descrita no presente trabalho, enquanto que na outra série, o tecido foi imediatamente removido da ca-



vidade pulpar, fixado pela mesma técnica. Obtivemos os seguintes resultados:

a) em ambas as técnicas, a bipartição dos dentes para a remoção do tecido pulpar foi facilitada com o aparelho de Engström e Öhm (12).

b) as degenerações reticulares (vacúolos) estavam presentes em tôdas as amostras de tecido pulpar dos dentes da primeira série.

c) a segunda série não apresentou degenerações reticulares, porém maiores cuidados deveriam ser observados na remoção do tecido da cavidade pulpar.

#### 4.1.2.- Fixação para técnicas histoquímicas.

Os fixadores para o estudo do M.P.A. necessitam, segundo Lison (34), uma pesquisa prévia para cada tipo de amostra estudada.

Os fixadores contendo acetato de chumbo, segundo recente pesquisa de Haust e Landing (15), interferem nas colorações metacromáticas do M.P.A.

O fixador de Zenker (38), por nós empregado, permite segundo Bignardi (3), o emprêgo de maior número de técnicas histoquímicas para a pesquisa do M.P.A. determinando também, colorações mais brilhantes(3-38); entretanto, segundo Lison (34) e Pearse (43),êsse difiulta as digestões enzimicas exigindo nesse tratamento o tempo prolongado.

Devemos ressaltar a importância do emprêgo do molibdato de amônio e do ferrocianeto de potássio na preservação da metacromasia obtida após a coloração quer pelo azul de toluidina, quer pelo Azur I, confor-



me as indicações de McGlun (37).

Love (35), em trabalho sobre a distribuição do ácido ribonucleico durante a mitose, verificou que é desnecessária a associação do ferrocianeto de potássio para a imobilização de corantes.

Em estudo mais recente, Love e Walsh (36) preconizam uma técnica de coloração "azul de toluidina-molibdato de amônio", concluindo que a solução ideal do imobilizador seria a 5% e o tempo de 30 minutos, quando prorrogado, diminuiria a intensidade da metacromasia.

As conclusões de McGlun (37), com as confirmações de Love (35) e Love e Walsh (36), e os resultados de nosso experimento, reforçam a importância da utilização do molibdato de amônio ferrocianeto de potássio como imobilizador do corante de M.P.A., por nós empregado.

ooo0ooo



#### 4.2. - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS HISTOLÓGICOS COMUNS.

Os resultados obtidos no estudo do fibrosamento de tecido pulpar em investigações feitas por Hill (16), Thomas (55), Kronfeld e Boyle (22), Soeda (50), Vidal (57-58), Stanley (52), Stanley e Ranney (54), foram por nós confirmados, quer por técnicas histológicas comuns, quer pelo emprêgo de técnicas físicas (birrefringência).

O trabalho mais recente sôbre êste assunto, encontrado na revista da literatura, é o de Stanley (54) que, utilizando técnica histológica comum como o tri-crômico de Masson, atribui valôres para o fibrosamento do tecido pulpar. Segundo Stanley e Ranney (54), o fibrosamento do tecido pulpar radicular, é em média predominantemente maior que o do tecido pulpar coronário. O tecido pulpar dos dentes anteriores, apresenta um índice maior de fibrosamento pulpar radicular que os dos posteriores.

No presente trabalho utilizamos dentes unir-radulares, incluindo os pré-molares que apresentavam raiz única, simples ou fusionadas (11), ao que poderia ser atribuído um índice menor de fibrosamento pulpar.

A freqüência do infiltrado inflamatório encontrada em nosso trabalho sugere: a predisposição do processo inflamatório, numa proporção progressiva com a idade, foi possivelmente determinada pela queda da resistência orgânica.

Johnson e Bevelander (20) e Vidal (57-60) pesquisaram detalhadamente as calcificações pulpares, classificando-as em: concreções calcáreas de aspécto lame



lar concêntrico (nódulo) e calcificações difusas, considerando as primeiras, como consequência da atividade biológica própria do tecido, e as segundas como ocorridas em regiões que sofreram prévias alterações patológicas, metabólicas, vasculares e hialinização.

