

MIGUEL MORANO JUNIOR
Cirurgião Dentista

EFEITOS DA EXTIRPAÇÃO BILATERAL DAS GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES E SUBLINGUAIS NOS AMELOBLASTOS E ODONTOBLASTOS DE MOLARES DE RATOS JOVENS

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do Grau de Doutor
em Ciências. (Odontopediatria)

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

BIBLIOTECA

T269

Piracicaba, SP
1976

Aos

meus pais, pelo sacrifício dispendido para a minha formação, a mais sincera gratidão;

à

minha irmã e cunhado, pela amizade e consideração que nunca faltaram;

aos

jovens de minha Comunidade, pelo testemunho e apoio constantes,

Dedico este trabalho.

Aos Professores:

Doutor DÉCIO TEIXEIRA, responsável pelas disciplinas de Fisiologia, Biofísica e Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da UNICAMP, mestre e amigo, que, pela sua sábia orientação, tornou possível a execução desse trabalho;

Doutor MÁRIO ROBERTO VIZIOLI, da disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, pela realização da parte histológica, revisão deste trabalho e pelo estímulo e incentivo, sem os quais - este trabalho não seria concluído,

nossos sinceros agradecimentos.

Agradecemos ainda:

Ao

Professor Doutor JOSÉ MERZEL, DD. Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da UNICAMP, por colocar à nossa disposição os meios necessários à elaboração deste trabalho;

Ao

Professor Doutor ANTÔNIO CARLOS NEDER, DD. Diretor Associado da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da UNICAMP, pela confiança em nós depositada;

Ao

Professor Doutor RENÉ GUERRINI, Chefe do Departamento de Odontologia Infantil e Responsável pela Disciplina de -- Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da UNICAMP, pela compreensão e apoio que nunca faltaram;

Ao

Professor Doutor MANOEL CARLOS MULLER DE ARAÚJO, pela oportunidade que nos proporcionou de ingressar na carreira -- universitária, e pela maneira especial com que nos considera;

Ao

Professor Doutor MYAKI ISSAO, pelas sugestões, estímulo e incentivo, e pela amizade inestimável com que nos distingue;

Ao

Professor Doutor MUSTAFÁ MOHAMED EL-GUINDY, pela preciosa colaboração e amizade que sempre nos dedicou;

Ao

Professor Doutor SIMONIDES CONSANI, amigo e incentivador, pelo apoio recebido;

Aos

Colegas da Disciplina de Odontopediatria, Dra. Clotildes Fernandes Peters, Dr. Antônio Carlos Usberti e Dr. José - Rensi, pelo clima de amizade no qual convivemos;

A

Senhora Ivany do Carmo Guidolin Gerola, pela revisão da - pesquisa bibliográfica;

Ao

Sr. Celso Murback, técnico de laboratório das disciplinas de Fisiologia e Biofísica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela colaboração na parte experimental;

Ao

Sr. Paulo Amaral, técnico de laboratório do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela preparação da parte histológica;

Aos

amigos Paulo, Henriqueta e Sérgio, pela inestimável colaboração e incentivo;

A

todos aqueles que, direta ou indiretamente, possibilitaram a realização deste estudo.

C O N T E Ú D O

	Pag.
1..INTRODUÇÃO	10
2. REVISTA DA LITERATURA	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 - Técnica cirúrgica	24
3.2 - Procedimento histológico	25
4. RESULTADOS	28
4.1 - Grupo de Filhotes Sialoadenectomizados de - Mães Normais (NS)	28
4.2 - Grupo de Filhotes Normais de Mães Sialoadenectomizadas (SN)	30
4.3 - Grupo de Filhotes Sialoadenectomizados de - Mães Sialoadenectomizadas (SS)	36
5. DISCUSSÃO	42
6. CONCLUSÕES	48
7. RESUMO	50
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

As informações sobre o mecanismo da formação dental são escassas, especialmente quando comparadas com as obtidas através de observações sobre a erupção, e não apresentam explicações conclusivas, que poderiam ser melhor compreendidas através de estudos mais detalhados da odontogênese.

Numerosos investigadores têm procurado estudar a odontogênese no ser humano e em animais, o que possibilitou o conhecimento de suas diversas fases e os fatores que a influenciam, bem como os determinantes do processo eruptivo (SCHOUR³⁰, 1940; O'BRIEN, BHASKAR & BRODIE¹⁹, 1958; GARN, LEWIS & BLIZZARD¹¹, 1965).

A utilização de animais recém-nascidos possibilita o estudo de estágios precoces do desenvolvimento dental. No rato albino, apesar da coroa do germe do 1º molar estar parcialmente formada ao nascer, só estará completa aos 10-12 dias. No 3º molar, porém, ao nascimento, existe apenas o botão epitelial, sugerindo que o estudo da histofisiologia deva ser efetuado, preferencialmente, a partir desta fase.

Em estudos experimentais, o molar de rato oferece vantagens sobre o incisivo, não só pela semelhança histológica e fisiológica com molares humanos, como também pe

la permanência por um tempo maior do esmalte e dentina no processo da erupção do dente (SCHOUR & MASSLER³¹, 1963).

Entretanto, os diversos fatores biológicos que, eventualmente, possam participar da odontogênese ainda carecem de melhores esclarecimentos.

Alguns investigadores procuraram relacionar a participação de diversas glândulas endócrinas no mecanismo do desenvolvimento dental. Desse modo, ZISKIN, SOLMON & APPLEBAUN³⁶ (1940), analisando o efeito da tiroparotidectomia em ratos recém-nascidos, observaram um considerável retardo na erupção e no desenvolvimento da dentina e raízes dos molares, que foram restaurados quando tratados pela -- combinação de ambos hormônios.

Relacionando o crescimento dental e erupção dos dentes, em animais hipofisectomizados, BAUME, BECKS, RAY & EVANS³ (1954) observaram disgenesia do epitélio interno do esmalte com aplasia do esmalte, distúrbios da calcificação do manto de dentina e agenesia dos odontoblastos.

Em concordância com estes achados, GARREN & -- GREEP¹² (1955) notaram também uma interação dos hormônios produzidos pela tireóide e o desenvolvimento dental.

Alguns estudos sugerem que os glicocorticóides provocam alterações dos tecidos dentários.

GOLDSMITH & ROSS¹⁴ (1956) verificaram, em ani-- mais tratados com cortisona durante 10 dias, acelerada diferenciãçã da camada odontoblástica, porosidade dentiná--

ria e maior desenvolvimento dental. Entretanto, nos primeiros molares inferiores de ratos tratados com cortisona, do 21º dia de vida ao 41º, foi verificada uma marcada diminuição na deposição dentinária (JOHANNESSEN¹⁶, 1964).

Por outro lado, desde os trabalhos de OGATA²⁰ (1944) e ITO¹⁵ (1960), as glândulas salivares, através da secreção de um princípio ativo, denominado Parotin, têm sido consideradas por diversos pesquisadores como órgão endócrino, que atuaria promovendo aumento da velocidade de calcificação de dentes, ossos longos, estimulando o tecido conjuntivo e órgãos hematopoiéticos.

Assim sendo, alguns estudos foram realizados -- procurando relacionar as funções das glândulas salivares -- no desenvolvimento dos tecidos duros. FLEMING¹⁰ (1963), analisando o efeito da administração do Parotin no crescimento dos órgãos dentários, constatou a presença de vacúolos intercelulares na camada de ameloblastos, o que, entretanto, não foi encontrado na camada odontoblástica; verificou também, um considerável aumento da vascularização e da formação dentinária.

GERSTNER, FLON & BUTCHEN¹³ (1963), estudando a secreção salivar de fetos de ratos, chegaram à conclusão -- que, à partir do 17º dia de vida intra-uterina, as glândulas sublinguais e submandibulares já apresentam atividade funcional secretória.

Desse modo, o papel exercido pelas glândulas sa-

livares durante o processo da odontogênese, embora constando na literatura, ainda carece de maiores informações, -- principalmente no que tange ao mecanismo através do qual -- as mesmas participam no processo da formação dentária.

Tendo em vista o estado atual da questão, propõe-se, nesta pesquisa, efetuar um estudo comparativo entre as camadas ameloblástica e odontoblástica de ratos jovens, desprovidos de suas glândulas submandibulares e sublinguais aos 8 dias de idade, e de outros animais nas mesmas condições, sem, entretanto, sofrer qualquer procedimento cirúrgico.

Sabendo-se que a histodiferenciação ameloblástica do primeiro molar de rato inicia-se aos vinte dias de vida intra-uterina, e com base nas informações segundo as quais as glândulas submandibulares e sublinguais apresentam uma atividade secretória funcional a partir do 17º dia de vida intra-uterina, parece importante estudar os efeitos da sialoadenectomia materna sobre o desenvolvimento -- dos processos da formação dentária dos filhotes. Assim -- propõe-se estudar também as camadas ameloblástica e odontoblástica de filhotes que não sofreram qualquer tratamento experimental, porém cujas as mães foram submetidas à extirpação bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais, cinco dias antes do acasalamento.

A fim de analisar o efeito cumulativo da ausência das glândulas submandibulares e sublinguais, propõe-se

ainda estudar o processo da odontogênese em ratos filhotes de mães sialoadenectomizadas, os quais serão submetidos à extirpação de suas glândulas submandibulares e sublinguais aos 8 dias de idade.

2. REVISTA DA LITERATURA

2. REVISTA DA LITERATURA

O desenvolvimento dos primeiros molares, segundo O'BRIEN et alii¹⁹ (1958), é iniciado aos 13 dias de vida intra-uterina. Entre o 20º e 21º dia de vida intra-uterina, o epitélio do esmalte diferencia-se em ameloblastos, e as células do tecido conjuntivo adjacente formam odontoblastos; paralelamente, ocorre a formação de dentina. Aos 3 dias pós-nascimento, nota-se o início da formação do esmalte.

Os dentes apontam no epitélio oral cerca de 17 dias após o nascimento, e entram em oclusão funcional aos 23 dias. As raízes se completam com 30 dias de vida extra-uterina.

Os numerosos trabalhos encontrados na literatura revelam papel de fundamental importância exercido pelos hormônios no mecanismo de erupção dentária; assim, BAUME et alii^{2,3,4} (1954) concluíram que a erupção dos dentes em ratos é orientada pelo sinergismo dos hormônios de crescimento, que estimula os processos básicos do crescimento, e a tiroxina, que controla a diferenciação tecidual. Segundo estes autores, os animais desprovidos da hipófise ou da tireóide, quando submetidos a terapêutica substitutiva, revelavam resultados que se aproximavam dos grupos controles.

Reforçando estes dados, GARREN & GREEP¹² (1955) relataram que a tiroxina é um fator limitante no crescimento dentário normal.

Os efeitos dos hormônios anabolizantes sobre a erupção dos molares, crescimento dos incisivos e o peso corporal de ratos, foram estudados por PINHEIRO & MADEIRA²⁵ (1965), que mostraram as ações dos hormônios de crescimento e da testosterona, acelerando o processo eruptivo dos terceiros molares e incisivos.

A participação hormonal no crescimento dentário foi mais uma vez constatada por GARNY et alii¹¹ (1965), os quais relataram um marcado retardo do desenvolvimento dentário e esquelético em indivíduos com hipopituitarismo e hipotireoidismo.

O envolvimento dos outros hormônios no mecanismo de erupção dentária também foi relatado na literatura por SCHNEIDER, HOLLINS HEAD & LIZZACK²⁹ (1972), que observaram uma erupção precoce dos molares de camundongos, após a administração diária de paratormônio.

PAVARINI²⁴ (1971), estudando a influência do "stress", produzido através de alterações súbitas de temperatura, observou uma aceleração significativa na erupção dos terceiros molares, enquanto os incisivos não mostraram qualquer alteração no tratamento.

A correlação entre as glândulas salivares e outras glândulas endócrinas foi descrita por OGATA²¹ (1955),

que constatou uma hipoplasia das células acidófilas da adenó-hipófise nos casos de hipersialoadenismo; fenômeno -- oposto foi verificado em ratos sialoadenectomizados. O mesmo autor revelou ainda uma interação entre as glândulas tireóide e salivares, através da hiperfunção tireoidiana -- em ratos privados de suas glândulas salivares.

A mesma interação também foi relatada por WASE & FENG³⁴ (1956) e NISHIMURA¹⁸ (1965); este último autor concluiu ainda que o hormônio produzido pelas glândulas salivares poderia mimetizar os efeitos da ausência das glândulas paratireóides sobre o crescimento de ratos, quando administrado em grandes quantidades.

A correlação entre as glândulas salivares e outros órgãos endócrinos envolvidos no mecanismo da formação dentária, e a função endócrina exercida pelas glândulas salivares relatada por vários pesquisadores, sugerem uma possível influência dessas glândulas no processo de desenvolvimento dentário. Aliás, esta hipótese foi aventada por SATO²⁸ (1953) e OGATA²¹ (1955).

SATO²⁸ (1953) demonstrou que o Parotin, em pequenas doses, acelera a calcificação de ossos e dentina. OGATA²¹ (1955) estudou o efeito do Parotin sobre o desenvolvimento dos tecidos duros, e concluiu que esse princípio ativo acelera o crescimento e induz uma queda nos níveis de cálcio sérico.

Algumas alterações na formação dentária de ca--

mundongos tratados com Parotin foram relatadas também por FLEMING⁹ (1959) que, utilizando doses de 0,15 e 0,30 mg -- por animal a cada três dias, constatou várias diferenças -- na zona secretora do esmalte dos incisivos inferiores, formação de ameloblastos com citoplasma granular, aumento da vascularidade da área e má formação da matriz proteica.

Os efeitos hormonais do Parotin foram bastante estudados por ITO¹⁵ (1960), que analisou as propriedades -- estruturais e funcionais dessa substância, chegando à conclusão que se tratava, efetivamente, de um hormônio secretado pelas glândulas salivares. Na sua ampla investiga--ção, este autor verificou uma aceleração da dentina imedia--tamente após a administração de uma dose de 0,01 mg de parotin por quilograma de peso corporal em coelhos. O au--mento da dose para 0,1 mg por quilo de peso, não revelou -- os mesmos resultados, mostrando que doses excessivas desse hormônio podem produzir efeitos opostos.

Essa observação de ITO¹⁵ (1960) pode explicar -- os resultados aparentemente discrepantes de QUINTARELLI²⁶ (1960) que, aplicando uma dose de 30 mg de Parotin por qui--lograma de peso corporal em camundongos, não observou alte--rações hipertróficas em cartilagens, ossos e dentes.

A hipofunção das glândulas salivares promove -- uma diferenciação irregular dos ameloblastos e odontoblas--tos, portanto o hipersialoadenismo causa um aumento do -- crescimento ósseo e dentário e o asialoadenismo prejudica

a calcificação e vascularização dos maxilares e dentes (SILVERO & DAL MASO³², 1963). Resultados semelhantes foram obtidos por RACZEWSKI²⁷ (1968) e YAMANE³⁵ (1972).

Estudando os efeitos da sialoadenectomia sobre o desenvolvimento crânio-visceral de ratos jovens, TEIXEIRA, RAMALHO, DELLA PIAZZA & PAIVA³³ (1973) concluíram que esse desenvolvimento foi significativamente menor nos animais sialoadenoprivos quando comparados com seu grupo controle.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se, no presente trabalho, vinte ratas primíparas (Rattus norvegicus, Albinus, Wistar), com peso variando entre 180 e 220 gramas, alimentadas antes e depois do experimento, com ração balanceada padrão e água "ad libitum".

As ratas foram divididas em dois grupos, sendo dez mantidas em condições normais e dez submetidas à extirpação bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais. O acasalamento de todos os animais foi efetuado no quinto dia de pós-operatório do segundo grupo.