No presente trabalho verificamos maior frequência das calcificações com o aumento da idade e maior frequência dos mesmos no tecido pulpar de dentes com cárie profunda.

Como foi assinalado no capítulo de material e técnicas, adotamos o critério semiológico de Grossman (14) e Milano (41) para a seleção dos dentes ao estudo das seguintes alterações pulpares: a) hiperemias, b) pulpites serosas ou parciais e c) pulpites purulentas.

Milano (41) realizou pesquisa comparativa entre diagnósticos clínicos e aspectos histopatológicos, concluindo que em tôdas as alterações pulpares há possibilidade de interrelação de ambos em 75% dos casos estudados. Por outro lado, Dagoberto (24), estudando as relações existentes entre os aspectos clínicos das pulpotatias nas periodontopatias, verificou que as bolsas periodontais do tipo infra-ósseo poderiam determinar alterações inflamatórias no tecido pulpar.

Em vista das observações de Dagoberto (24), excluimos do presente trabalho os dentes situados em regiões onde se localizam bolsas periodontais, tipo infra-ósseo (42), que poderiam provocar alterações histopatológicas pulpares, introduzindo fatores não relacionados com a finalidade do presente estudo.



#### 4.3. - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS HISTOQUÍMICOS

Pelas técnicas histoquímicas utilizadas no presente trabalho e pelos resultados das colorações empregadas, admitimos que os mucopolissacarídeos ácidos (M.P.A.), tanto dos tipos sulfatados como dos carboxílicos fazem parte do tecido pulpar humano, estando distribuídos na substância fundamental, na substância cementante situada entre os feixes de fibras de colágeno e nas calcificações, variando quantitativamente com o fibrosamento, com a idade dos pacientes, com o tipo de cárie. Reforçando as afirmativas feitas acima, lembramos Rizzoli (46), que estudou a variação dos mucopolissacarídeos em tecidos de mamíferos, verificando uma relação significativa dos resultados obtidos pelo azul de Alcian e pelo azul de toluidina. O autor classifica o tecido em 4 grupos:

a) Estrutura intensamente metacromática apresentando elevada afinidade ao azul de Alcian foi considerada como possuindo M.P.A. especialmente do tipo sulfatado;

b) Na estrutura com afinidade variável aos corantes tiazínicos, apresentando basofilia orto e metacromática, P.A.S. positivo, a presença de M.P.A. era duvidosa;

c) Incluiu no terceiro grupo os polissacarídeos, mucoprotídeos e glicoproteínas, constituintes da estrutura que apresentava resultados negativos ao azul de Alcian, à basofilia metacromática e ortocromática e mostrou-se oxidável pelo ácido periódico;



d) O autor atribui ao quarto grupo, a estrutura que não se apresentava metacromática e era P.A.S. negativo, porém era discretamente corada pelo azul de Alcian e intensamente basófila.

Com referência especial ao tecido pulpar, este autor verificou reatividade positiva deste ao azul de Alcian, metacromasia e fraca reação pelo ácido periódico.

As reações metacromáticas determinadas pelo azul de toluidina em pH 7,1 - pH 4,1 - pH 2,5 confirmaram a presença do M.P.A. no tecido pulpar, variando com as regiões estudadas na substância fundamental e aumentando com a idade e com o tipo de cárie.

O estudo dos radicais sulfatados através das reações metacromáticas apresentadas em soluções de azul de toluidina em pH 7,1 e pH 2,5, confirmou a presença desses radicais, que variaram quantitativamente, com a idade e o tipo da cárie. (quadros X e XI).

A diminuição dos radicais sulfatados com o aumento da idade dos pacientes, foi comprovada pelo azul de toluidina nos pH 7,1 e pH 2,5, pelo azul de Alcian e pela basofilia após coloração pelo Azur I em pH 2,0 e pH 2,5, apresentando resultados semelhantes em todas estas colorações.