Para o acasalamento, os animais foram colocados em gaiolas, dois a dois, utilizando-se um macho para cada duas fêmeas. O controle da fecundação foi feito diariamente, e, uma vez constatada a inseminação das fêmeas, os machos foram retirados.

No décimo nono dia de gestação, as fêmeas foram transportadas para gaiolas individuais.

Após o nascimento dos filhotes, foram separadas as fêmeas e os machos, sendo que para o experimento foram utilizados apenas os filhotes machos, dos quais foram selecionados vinte e quatro de mães normais e vinte e quatro de mães sialoadenectomizadas.

Os filhotes selecionados, alimentados exclusi-

vamente com leite materno, foram divididos nos seguintes grupos (tabela I):

Grupos de Mães	I. CONTROLE		II. SIALOADENECTOMIA	
Filhotes				
Tratamento	I ₁	I ₂	II ₁	II ₂
Sialoadenectomia		+		+

Mães normais:

Grupo I₁ - constituído de doze filhotes, que não sofreram qualquer tipo de intervenção, os quais foram utilizados como controle;

Grupo I₂ - composto de doze filhotes que sofreram a extirpação bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais no oitavo dia de vida extra-uterina.

Mães Sialoadenectomizadas:

Grupo II₁ - Formado por doze filhotes, que não sofreram nenhum procedimento cirúrgico;

Grupo II₂ - Constituído de doze filhotes, que sofreram a remoção bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais no oitavo dia de idade.

3.1 - Técnica Cirúrgica:

Todos os animais submetidos à sialoadenectomia, foram anestesiados por éter sulfúrico vaporizado numa campânula de vidro e, logo a seguir, colocados em decúbito dorsal numa prancha cirúrgica, sendo fixadas as patas dianteiras e traseiras, assim como a cabeça.

Após este procedimento, foi feita a depilação e anti-sepsia do campo operatório. Na linha médio-ventral da região do pescoço, com o auxílio de tesouras e pinças de microdissecção, foram feitas incisões e divulgação dos tecidos, expondo e extirpando-se, bilateralmente, as glândulas submandibulares e sublinguais, tomando-se os devidos cuidados cirúrgicos para não lesar os gânglios linfáticos e vasos sanguíneos da região. Uma vez concluída a cirurgia, o retalho foi recolocado e suturado.

Após a cirurgia, os animais dos vários grupos

pertencentes à mesma ninhada, foram mantidos com as respectivas mães até à época do sacrifício.

O sacrifício dos animais obedeceu o seguinte critério: dois filhotes de cada grupo foram sacrificados por decapitação, diariamente, a partir do nono até o décimo quarto dia de idade. Em seguida, procedeu-se à retirada das mandíbulas de cada animal para estudos histológicos.

3.2 - Procedimento Histológico:

As mandíbulas dos animais foram dissecadas, retirando-se os tecidos moles envolventes. As peças foram colocadas em formol neutro a 10%, durante vinte e quatro horas, à temperatura ambiente, para fixação. A seguir, as peças foram lavadas em água corrente e colocadas em ácido tricloroacético a 5%, durante cinco dias.

Após a descalcificação, as peças foram incluídas em parafina, seguindo-se a técnica de rotina, obtendo-se cortes histológicos em série, com 7 micra de espessura. A coloração das lâminas foi realizada por meio da hematoxilina e eosina.

Para a identificação dos cortes histológicos usou-se as seguintes siglas:

Siglas

Filhotes normais de mães normais	NN
Filhotes sialoadenectomizados de mães normais	NS
Filhotes normais de Mães sialoadenectomizadas	SN
Filhotes sialoadenectomizados de mães sialoadenec- tomizadas	SS

Foi utilizado um índice de 1 a 6 correspondente ao nono até o 14º dia de vida respectivamente.

As observações dos cortes histológicos foram feitas por meio do fotomicroscópio "Zeiss Pol II", através do qual foram obtidas as fotomicrografias.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

Para melhor compreensão dos resultados obtidos, inseriu-se neste capítulo as fotomicrografias obtidas das camadas odontoblástica (Fig. 1) e ameloblástica (Fig. 2) - de molares de ratos do grupo NN, que servirão como padrão normal para observações comparativas.

4.1 - Grupo de Filhotes Sialoadenectomizados de Mães -- Normais (NS):

Os estudos histológicos realizados nos cortes - obtidos dos ratos sialoadenectomizados de mães normais, -- apresentaram diferenças acentuadas em relação do grupo con- trole (filhotes normais de mães normais).

Essas diferenças iniciaram-se aos 10 dias de -- idade, ou seja, no segundo dia de pós-operatório. Nesses animais, observou-se a presença de vacúolos intracitoplas- máticos e espaços intercelulares aumentados na camada odo- noblástica (Fig. 3), enquanto a camada ameloblástica não - revelou nenhuma alteração.

As alterações observadas na camada odontoblásti- ca foram acentuando-se gradativamente. Assim, a desorga- nização morfológica apresentou características progres- --

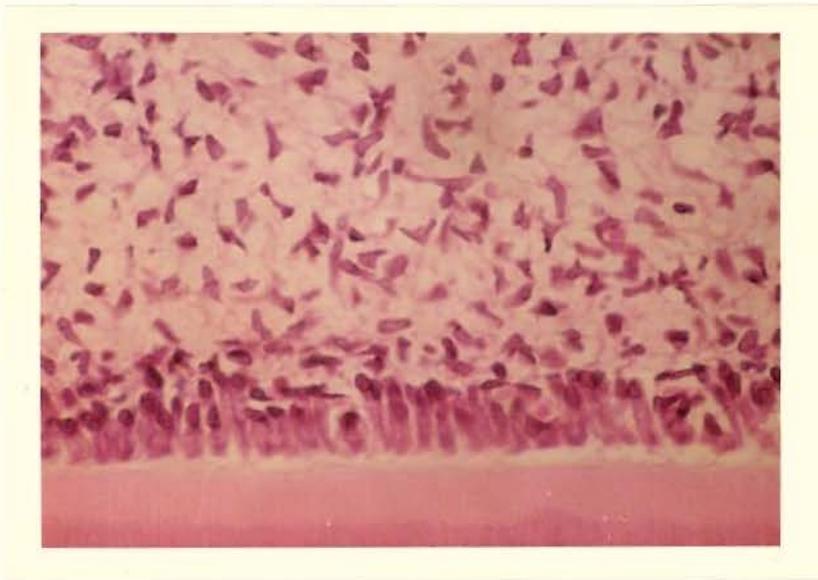


Fig. 1 - Camada odontoblástica de molar de rato do grupo NN, aos 11 dias de idade (controle). H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

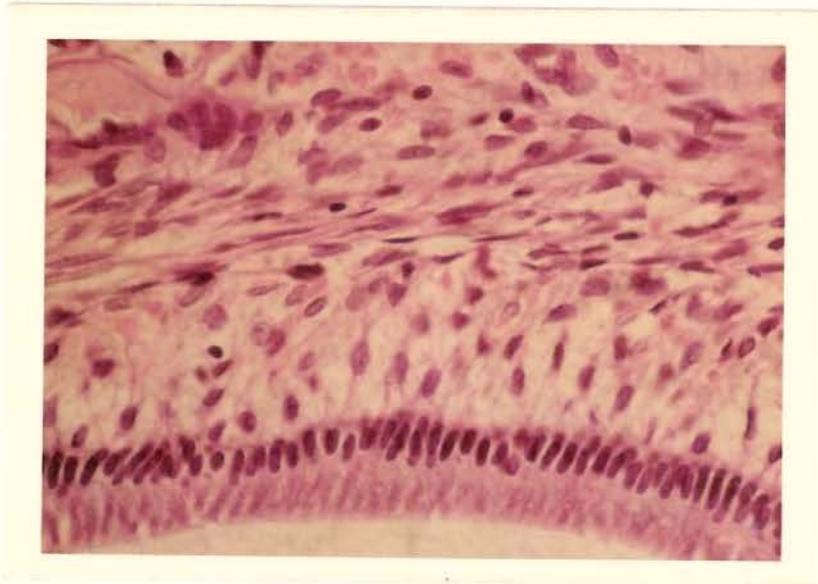


Fig. 2 - Camada ameloblástica de molar de rato do grupo NN, aos 11 dias de idade (controle). H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

sivas, atingindo níveis marcantes nos animais com quatorze dias de idade (Fig. 4).

A camada ameloblástica mostrou-se, também, afetada pela extirpação das glândulas submandibulares e sublinguais. As alterações observadas nessa camada foram iniciadas no décimo primeiro dia de vida extra-uterina, apresentando modificações citoplasmáticas caracterizadas pela presença de vacúolos e espaços intercelulares aumentados, bastante acentuadas (Fig. 5). As diferenças verificadas na camada ameloblástica obedeceram à mesma ordem progressiva estabelecida na camada odontoblástica. Portanto, a vacuolização e o espaçamento intercelular encontrados no décimo primeiro dia de vida acentuaram-se gradativamente nos animais com doze e treze dias de vida, atingindo um estado de vacuolização extremamente evidenciado, surgindo, ainda, alterações celulares ainda mais graves nos animais sacrificados no décimo quarto dia de vida (Figs. 6, 7 e 8).

4.2 - Grupo de Filhotes Normais de Mães Sialoadenectomizadas (SN):

As alterações observadas nos cortes histológicos dos animais desse grupo obedeceram uma ordem inversa daquela observada no grupo anterior (filhotes sialoadenectomizados de mães normais). Assim, a camada odontoblástica

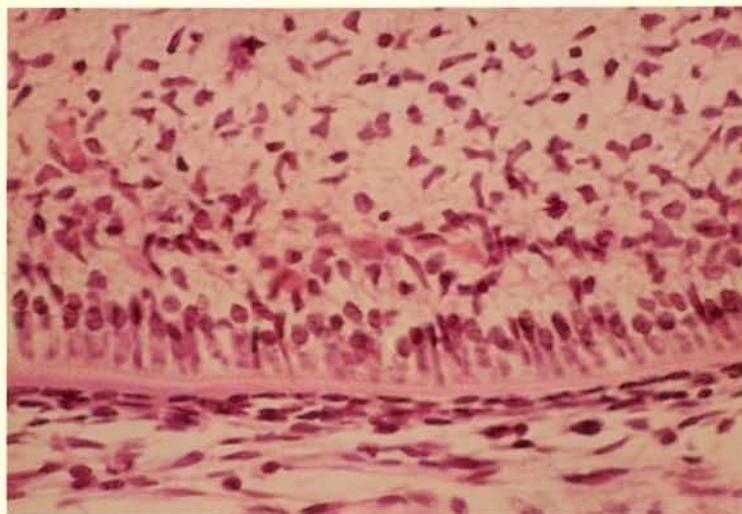


Fig. 3 - Camada odontoblástica de molar de rato do grupo NS, aos 10 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

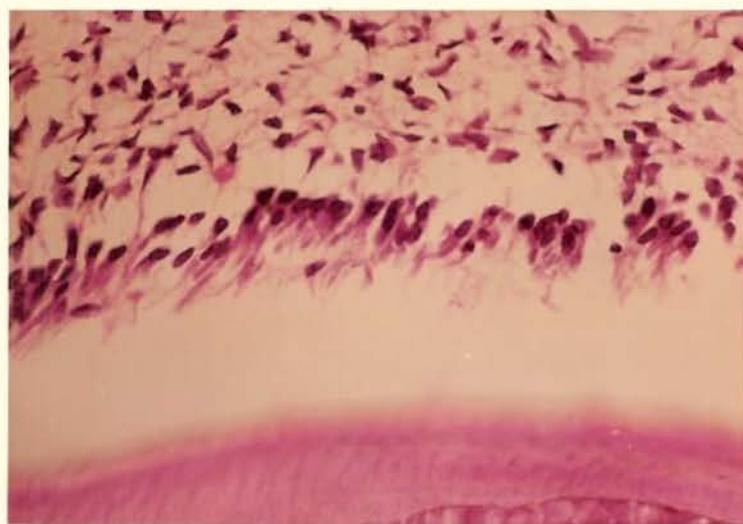


Fig. 4 - Camada odontoblástica de molar de rato do grupo NS, aos 14 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

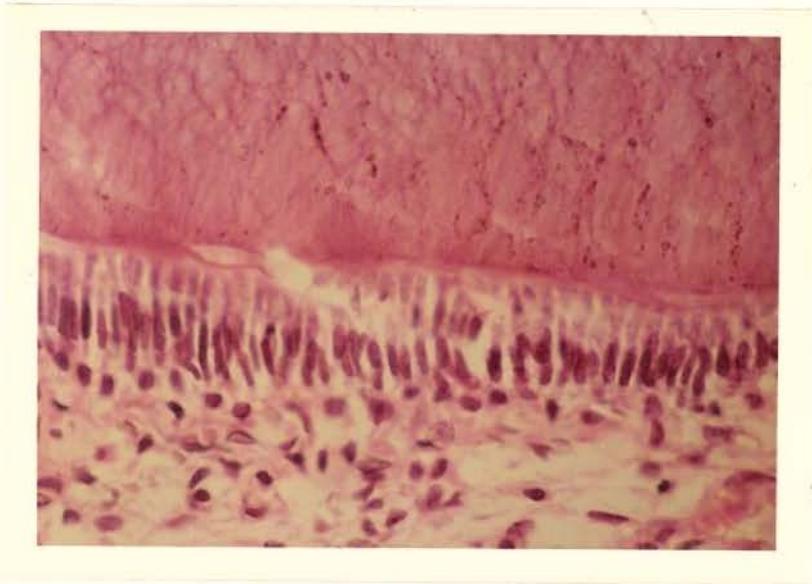


Fig. 5 - Camada de ameloblastos de molar de rato do grupo NS, aos 11 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

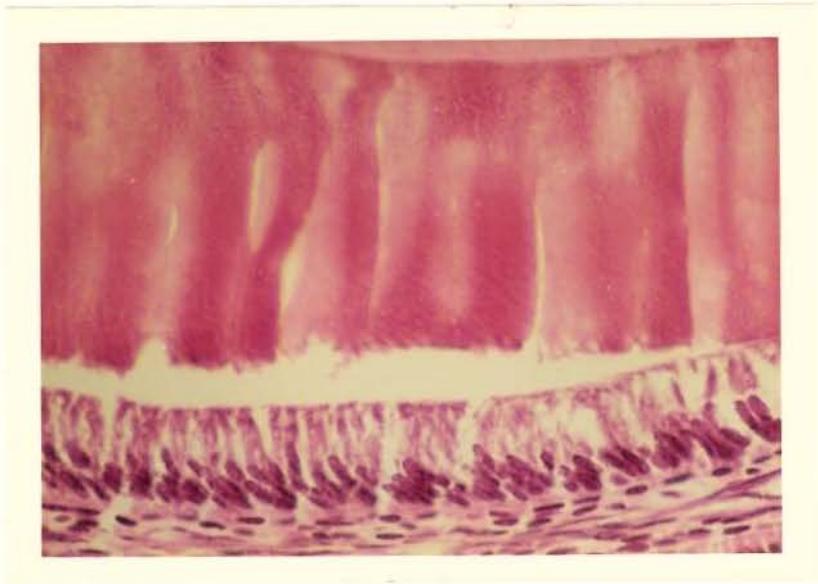


Fig. 6 - Camada de ameloblastos de molar de rato do grupo NS, aos 12 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