A coloração pelo Azur I, em solução de pH progressivo, pH 3,0, pH 3,5, pH 4,1, mostrou basofilia metacromática e ortocromática. Estes resultados comparados com a metacromasia pelo azul de toluidina, com a basofilia ortocromática após metilação e saponificação, comprovaram a presença dos radicais carboxílicos, dimi



nuindo na substância fundamental do tecido pulpar com aumento da idade. (quadros X e XI).

A técnica de estudo do M.P.A., assim como das variações dos seus radicais sulfatados e carboxílicos, empregada no presente trabalho, foi já utilizada em outros tecidos por Lison (30), McManus e Mowry (39) Sasso (47) e Rizzoli (46).

Em nossas observações verificamos concentração do M.P.A. nas regiões de fibrosamento que circundavam o infiltrado inflamatório. Por outro lado, na região pulpar onde se localizava o infiltrado inflamatório não pudemos detectar o M.P.A. através das técnicas empregadas.

Cabrine (7), pesquisando alterações do colágeno, concluiu que a substância fundamental do tecido conjuntivo apresenta modificações características do tipo de agregação e polimerização, representadas por um aumento de basofilia e metacromasia, quando empregou o corante azul de toluidina.

Asboe-Hansen (2), encontrou variações do M.P.A. constatadas em diversas circunstâncias, tais como, uma diminuição na relação hexosamina-hidroxiprolina com o avanço da idade, indicando uma reduzida formação do mucopolissacarídeo no tecido conjuntivo, o que está em acôrdo com as transformações pulparem em função da idade, observadas em nossos resultados.

Clausen (9-10), pesquisando as variações quantitativas dos constituintes essenciais do tecido conjuntivo (7), em aortas, miocárdio e pele, verificou alterações da hexosamina, hidroxiprolina e ácido hexurô-



nico, diminuindo com o aumento da idade e com alterações patológicas dos vasos; verificou também, formações reduzidas do ácido hexurônico no tecido conjuntivo estudado.

Buddecke (6), pesquisou as variações do M.P. A., em arterioescleroses, concluindo que havia diminuição do ácido hialurônico e aumento do ácido condroitinesulfúrico nas paredes dos vasos.

Zugibe (63-64) no mesmo ano das pesquisas de Buddecke (6), utilizou da técnica do azul de Alcian, chegando aos mesmos resultados. Êste autor atribui importância fundamental ao ácido condroitinesulfúrico, concluindo que êste estava presente em tôdas as idades variando quantitativa e proporcionalmente com a idade.

Lembramos nesta oportunidade os trabalhos de Buddecke (6) e principalmente Zugibe (63-64), que atribuem às variações do ácido condroitinesulfúrico um papel importante nos processos patológicos vasculares.

Os nossos resultados demonstraram diminuição quantitativa dos radicais sulfatados com o aumento de idade, no tecido pulpar de dentes íntegros e de cáries superficiais e um aumento dêstes radicais proporcional à idade no tecido pulpar dos dentes com cáries médias e profundas.

Em concordância com as observações citadas: (2-6-7-9-10-63 e 64), e os resultados do presente estudo, que evidenciou a diminuição da coloração na substância fundamental, poderíamos concluir que há uma redução dos radicais carboxílicos (ácido hialurônico) proporcional às idades, no tecido pulpar de dentes ínte-



gros e cariados.

Shroff (48),concluiu da necessidade do M.P.A. para o início das calcificações. Vidal (57-60) e Johnson e Bevelander (20) verificaram que as regiões de calcificações são ricas em M.P.A. radicais sulfatados (condroitinesulfúrico) o que foi comprovado em nossa pesquisa pelo estudo da metacromasia em pH 7,1 - pH .. 2,5 e basofilia ortocromática, segundo Lison - Sasso-McManus e Mowry (30-39-47).