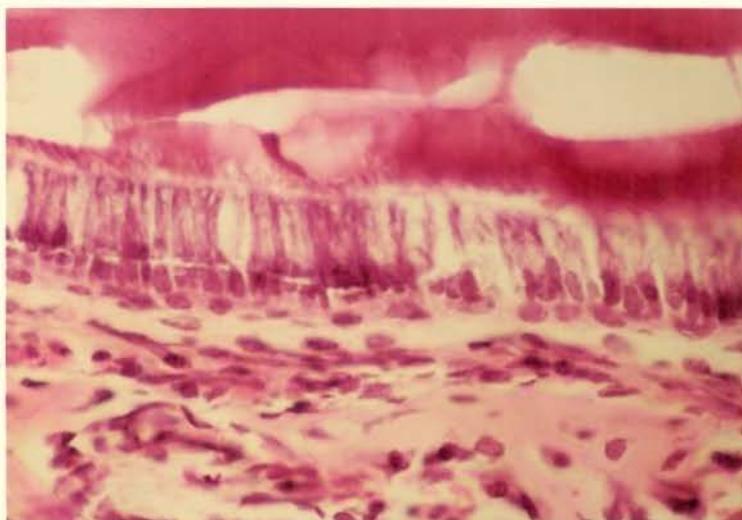


Fig. 7 - Camada de ameloblastos de molar de rato do grupo NS, aos 13 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

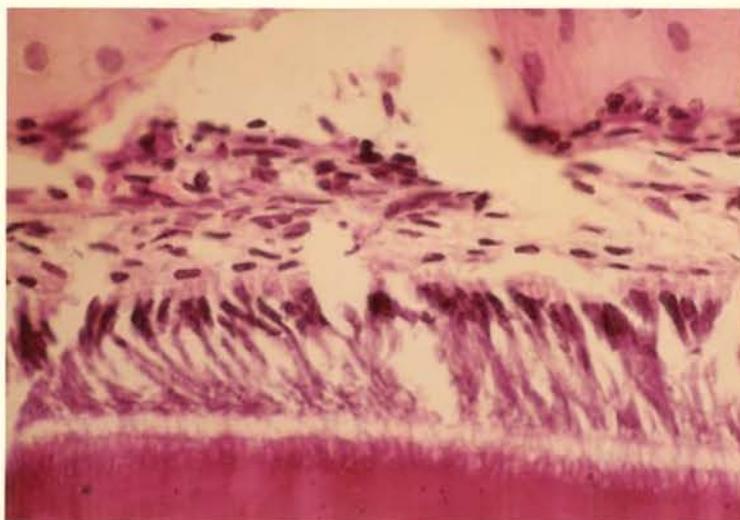


Fig. 8 - Camada de ameloblastos de molar de rato do grupo NS, aos 14 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

ca dos ratos sacrificados aos nove dias de vida apresentaram diferenças acentuadas em relação ao seu grupo controle (Filhotes normais de mães normais)(Fig. 9).

A camada odontoblástica dos dentes desses animais exibiu uma vacuolização intracitoplasmática marcante. Observou-se que essas alterações apresentavam um processo de regressão gradativo a partir do terceiro dia de pós-operatório, tendo esses animais apresentado uma camada odontoblástica com alterações menos severas, onde as células mostraram uma disposição melhor ordenada, embora notando-se o aspecto de vacuolização intracitoplasmático.

Esse processo de recuperação evidenciou-se mais ainda nos cortes histológicos obtidos de animais com treze dias de vida extra-uterina, sendo que a recuperação dos odontoblastos nesses animais mostrou-se através da organização da dentina de uma maneira aproximadamente normal.

Já nos animais com quatorze dias de idade não se verificou nenhuma das alterações citadas anteriormente, apresentando-se a camada odontoblástica compacta, bem ordenada e de imagem relativamente normal (Fig. 10).

O processo de recuperação gradativo observado nas camadas odontoblásticas dos animais desse grupo foi também verificado nas camadas ameloblásticas dos mesmos animais. A vacuolização intracitoplasmática e os espaçamentos intercelulares, claramente observados nos animais sacrificados no primeiro e segundo dias de pós-operatório, foram regredindo gradativamente, sendo que, nos animais --

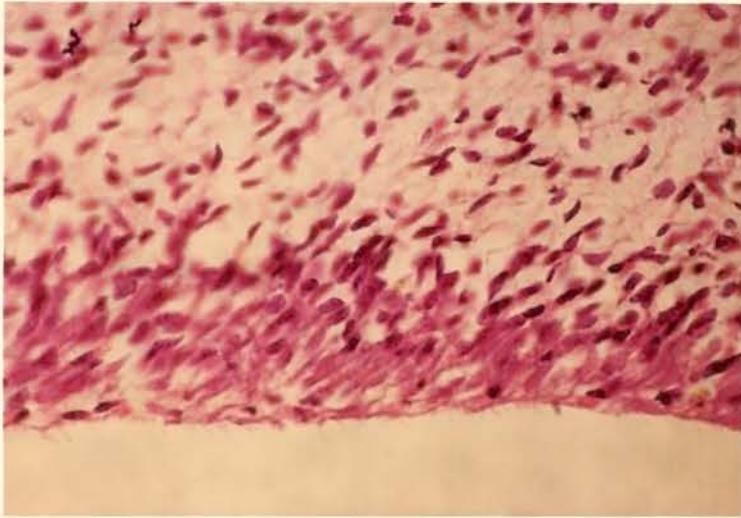


Fig. 9 - Camada de odontoblastos de molar de rato do grupo SN, aos 9 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

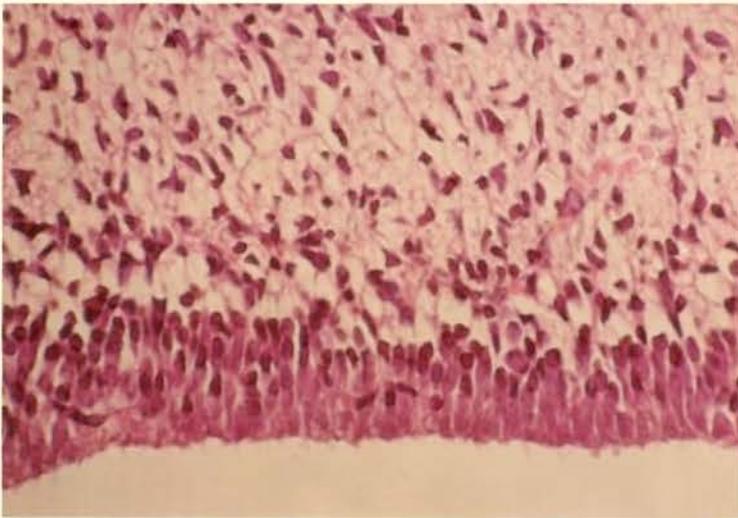


Fig. 10 - Camada de odontoblastos de molar de rato do grupo SN, aos 14 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

com onze dias de idade, a camada ameloblástica, de uma maneira geral, pareceu mais organizada que nos cortes histológicos anteriores.

Essas alterações tornaram-se bem menos acentuadas nas camadas ameloblásticas com treze e quatorze dias de vida (Fig. 11), adquirindo estas um aspecto relativamente normal.

4.3 - Grupo de Filhotes Sialoadenectomizados de Mães Sialoadenectomizadas (SS):

As observações microscópicas dos cortes obtidos desses animais mostraram alterações bastante evidenciadas, quando comparadas com o seu respectivo grupo controle.

As células da camada odontoblástica dos animais com nove dias de idade apresentaram vacuolizações bem acentuadas, espaçamentos intercelulares e distorções celulares severas (Fig. 12).

Essas alterações, embora graves nos animais sacrificados nos primeiros e segundos dias de pós-operatório, foram agravando-se ainda mais, obedecendo a uma seqüência progressiva, atingindo-se um estado altamente desorganizado nos animais com quatorze dias de idade (Fig. 13).