#### 4.4. - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS DA BIRREFRINGÊNCIA;

O conceito de Brewer (5) referente à birrefringência de objetos analisados em microscopia de polarização e às propriedades intrínsecas do colágeno, estudadas por Jackson (18) e comprovadas por Vidal (59), foram aplicadas em nossa pesquisa.

O tecido pulpar, analisado segundo êstes princípios comparados com a técnica de Stanley e Ranney... (54), nos proporcionou maiores facilidades e melhores detalhes, permitindo avaliar o fibrosamento do tecido pulpar de dentes íntegros e cariados, que se mostrou proporcional à idade dos pacientes.

ooo0ooo



## 5 - RESUMO

O autor faz um estudo histológico, histoquímico e físico (birrefringência) do tecido pulpar, utilizando 86 polpas de dentes íntegros e cariados.

Por técnicas histológicas comuns (trícromico de Masson) e físicas (birrefringência), utilizando a coloração do tecido pela hematoxilina fosfotúngstica ácida de Mallory, (H.F.A.M), procedeu a um estudo comparativo do fibrosamento e a presença das calcificações, relacionando os achados com a idade dos pacientes e com a evolução da cárie.

Por técnicas histoquímicas, tais como: coloração pelo azul de toluidina, Azur I, azul de Alcian, ao lado de técnicas de extração e bloqueio, determinou a ocorrência de mucopolissacarídeos ácidos (M.P.A.) relacionando-a com o fibrosamento pulpar, o tipo de cárie e o aumento da idade dos pacientes.

Nos tecidos pulpaes de dentes atacados por cáries superficiais, médias e profundas, através de técnicas histológicas comuns, (H.F.A.M.), procedeu-se a um estudo da frequência e do tipo do infiltrado inflamatório.

oooOooo



## 6 - CONCLUSÕES

a) o tecido pulpar radicular mostra maior fi  
brosamento com o aumento da idade;

b) o aumento em idade condiciona a evolução  
do processo inflamatório;

c) o fibrosamento pulpar é mais intenso quando  
os dentes estão atacados por cáries médias e profundas;

d) a substância fundamental do tecido pulpar  
participa na formação das fibras de colágeno, integrando-se no fibrosamento do tecido pulpar com o aumento da  
idade;

e) os mucopolissacarídeos ácidos (M.P.A.) con  
centram-se nas regiões de fibrosamento do tecido pul-  
par;

f) na substância fundamental das regiões do  
infiltrado inflamatório, há o desaparecimento dos M.P.  
A., os quais se concentram nos fibrosamentos que cir-  
cundam estas regiões;

g) a ocorrência de radicais sulfatados (áci-  
do condroitinesulfúrico) mostra uma relação com o enve-  
lhecimento e com o fibrosamento, diminuindo com a ida-  
de no tecido pulpar de dentes íntegros e aumentando com  
a idade nos dentes cariados.

ooo0ooo



## 5 - SUMMARY

The author made a histological, histochemical and physical (birefringence) study of the pulpal tissue, making use of 86 pulp of sound and decayed teeth.

By ordinary histological technique (Mason's trichromic) and physical technique (birefringence) utilizing the tissue staining by Mallory's phosphotungstic acid hematoxylin (M.P.A.H.), a comparative study was made of the stringyness and the presence of calcification, comparing the results according to the patient age and the degree of decay lesion.

According to histochemical techniques, such as: staining by toluidine-blue, by Alcian blue, by Azur I, along with metylation and saponification technique it was proved the occurrence of acid mucopolysaccharides (A.M.P.) in relation to the pulpar stringyness, the degree of decay lesion, and the aging of the patient.

In the pulpar tissues of teeth with superficial, medium and deep decays, according to the ordinary histological technique (M.P.A.H.), a study was made of the frequency and type of inflammatory cells.



## 6 - CONCLUSIONS

a) the radicular pulp tissue shows more stringyness as the age increases;

b) the increase in age condicionate the inflammatory process evolution;

c) the pulpar stringyness is more intense when the teeth are attached by medium and deep decays;

d) the fundamental substance of the pulp tissue participates in the formation of collagen fibers, integrating itself in the stringyness process as the age increase;

e) the mucopolysaccharides acids (M.P.A), are concentrated in the stringyness regions of the pulp tissue;

f) in the fundamental substances of the inflammatory regions, the disappearance of the M.P.A. occurs; they will be concentrated in the stringyness sorrounding those regions;

g) the occurence of sulphatated radicals (Chondroitin-sulphuric acid) indicates a relationship both with the stringyness and the age, decreasing with the age in the pulpar tissue for sound teeth, and increasing with the age for decayed teeth.



## 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS \*

- 1- APPLEBAUM, E. - The pulp of lion's canine: Contribution to comparative dental histology. Arch. oral Biol. 7: 245-246, marc.-apr. 1962.
  - 2- ASBOR-HANSEN, G. - Hormonal effects on connective tissue. Reprinted from physiological reviews. 38: 446-462, jul. 1958.
  - 3- BIGNARDI, C. - Evoluzione morfologica e istochimica post-natale nella parotida di alcuni mamiferi. Rev. di Istoch. Normale e Path. 3: 232-254, ag. 1961.
  - 4- BRADFORD, E. W.- The dentine, a barrier to caries. Brit. Dent. J., 109: 387-393, nov. 1960.
  - 5- BREWER, D. B. - Differences in the fine structures of collagen and reticulin as revealed by the polarising microscope. J. Path. Bact. 74: 371-385, 1957.
  - 6- BUDDECKE, E. - Chemical changes in the substance of the vessel wall in arteriosclerosis. J. Athe. Res., 2: 32-46, 1962
  - 7- CABRINE, R. L. - Colagenopatias - folheto p. 25-34. Argentina.
- \* POLAK, M. e MACHADO, S. K. M. - Citações bibliográficas da literatura médica. Rev. do Hosp. das Clínicas. 12: 161-170, 1958.



- 8- Idem, MAISTO, O.A., and MANFREDI. E. E. - Histochemical study of pulp healing. Oral Surg., Oral Med., and Oral Path., 13: 868-869, July, 1960.
- 9- CLAUSEN, B. - Influence of age on connective tissue I Hexosamine and hidroxyproline in human aorta, myocardium and skin. Reprinted from laborat. invest. 11: 229-234, marc. 1962.
- 10- Idem - II Uronic acid and uronic acid-hydroxipoline ratio in human aorta, myocardium and skin. Reprinted from laborat. Invest. 11: 1340-1345, dec. 1962.
- 11- DARUGE, W. e NASCIMENTO, A. -Anatomia pulpar aplicada à endodontia.Public. pelo Centro Acad. 21 de Abril da F.F.O.P., p. 4-5, 1960-1961.
- 12- ENGSTRÖM, H. and ÖHMAN, A. - Studies on the Innervation of human teeth. J. Dent. Res., 39: 799-809, jul. - aug. 1960.
- 13- FULMER, H. M. and ALPHER, N. -Histochemical polysaccharide reactions in human developing teeth. Reprint. Lab. Invest. 7: 163-170, 1958.
- 14- GROSSMAN, L. I. - Tratamento dos canais radiculares Trad. da 2ª ed., de S. Bevilacqua. Rio de Janeiro, Atheneu, 1956. p. 30-67.
- 15- HAUST, M. D. and LANDING, B. H. - Histochemical studies in Hurler's disease: a new method for localization of acid mucopolisaccharide an analysis of lead acetate " Fixation ". J. of