A camada ameloblástica apresentou uma seqüência semelhante. Os cortes obtidos dos animais sacrificados

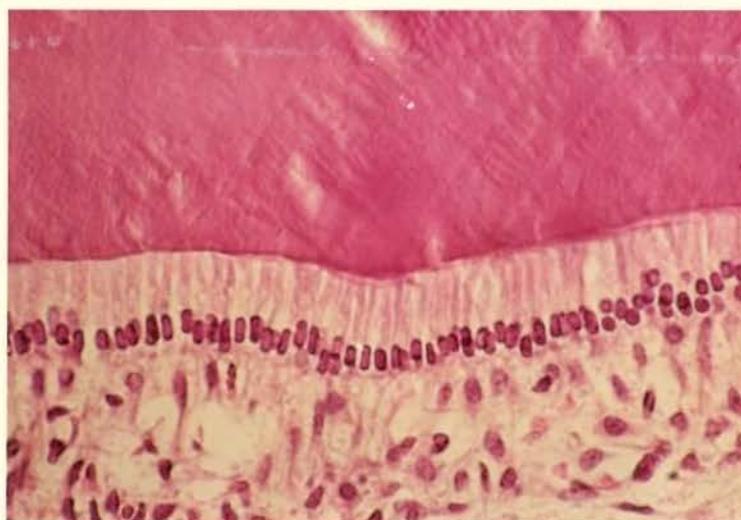


Fig. 11 - Camada ameloblástica de molar de rato do grupo SN, aos 14 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

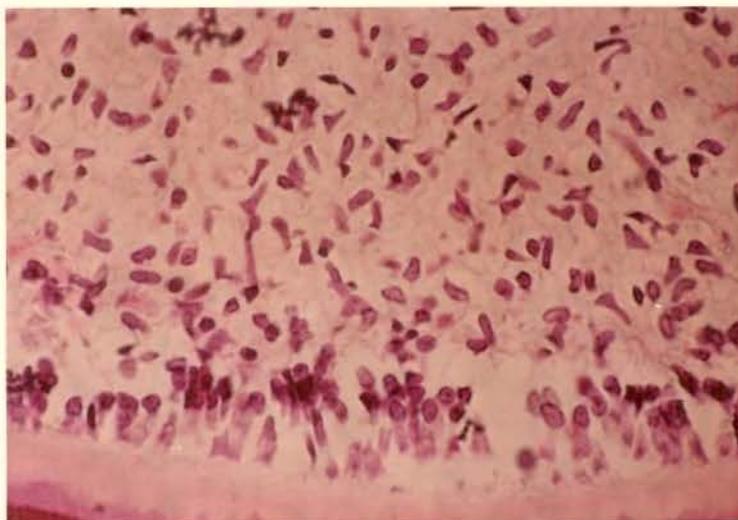


Fig. 12 - Camada odontoblástica de molar de rato do grupo SS, aos 9 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

aos nove dias de idade apresentaram a camada ameloblástica com células dispostas de maneira desorganizada, com desvios acentuados da normalidade (Fig. 14). A vacuolização citoplasmática e a desorganização celular foram agravando-se nos animais com 10, 11, 12 e 13 dias de idade. A camada ameloblástica, nos animais com quatorze dias de idade, apresentou alterações marcantes, caracterizadas pelo maior número de vacúolos citoplasmáticos e alterações acentuadas na disposição celular (Fig. 15).

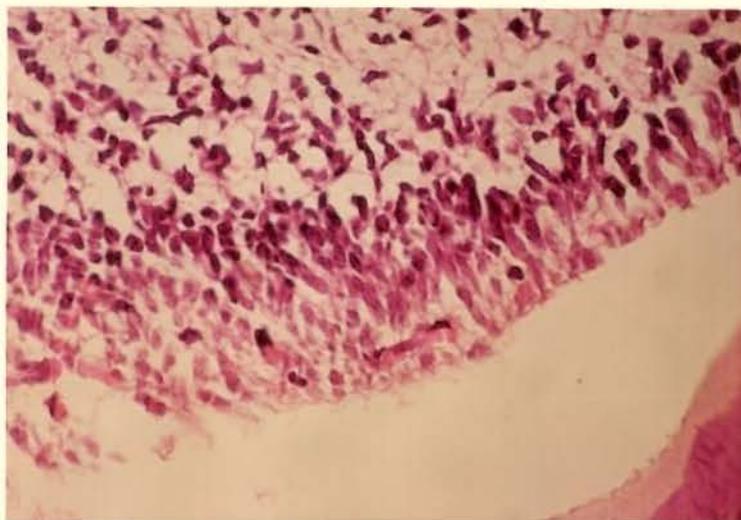


Fig. 13 - Camada odontoblástica de molar de rato do grupo SS, aos 14 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

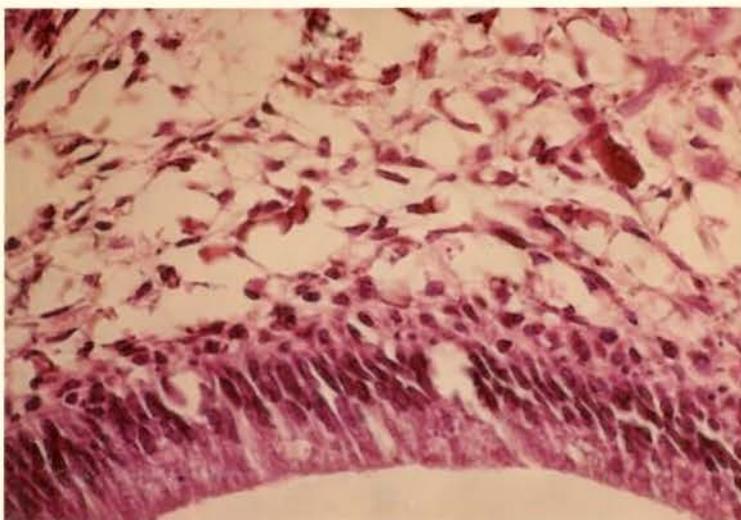


Fig. 14 - Camada ameloblástica de molar de rato do grupo SS, aos 9 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

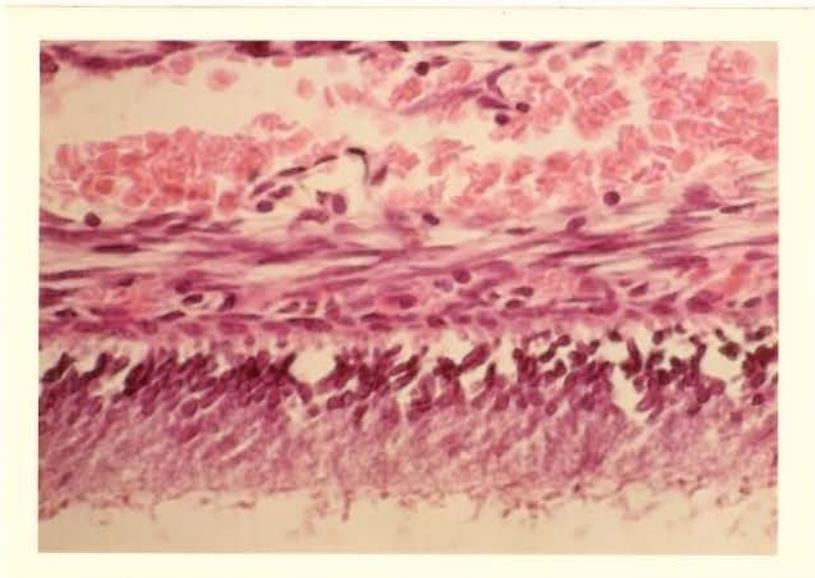


Fig. 15 -- Camada ameloblástica de molar de rato do grupo SS, aos 14 dias de idade.
H. E., 40 X 1,25 X 10 aumentos.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

A participação das glândulas salivares, no processo da odontogênese, já descrita por diversos pesquisadores (SATO²⁸, 1953; OGATA²¹, 1955; FLEMING^{9,10}, 1959, - 1963; ITO¹⁵, 1960; SIERVO & DAL MASO³², 1963; YAMANE³⁵, 1972; OLIVEIRA LIMA²², 1975) foi mais uma vez demonstrada no presente trabalho.

Os resultados do estudo das camadas odontoblástica e ameloblástica dos filhotes sialoadenectomizados de mães normais (NS), demonstram claramente a influência exercida pelas glândulas submandibulares e sublinguais sobre a morfologia celular destas camadas.

Observa-se, nesses animais, o aparecimento de alterações celulares, de início discretas, as quais acentuam-se, gradativamente, atingindo um estágio mais severo -- nos animais sacrificados no fim do período experimental.

Tal fenômeno pode ser explicado, admitindo-se a hipótese, segundo a qual, as glândulas submandibulares e sublinguais exercem um papel importante no mecanismo em estudo.

A análise dos resultados indica que essa participação inicia-se num estágio precoce, ou seja, durante a vida intra-uterina, mesmo antes do funcionamento das glândulas do feto, sugerindo uma dependência da secreção das glândulas submandibulares e sublinguais maternas.

O agravamento das alterações observadas explica-se pelo efeito cumulativo da ausência da secreção das glândulas salivares, tendo em vista que os animais encontram-se em fase de desenvolvimento.

Os resultados aparentemente discrepantes de FLEMING¹⁰ (1963), segundo os quais a administração do extrato das glândulas salivares (Parotin) promove a presença de vacúolos intracelulares da camada ameloblástica, podem ser melhor esclarecidos com base nos trabalhos de ITO¹⁵ (1960).

Este último autor mostrou que doses exageradas do Parotin podem produzir efeitos opostos, isto é, a administração de grandes quantidades desse hormônio pode produzir efeitos semelhantes àqueles observados na sua ausência.

É importante ressaltar que FLEMING¹⁰ (1963) -- aplicou 10 injeções de 0,15 a 0,30 mg por animal, cujo peso não passava de 25 gramas, doses sem dúvida exageradas, de acordo com as observações de ITO¹⁵ (1960), sobre trabalhos anteriores desse pesquisador.

A dependência da ação da secreção salivar materna sobre os processos de formação dentária é evidenciada nos resultados obtidos dos filhotes normais de mães sialoadenectomizadas. Nestes animais, as alterações histológicas detectadas nos primeiros dias de pós-operatório foram regredindo progressivamente, sendo eliminadas quase completamente no final do período experimental.

Esses resultados permitem concluir que as alte-

rações observadas nos primeiros dias de pós-operatório foram induzidas, provavelmente, pela ausência da secreção -- das glândulas submandibulares e sublinguais maternas.

A regressão verificada nos filhotes normais dessas mães, durante o período experimental, indica claramente que a recuperação das camadas ameloblástica e odontoblástica deu-se através da secreção das glândulas salivares do próprio animal.

A soma global das evidências apresentadas acima sugere fortemente a participação da secreção das glândulas submandibulares e sublinguais, tanto da mãe quanto do próprio filhote, no processo da formação dentária.

Essa hipótese encontra fundamento, levando-se em consideração os resultados obtidos através das observações fornecidas pelo grupo de filhotes sialoadenectomizados nascidos de mães também privadas de suas glândulas submandibulares e sublinguais (SS).

Nesses filhotes, o efeito da carência da secreção das glândulas salivares maternas evidenciaram-se pelas alterações constatadas logo no primeiro dia de pós-operatório.

Como seria de se esperar, as alterações verificadas nas células das camadas odontoblástica e ameloblástica desses animais agravaram-se progressivamente, devido à ausência de secreção salivar.

Esses resultados demonstram, mais uma vez, a --

participação das glândulas submandibulares e sublinguais - no processo da odontogênese. O papel exercido por essas glândulas pode ser compreendido, admitindo-se uma possível atuação direta sobre o processo da odontogênese (OLIVEIRA LIMA²², 1975).

Por outro lado, acredita-se que as glândulas hipófise, tireóide e adrenal exercem um maior controle sobre o processo de desenvolvimento dentário (PARNER, KATONAH & ANGRIST²³, 1951; BAUME et alii^{2,3,4}, 1954; DOMM & WELLBAND⁸, 1960; BORGHELLI & FOGLIA⁷, 1963; JOHANESSEN¹⁶, 1964).

Tendo em vista a relação já comprovada entre as glândulas salivares e outras glândulas endócrinas, e levando-se em consideração o fato sugestivo segundo o qual as glândulas endócrinas mais intimamente correlacionadas com as glândulas salivares são a hipófise (OGATA²¹, 1955), a tireóide (WASE & FENG³⁴, 1956) e as adrenais (BIXLER, MUEHLER & SHAFER⁵, 1955; BIXLER, WEBSTER & MUEHLER⁶, 1956), pode-se concluir que a participação das glândulas salivares no processo do desenvolvimento dentário é realizada através da sua interação endócrina com as demais glândulas citadas.

LIU, DEUBEN & LIN¹⁷ (1966) relataram alterações quantitativas significantes nos níveis do hormônio de crescimento em animais sialoadenectomizados. Essas observações podem ser admitidas com base no trabalho de ADACHI¹ (1960), onde foi observada uma degranulação e uma hipertro-

fia citoplasmática das células acidófilas, em animais tratados com Parotin.

A correlação entre a secreção salivar e o hormônio de crescimento, somada àquela observada também entre a secreção salivar e a tiroxina, além do sinergismo já conhecido entre o hormônio de crescimento e a tiroxina, levam a crer na existência de uma interação triangular entre os -- três hormônios, ou seja, Parotin, hormônio de crescimento e tiroxina.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, e dentro das condições experimentais do presente trabalho, pode-se concluir que:

1 - A remoção das glândulas submandibulares e sublinguais induz alterações morfológicas nas camadas odontoblástica e ameloblástica dos molares dos ratos jovens.

2 - A secreção salivar materna participa na formação e no desenvolvimento das camadas odontoblástica e ameloblástica dos molares dos filhotes.

3 - A secreção das glândulas submandibulares e sublinguais dos filhotes é capaz de recuperar os efeitos da sialoadenectomia materna.

4 - As glândulas submandibulares e sublinguais participam, efetivamente, nos processos de formação e desenvolvimento dentário.

7. RESUMO

7. RESUMO

O presente trabalho procurou relacionar os efeitos da extirpação bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais sobre as camadas de ameloblastos e odontoblastos de molares de ratos jovens.

Para tal, foram selecionadas 20 ratas primíparas, divididas em dois grupos, sendo 10 mantidas em condições normais e 10 submetidas à sialoadenectomia.

Após o acasalamento e nascimento dos filhotes, 48 foram selecionados, ficando 24 nascidos de mães normais e 24 de mães sialoadenectomizadas.

A seguir, procedeu-se à divisão desses animais em quatro grupos, da seguinte maneira:

Mães normais:

Grupo I_1 - constituído de doze filhotes, que não sofreram qualquer tipo de intervenção, os quais foram utilizados como controle;

Grupo I_2 - composto de doze filhotes que sofreram a extirpação bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais no oitavo dia de vida extra-uterina.

Mães Sialoadenectomizadas:

Grupo II₁ - Formado por doze filhotes, que não sofreram nenhum procedimento cirúrgico;

Grupo II₂ - Constituído de doze filhotes, que sofreram a remoção bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais no oitavo dia de idade.

Os animais dos grupos I₂ e II₂ foram então submetidos à sialoadenectomia.

Após o sacrifício de todos os animais, retiraram-se as mandíbulas, as quais, depois de fixadas em formol e descalcificadas em ácido tricloroacético a 5%, foram incluídas e cortadas na espessura de 7 micra. As lâminas foram coradas pela hematoxilina e pela eosina.

Com base nos resultados obtidos, pode-se inferir as seguintes conclusões:

1 - A remoção das glândulas submandibulares e sublinguais induz alterações morfológicas nas camadas odontoblástica e ameloblástica dos molares dos ratos jovens.

2 - A secreção salivar materna participa na formação e no desenvolvimento das camadas odontoblástica e ameloblástica dos molares dos filhotes.

3 - A secreção das glândulas submandibulares e

sublinguais dos filhotes é capaz de recuperar os efeitos - da sialoadenectomia materna.

4 - As glândulas submandibulares e sublinguais participam, efetivamente, nos processos de formação e desenvolvimento dentário.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

1. ADACHI, H. Effects of salivary gland hormone administration on the anterior pituitary of the immature mouse. Okajimas Folia anat. jap., 35: 437-41, - 1960.
2. BAUME, L. J.; BECKS, H.; EVANS, H. M. Hormonal control of tooth eruption. I. The Effect of Thyroidectomy on the Upper Rat Incisor and the Response to Growth Hormone, Thyroxin, or the Combination of Both. J. dent. Res., 33: 80-90, 1954.
3. _____; _____; RAY, J. C.; EVANS, H. M. Hormonal control of tooth eruption. II. The Effects of Hypophysectomy on the Upper Rat Incisor Following Progressively Longer Intervals. J. dent. Res., 33: 91-103, 1954.
- 4.. _____; _____; EVANS, H. M. Hormonal control of tooth eruption. III. The Response of the Incisors of Hypophysectomized Rats to Growth Hormone, Thyroxin, or the Combination of Both. J. dent. Res., - 33: 104-14, 1954.

5. BIXLER, D.; MUHLER, J. C.; SHAFER, W. G. Effect of -- desalivation on adrenals, uterus, and testes in -- the rat. J. dent. Res., 34: 910-4, 1955.
6. _____; WEBSTER, C.; MUHLER, J. C. The histochemistry of the adrenal cortex following removal of the major salivary glands. J. dent. Res., 35: 547-54, 1956.
7. BORGHELLI, R. F. & FOGLIA, V. G. Respuesta a los corticoides del incisivo de la rata normal, suprareno priva e hipofisopriva. Revta. Asoc. Odont. Argent., 51: 255-65, 1963.
8. DOMM, L. V. & WELLBAND, W. A. Effect of adrenalectomy and cortisone on eruption rate of incisors in -- young female albino rats. Proc. Soc. exp. Biol. - Med., 104: 582-4, 1960.
9. FLEMING, H. S. Parotin and growth centers of femurs and incisors in mice. J. dent. Res., 38: 374-85, 1959.
10. _____ The effect of salivary gland extracts on -- tooth development. In: ORCA CONGRESS, 9th, Pittsburgh, 1962, Proceedings. Oxford, Pergamon Press, 1963. p. 195-200.

11. GARN, S. M.; LEWIS, A. B.; BLIZZARD, R. M. Endocrine factors in dental development. J. dent. Res., 44: 243-58, 1965.
12. GARREN, L. & GREEP, R. O. Effects of thyroid hormone and propylthiouracil on eruption rate of upper incisor teeth in rats. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 90: 652-5, 1955.
13. GERSTNER, R.; FLON, H.; BUTCHER, E. O. Onset and type of salivary secretion in fetal rats. J. dent. Res., 42: 1.250, 1963.
14. GOLDSMITH, E. D. & ROSS, L. A histochemical and histological study of the effects of cortisone on the lower incisors of fetal and post-natal rats. Acta Endocr., 22: 23-41, 1956.
15. ITO, Y. Parotin: a salivary gland hormone. Ann. N. Y. Acad. Sci., 85: 228-312, 1960.
16. JOHANNESSEN, L. B. Effects of cortisone on dentinogenesis in mandibular first molars of albino rats. Archs. oral Biol., 9: 421-34, 1964.
17. LIU, F. T. Y.; DEUBEN, R.; LIN, H. S. Effect of sialoadenectomy on pituitary growth hormone content in the rat. J. dent. Res., 45: 1241, 1966.

18. NISHIMURA, M. Effect of salivary gland hormone parotin on calcium metabolism in parathyroid — ectomized rats. Bull. Tokyo dent. Coll., 6: 81-92, --- 1965.
19. O'BRIEN, C.; BHASKAR, S. N.; BRODIE, A. G. Eruptive Mechanism and movement in the first molar of rat. J. dent. Res., 37: 467-84, 1958.
20. OGATA, A. et alii. Chemical and pathological studies in isolation of salivary hormone. Igabu Seibutsugaku, 5: 253-7. Apud OGATA, T., op. cit. ref.21.
21. OGATA, T. The internal secretion of salivary glands. Endocr. Jap., 2: 247-61, 1955.
22. OLIVEIRA LIMA, J. E. Influência das glândulas salivares parótidas e submandibulares no irrompimento, crescimento e calcificação de dentes incisivos e molares de ratos. Bauru, 1975. /Tese (Mestrado) - Faculdade de Odontologia/
23. PARMER, L. G.; KATONAH, F.; ANGRIST, A. A. Comparative effects of ACTH, cortisone, corticosterone, dexamethasone, prednisolone on growth and development on infant rats. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 77: 215, 1951.

24. PAVARINI, A. Influência do "Stress" na erupção e crescimento dos dentes e no peso corporal de ratos. - Bauru, 1971. /Tese (Doutoramento) - Faculdade de Odontologia/
25. PINHEIRO, C. E. & MADEIRA, M. C. Influência de Hormônios na erupção e no crescimento de dentes molares e incisivos de ratos. Hospital, 67: 179-85, 1965.
26. QUINTARELLI, G. The effect of parotid extract on the hard and soft tissues of growing mice. Oral Surg., 13: 875-8, 1960.
27. RACZEW, Z. The hormonal function of the salivary glands. Czas Stomat., 19: 395-401, 1966. Apud Oral Res. Abstr., 3: 359, 1968.
28. SATO, T. Effects of parotid gland extract upon calcification of dentin of rabbit. Gunna J. Med. Sci., 2: 183-5, 1953.
29. SCHNEIDER, L. C.; HOLLINS HEAD, M. B.; LIZZACK, L. S. Tooth eruption induced in grey lethal mice using - parathyroid hormone. Archs. oral Biol., 17: 591-4, 1972.
30. SCHOUR, I. Experimental and clinical studies on the eruption of teeth. J. dent. Res., 19: 298-9, 1940.

31. SCHOUR, I. & MASSLER, M. The teeth. In: FARRIS, M. D. & GRIFFITH, J. W. The rat in the laboratory investigation. 2. ed. New York, Hafner, 1963. p. 104-65.
32. SIERVO, R. & DAL MASO, L. La parotina: ormone delle ghiandole salivari. II. Sua attività sulla amelo-genesi e sulla osteogenesi di topi giovani. Riv. ital. Stomat., 17: 255-69, 1962. Apud Dent. -- Abstr., 8: 173, 1963.
33. TEIXEIRA, D.; RAMALHO, A. C.; DELLA PIAZZA, R. B.; -- PAIVA, C. E. N. Craniovisceral Growth changes in sialoadenectomized young rats. Revta. bras. Pesq. Med. Biol., 6: 149-57, 1973.
34. WASE, A. W. & FENG, Y. S. L. Some salivary thyroid - gland relationships. Acta endocr., 23: 413-8, -- 1956.
35. YAMANE, T. Effects of the rabbit serum calcium reducing extracts (parotin A, parotin-A-like - substance, and bovine thymus gland) on calcification of dentine - of rat and rabbit. Aichi Gakium J. -- Dent. Sci., 9: 170-214, 1972.

36. ZISKIN, D.; APPLEBAUN, E.; SALMON, T. N. The effects of parathyroidectomy at birth and at 7 days on dental and skeletal Development of rats. J. dent. -- Res., 19: 93, 1940.

* - De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro. Referências Bibliográficas; - norma brasileira (PNB-66). Rio de Janeiro, Instituto Brasileiro de Bibliografia e Documentação, 1970. 31 p.
WORLD list of scientific periodicals: 1900-1960. 4. ed. London, Butterworths. - 1963-65. 3.v.