- Histoch. and Cytoch., 9: 79-86, feb.1961.
- 16- HILL, T. J. - Pathology of the dental pulp. J.Amer. Dent. Ass., 21: 820-844, may, 1934.
- 17- IUCIF, S. - Contribuição para a histoquímica da polpa dental do boi. An. Fac. Farm. Odont. Univ. S. Paulo, 16: 179-186, 1959.
- 18- JACKSON, D. S. - Chondroitin Sulphuric acid as a factor in the stability of tendon. Biochem. J. 54: 638-641, 1953.
- 19- JAMES, V. E., SCHOUR, I., and SPENCE, J.M. - Biology of the pulp and its defense. J.A.D.A., 59: 903-911, nov., 1959.
- 20- JOHNSON, P. L. and BEVELANDER, G. -Histogenesis and histochemistry of pulp calcification. J. Dent. Res. 35: 714-722, oct. 1956.
- 21- KAPLAN, D. and MEYER, K. - Mucopolysaccharides of aorta at various ages. Proc. Soc. Exp. - Biol. Med., 105: 78-81, 1960.
- 22- KRONFELD, R. and BOYLE, P.E. - Histologia dos dentes. Tradução da 3ª ed. de Claudio Mello, Rio de Janeiro, Editora Científica, 1955.- p. 105-274.
- 23- LANGERON, M. - Précis de Microscopie: technique, experimentation, diagnostic. 3<sup>e</sup> ed, Paris, - Masson, 1949. p. 643.
- 24- LIEDKE, E. D. - Polpa dentária em parodontopatias. (Relações entre os aspéctos clínicos das



pulpopatias nas parodontopatias). Tese-  
Fac. Odont. de Porto Alegre, U.R.G.S.,

- 25- LILLIE, R.D. -Histopathologic technic and practical histochemistry. N. Y., Blakston Company-Inc., 1954. p. 163.
- 26- Idem, Ibidem. - p. 287.
- 27- Idem, Ibidem. - p. 344-345.
- 28- Idem, Ibidem : - p. 450.
- 29- LISON, L. - Histochimie et cytochimie animales: principes et methodes. 3<sup>e</sup>ed. Paris Gauthier Villars, 1960. vol. 1. p. 273-280.
- 30- Idem, Ibidem. - 280-293.(p.)
- 31- Idem, Ibidem. - p. 301.
- 32- Idem, Ibidem. - vol. II, p. 418-419
- 33- Idem, Ibidem. - p. 743-746.
- 34- Idem, Comunicação pessoal.
- 35- LOVE, R. - Distribution of ribonucleic acid in tumour cells during mitosis. Nature, 180: 1338-1339, dec. 1957.
- 36- LOVE, R. and WALSH, R. J. - Studies of the cytochemistry of nucleoproteins. II Improved staining methods with toluidine blue and ammonium molybdate. J. Histoch. and Cytoch. 11: 188-196, mar. 1963.



- 37- McGLUN'S - Handbook of Microscopical technique.  
3<sup>th</sup> ed, N.Y., Hafner, 1961. p. 283-284.
- 38- McMANUS, J. F. A. and MOWRY, R. W. - Staining methode. Histologic and histochemical. N.Y. Paul B. Hoeber Inc. Medical Division of Harper & Brothers, 1960. p. 19-20.
- 39- Idem, Ibidem. - p. 248-249.
- 40- Idem, Ibidem. - p. 295.
- 41- MILANO, N. F. - Semiologia pulpar. Estudo da correlação entre os diagnósticos clínicos e histopatológicos. Tese - Fac. Odont. de Porto Alegre, U.R.G.S., 1957.
- 42- NASCIMENTO, A. do, BOZZO, L. e DARUGE, W. - Perdas ósseas periodontais: aspéctos anátomo-patológicos topográficos. Rev. An. de Biol. Oral do dept. de Pat. da F.F.O.P., 1: 1-18 1963.
- 43- PEARSE, A. G. E. - Histochemistry, theoritical an aplied. 2<sup>nd</sup> ed, N.Y., J & A. Churchill .. Ltda. 1960. p. 70-73.
- 44- PROPHET, A. S. and MILLER, J. - The effect of caries on the deciduous pulp. Brit. Dent. J. 99: 105-109, aug. 1955.
- 45- QUINTARELLI, G. - Polisaccharide histochemistry of the dental tooth germ. J. Dent. Res., 40: 681-682, jul.-aug. 1961.
- 46- RIZZOLI, C. - Ricerche con l'alcian 8 G. N. sulla



distribuzione dei mucopolisaccaridi nei tessuti animali. Boll. Soc. Ital. Biol. exper. 31: 419-422, maggio, 1955.

- 47- SASSO, W. da Silva - Estudo dos mucopolissacarídeos da zona pellucida dos óvulos de animais de laboratórios dos gêneros: lepus, cebus, canis, felis (felix), cavia, mus e ratus... (mamalia). Tese - Fac. Far., Odont. de São Paulo. U.S.P., 1961. p. 22.
- 48- SHROFF, F. R. - The healing powers of the dental pulp. Oral Surg., Oral Med. and Oral Path. 10: 1249-1256, oct. 1959.
- 49- SNYDER, D. E. and KAUFMAN, I. J. -A review of the dynamis of inflammation as applied to the dental pulp. Oral Surg., Oral Med. and Oral Path., 14: 997-1003, aug. 1961.
- 50- SOEDA, J. - Stopatological study: changes of human dental pulp with advancing age. Bul. Oral Path., 3: 129-131, jun. 1959.
- 51- SOGNAES, R. F. and WISLOCKI, G. B. -Histochemical observations on enamel and dentine undergoing carious destruction. Oral Surg., Oral Med. and Oral Path., 3: 1283-1296. .... oct. 1950.
- 52- STANLEY, H. R. - The factors of age and tooth size in human pulpal reactions. Oral Surg., Oral Med. and Oral Path., 14: 498-502, apr. 1961.



- 53- Idem, - The cells of the dental pulp. Oral Surg. Oral Med. and Oral Path., 7: 849-858, jul. 1962.
- 54- Idem, and RANNEY, R. R. - Age changes in the human dental pulp. The quantity of collagen. Oral Surg., Oral Med. and Oral Path., 15: 1396-1404, nov. 1962.
- 55- THOMAS, B. O. A. - The study of changes in oral tissues associated with aging. J. Amer. Dent. Ass., 33: 207-213, feb. 1946.
- 56- TODESCAN, A, e SASSO, W. da Silva - Estudo da relação histoquímica entre a fosfatase alcalina e os mucopolissacarídeos ácidos na odontogênese do camundongo. An. Fac. Farm. Odont. Univ. S. Paulo. 11: 253-259, 1953
- 57- VIDAL, B. de Campos - Histoquímica das lesões pulpares. IIº Congresso Internacional de Endodontia "Mario Badan". Poços de Caldas, M. Gerais, Brasil. agosto, 1960.
- 58- Idem, - Terapêutica das pulpites em relação com seus aspectos histológicos e histoquímicos. An. IIº Congresso Odont. Paul. São Paulo, Brasil, julho, 1961, Rev. A.P.C.D. 96-97, 1961.
- 59- Idem - Pleochroism in tendon and its bearing to acid mucopolysaccharides. Protoplasma, 56:(4) 529-536, 1963.
- 60- Idem - Aspectos histológicos e histoquímicos -



das calcificações pulpaes ( a ser publicado).

- 61- WISLOCKI, G. B., MARCUS, S. and WALDO, C. - Some histochemical reaction of mucopolysaccharides, lipids and other substances in teeth. Anat. Rec., 101: 487-506, 1948.
- 62- WISLOCKI, G. B. and SOGNAES, R. F. - Histochemical reactions of normal teeth of rat, rhesus, monkey and man. Amer. J. Anat., 87 : 239-263, 1950.
- 63- ZUGIBE, F. T. - The demonstration of the individual acid mucopolysaccharides in human aortas, coronary arteries, and cerebral arteries. I<sup>o</sup> The Methods. J. Histochem. and Cytochem., 10: 441-447, jul. 1962.
- 64- Idem, - II<sup>o</sup> Identification and significance with aging. 10: 448-461, jul. 1962.

ooo0ooo



# ÍNDICE

	Pág.
1- INTRODUÇÃO .....	1
1.1. REVISTA DA BIBLIOGRAFIA .....	1
1.2. FINALIDADE DO TRABALHO .....	3
2- MATERIAL E TÉCNICAS .....	4
2.1. MATERIAL .....	4
2.2. TÉCNICAS .....	5
2.2.1. Técnica da coleta e preparação do material .....	5
2.2.2. Técnica da fixação do material inclusão, cortes, preparações pa- ra colorações .....	8
2.2.3. Técnica para colorações histoló- gicas comuns .....	9
2.2.4. Técnicas histoquímicas para evidenciar os mucopolissacari- deos Ácidos (M.P.A.) .....	9
2.2.5. Técnicas físicas (birrefringência)..	11
2.2.6. Classificação do fibrosamento .....	11
2.2.7. Determinação da frequência do infiltrado inflamatório do te- cido pulpar de dentes cariados .....	12
3- RESULTADOS .....	13
3.1. RESULTADOS OBTIDOS COM O EMPRÊGO DE TÉCNICAS HISTOLÓGICAS COMUNS .....	20
3.2. RESULTADOS OBTIDOS COM O EMPRÊGO DE TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS .....	29
3.2.1. Metacromasia a) Azul de toluidina - pH 4,1 .....	29
3.2.1. Metacromasia b) Azul de Toluidina - pH 7,1 - 2,5 .....	32
3.2.2. Basofilia - Azur I .....	33
3.2.3. Azul de Alcian .....	37
3.3. RESULTADOS OBTIDOS COM O EMPRÊGO DE TÉCNICA FÍSICA (Birrefringência) .....	40



	Pág.
4- DISCUSSÃO .....	42
4.1. DISCUSSÃO DAS TÉCNICAS DE FIXAÇÃO .....	42
4.1.1. Fixação para técnicas histo lógicas comuns .....	42
4.1.2. Fixação para técnicas histo químicas .....	43
4.2. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS HISTOLÓGI COS COMUNS .....	45
4.3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS HISTOQUÍ MICOS .....	47
4.4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS DA BIRRE FRINGÊNCIA .....	51
5- RESUMO .....	52
6- CONCLUSÕES .....	53
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54

ooo0ooo



# ERRATA

<u>Pagina</u>	<u>Linha</u>	<u>Onde se lê</u>	<u>Leia-se</u>
2	2	Cabrine publicou	Cabrine et aliipublicaram
3	1	condroitinesulfúrico	condroitinosulfúrico
3	16	condroitin-sulfato	condroitinosulfato
18	<u>Quadro X</u>	<u>Onde se lê</u>	

AZUR I - pH 2,0 ————— 4,1						
Ort. (+)	Ort. (+)	Ort. (+)	Ort. (+)	Ort. (+)	Metila	Metil. (+)
Met. (-)	Met. (-)	Met. (-)	Met. (-)	Met. (-)	ção	Saponif.
pH. 2,0	pH. 2,5	pH. 3,0	pH. 3,5	pH. 4,0	pH. 4,1	Ort. (+) Met. (+)

Leia-se

19 Quadro XI

Onde se lê

A Z U R - I						
Ort. (+)	Ort. (+)	Ort. (+)	Ort. (+)	Ort. (+)	Metila	Met. Sapon.
Met. (-)	Met. (-)	Met. (-)	Met. (-)	Met. (-)	ção	Ort. Met.
pH 2,0	pH 2,5	pH. 3,0	pH. 3,5	pH. 4,0	pH. 4,1	pH. 4,1

Leia-se

20	18 (Quadro I)	(Quadro I-
29	12 (Quadro V)	
50	8	
	12	
	17 condroitinesulfúrico	condroitinosulfúrico
51	6 condroitinesulfúrico	condroitinosulfúrico
52	1 faz	fêz
53	21 condroitinesulfúrico	condroitinosulfúrico
54	18 in the substance	in the ground substance
56	19 Kronfeld and Boyle	Kronfeld e Boyle
60	2 7:	15: