

MURILLO MARÇAL VIEIRA



1150014737

 FOP  
T/UNICAMP V673m

# MODIFICAÇÕES ESTRUTURAIS NA SUPERFÍCIE RADICULAR EXPOSTA À DOENÇA PERIODONTAL

*Avaliações clínicas, histológicas e histoquímicas em dentes humanos*

Tese Apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba,  
da Universidade Estadual de Campinas, para  
Obtenção do Grau de Doutor em Ciências  
(Periodontia)

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

BIBLIOTECA

T395

PIRACICABA - S. P.

1975

À memória de meu Pai.

À minha Mãe.

À minha esposa Maria Angela.

Aos meus filhos Francisco e

Márcia.

Minha gratidão

ao Dr. LOURENÇO BOZZO, Professor da disciplina de Patologia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, exemplo de amor à pesquisa, orientador sábio e seguro.

AGRADECIMENTOS:

Ao Professor Antonio Césio de Pádua Lima, que, desinteressadamente, transmitiu-nos sua experiência e crítica.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu Exmo. Sr. Diretor Prof. José Merzel, pela oportunidade oferecida.

Ao Professor Antonio Carlos Neder, incentivador e amigo, que, cordialmente, colocou seu Departamento à disposição.

Aos colegas:

Dr. Amaury Caetano de Menezes.

Dr. Edmar Mendonça Sarmiento.

Dra. Jane da Cunha e Silva.

Dr. Naylor Dias Tavares.

Dr. Sebastião Andyara Teixeira Junior.

Às Professoras Gilda dos Reis Pimentel Dias Tavares e Olimpia Bortoletto, pela inestimável ajuda.

À Srta. Olivia M. Okta.

Ao Técnico Antonio Kerches de Campos, do laboratório de Patologia da F.O.P., pela sua colaboração.

A minhas secretárias:

Maria da Pureza Silva.

Rita de Cássia Moreno Christo.

## SUMÁRIO

	<u>Pág.</u>
INTRODUÇÃO . . . . .	1
PROPOSIÇÃO . . . . .	5
REVISÃO DA LITERATURA . . . . .	7
MATERIAIS E MÉTODOS . . . . .	20
Procedimentos clínicos . . . . .	20
Procedimentos laboratoriais . . . . .	22
RESULTADOS . . . . .	36
Aspectos morfológicos e quantitativos . . . . .	36
Análise da birrefringência . . . . .	43
Estudo histoquímico . . . . .	47
DISCUSSÃO . . . . .	50
CONCLUSÃO . . . . .	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS . . . . .	65

## INTRODUÇÃO

O cimento dental ocupa lugar de destaque na terapêutica periodontal, desde sua descrição - pela primeira vez - em 1835. Devido ao maior conhecimento deste tecido, procedimentos clínicos modificam-se permanentemente.

O cimento e a gengiva, sob o efeito da placa bacteriana, sofrem acentuadas alterações, intimamente relacionadas com o desenvolvimento de uma reação inflamatória. As modificações do cimento são descritas de várias formas e, às vezes, contraditórias : necrótico, desorganizado ou infectado, amolecido sob a ação de ácidos ou hipermineralizado, possibilitando a ancoragem do cálculo, quando suas conexões com a membrana periodontal ficam rompidas.

Segundo Carranza (1954): "Quando a infecção penetra no espaço ocupado pelas fibras , sua porção orgânica fica alterada até a profundidade ocupada por elas. Estas zonas de material desorganizado e putre-

fato tornam-se ideais ao desenvolvimento e multiplicação de micro-organismos, que estão completamente isolados dos mecanismos de defesa do corpo".

Estas afirmações, quando relacionadas com as lacunas do cimento, estudadas por Pannaci (1971), tomam caráter mais dramático pela possibilidade de penetração dos micro-organismos até a profundidade ocupada por elas, pois, quando encontradas, localizam-se, na maioria das vezes, encravadas profundamente no cimento.

Entre as controvertidas observações sobre cimento, Bass (1951) encontrou e descreveu, pela primeira vez, um certo tipo de grânulos detectáveis no cimento exposto à bolsa periodontal e dentina subjacente, que chamou de "grânulos patológicos". Considerou, cimento exposto, àquele desprotegido de ligamentos.

Decorridos 12 anos, às observações de Bass (1951), foram adicionados os achados de Benson (1963), que, reavaliando o problema, concluiu:

- a- os grânulos são encontrados somente no cimento exposto e dentina subjacente a este;
- b- existe relação direta entre o número de grânulos no cimento exposto e a quantidade de cálculo aderido a este cimento ;
- c- devem-se aceitar os grânulos como processo patológico;

- d- quando observados ao microscópio polarizante , os grânulos não se apresentam birrefringentes ;
- e- estes grânulos são modificados ou dissolvidos pelo álcool.

Recentemente, Armitage e Christie (1973), em estudos ao nível de microscopia ótica e eletrônica, confirmaram os achados anteriores de Bass (1951) e Benson (1963). Realçaram sua importância, condenando o fato de terem sido esquecidos e negligenciados.

Esses autores apenas mostraram alguns aspectos morfológicos das granulações, pouco acrescentando ao conhecido. Seu grande mérito foi a cuidado que tiveram em demonstrar a possibilidade dos "grânulos patológicos" constituírem artifício de técnica. Examinaram as mais variadas possibilidades, usando diferentes substâncias descalcificadoras , secções preparadas por congelamento ou desgaste.

Realçaram que de todas as razões apresentadas, para demonstrar a existência desses grânulos não como artifício de técnica, é terem encontrado grânulos em 71 espécimes de 72 examinados e somente na porção radicular exposta.

O perfeito conhecimento deste tipo de alteração patológica , suas características físico-químicas , morfologia e patogenia , assim como da

ccementogênese, poderá condicionar melhor avaliação dos procedimentos clínicos usuais. Citamos o exemplo da raspagem dental, que, sendo procedimento básico na terapia periodontal, como afirma Løvdal e col. (1961), Lightner e col. (1971), ainda não tem estabelecida a extensão de tecido a ser removido - Riffle (1952-53-54), Chaikin (1954), Schaffer (1956) e Glickman (1972). O critério, quanto à extensão de tecido a ser removido pela raspagem dental (sentido cimento-polpa) é baseado mais na experiência pessoal que em evidência científica, ponto de vista compartilhado por Nabers, Prichard, Robinson e Schallhorn (1970).

Pelo exposto, justificam-se novas e detalhadas investigações.

## PROPOSIÇÃO

Dentre as modificações do cimento, sob a influência da doença periodontal inflamatória, reveste-se de importância o aparecimento de "grânulos patológicos" na superfície do cimento exposto e dentina subjacente. Descritas por Bass (1951), Benson (1963) e Armitage e Christie (1973), não têm despertado muita atenção dos pesquisadores, provavelmente pelas dificuldades de sua detecção, pois os procedimentos rotineiros de inclusão em parafina, provocam o "desaparecimento" desses grânulos, gerando dificuldades para seu estudo.

Todos os trabalhos até então publicados sobre "grânulos patológicos", usaram dentes com "avançada doença periodontal" ou sem avaliar seu estado patológico.

Entendendo que estes grânulos, por suas possíveis implicações com a evolução da doença periodontal e procedimentos usuais de raspagem dental, necessitavam de um estudo mais detalhado, foi proposta

esta pesquisa.

Considerando que o resultado encontrado quanto à incidência, localização e quantidade, poderia estar influenciado pela homogeneidade da amostragem, e que, nem sempre dentes com "avançada doença periodontal" são objetos rotineiros da terapêutica conservadora, e, considerando ainda que a amostra não seria aquela encontrada usualmente na clínica diária, propusemo-nos:

a- a estudar a prevalência, quantidade, localização e distribuição dos grânulos em:

- 1- dentes não erupcionados;
- 2- dentes com o periodonto clinicamente normal;
- 3- dentes portadores de doença periodontal inflamatória, abrangendo desde a fase incipiente até estágios consideravelmente avançados;

b- a estabelecer a relação entre os grânulos e a extensão da doença periodontal inflamatória (profundidade da bolsa periodontal e perda de inserção);

c- a avaliar a natureza dessas granulações;

d- a determinar a perda de cemento nas superfícies radiculares expostas ao meio bucal e ou à bolsa periodontal.

## REVISÃO DA LITERATURA

O cemento tem despertado a atenção dos pesquisadores, em virtude da doença periodontal estar intimamente relacionada com sua biologia. Assim, seu melhor conhecimento proporcionará maior segurança e previsibilidade no tratamento periodontal. Resultados terapêuticos mal avaliados e relacionados são melhor compreendidos, quando focados à luz de novos conhecimentos.

Conceitos contraditórios apresentam-se para explicar a formação e constituição do cemento, sendo descrito como carente de inervação por Cabrini (1947) e Held (1951), ou portador de fibras nervosas, escassas e finas, segundo Fuentes (1970).

Estudando cementogênese em ratos, Selvig (1964) observou que as fibras de Sharpey parecem tão calcificadas quanto o resto da matriz e a formação do cemento, nesses animais adultos, sugere lenta mineralização da membrana periodontal.

Porém, Erausquin (1958) considera a possibilidade das células oriundas do periodonto, ficarem aprisionadas no cimento, quando este cresce muito rapidamente. Esta é também a idéia de Dias Junior (1958) que, estudando o limite cimento-dentina, descreveu a possibilidade de ocorrência de células isoladas nessa região.

Recentemente, Selvig (1969), estudando, ao nível de microscopia eletrônica, possíveis modificações no teor de mineralização do cimento exposto e não exposto à doença periodontal, afirmou: "Áreas localizadas, contendo fibras colágenas não calcificadas, foram vistas ocasional e particularmente perto da junção cimento-dentina".

A estrutura do cimento é semelhante à do osso, ainda que não apresente sistema de Havers, nem vasos sanguíneos, sendo que a nutrição das células é feita pela intercomunicação dos canaliculos dos cementócitos - Junqueira e Carneiro (1971).

Pannaci (1970), em seu trabalho "Canais vasculares no cimento humano", realça a grande variedade de conceitos e opiniões a respeito. Confirma a existência desses, classificando-os em:

a- canais ou condutos parecidos por sua origem e significado aos condutos de Volkmann, do tecido ósseo;

- b- canais ou condutos, considerados de "passagem" pelo cemento, porque estão destinados a irrigar a polpa;
- c- canais ou condutos semelhantes , em seu aspecto e formação , ao sistema de Havers.

Difere também do osso por "contínua deposição: uma camada depositada sobre o cume da outra" - Kronffeld (1938). Isto é confirmado pela presença sistemática de pequenos cristais imaturos, na superfície do cemento - Selvig (1965). Esta deposição é evidenciada pelas linhas incrementais.

Sob o aspecto estrutural, é formado por cristais de Hidroxapatita.

Sua espessura varia com a idade. Zander e Hurzeler (1958) encontraram uma espessura média de 0,076 mm na faixa etária até 20 anos , aumentando para 0,213 mm entre 51 a 76 anos. Sua espessura triplica entre 11 e 76 anos. Esse aumento não é uniforme, sendo maior na região apical.

Do ponto de vista morfológico, encontramos dois tipos de cemento: acelular e celular, separados em camadas pelas linhas incrementais , indicando formação periódica - Orban (1955).

Sua localização e distribuição não é precisa. Camadas de cemento celular e acelular podem estar alternadas em inúmeras disposições. Geralmente,

a metade coronária da raiz é coberta pelo acelular e a apical, pelo celular - Orban (1955).

No cimento celular, os cementócitos estão alojados em lacunas, intercomunicadas por anastomose de seus prolongamentos que, usualmente, tomam a direção da superfície periodontal - Orban (1955).

Outros autores, entre os quais Blackwood (1957), citam na junção cimento-dentina, a existência de um outro tipo, o chamado "Cimento Intermediário", cuja origem e estrutura, não estão bem definidas.

El Mostehy e Stallard (1968) afirmam: "Cimento Intermediário não é uma camada "per se", existindo entre cimento celular e dentina, numa área que corresponde cronologicamente com o tempo de erupção do dente".

Consideram que as inclusões celulares existentes nesta camada são células epiteliais de Hertwig, que se apresentam circundadas por uma substância basicamente calcificada, provavelmente um produto de célula do tecido conjuntivo do ligamento periodontal, destinado a formar cimento.

A região cimento-dentina, é formada por tecidos cujo maior potencial biológico está nas faces opostas a esta junção; ou seja, no cimento, na face voltada para o ligamento periodontal e, na dentina, para a polpa radicular. Provavelmente por tais fatores,

no estudo desta junção, essas faces têm despertado menor interesse. Considerando o comprometimento metabólico, tanto na atresia do forâmen apical, como na patologia pulpar e periodontal, estas faces deveriam ser melhor conhecidas.

Para Sasso e Villa (1966) "o limite cemento-dentina mostrou-se perfeitamente delimitado por meio de uma faixa fortemente positiva ao PAS".

Cesar e col. (1968), estudando esta região, observaram anastomose entre as fibrilas de Tomes e os prolongamentos dos cementócitos. Este achado induz-nos a aceitar a existência de processo metabólico entre os dois tecidos.

Esta também é a opinião de Pritz (1962) que diz: "Exames histológicos de cortes por desgaste e descalcificação em dentes humanos e de animais mostram túbulos dentinários, que se estendem profundamente na junção cemento-dentina, não terminando por fina linha. A íntima relação dentina-cimento é demonstrada pelas projeções do cimento na dentina, que podem ser achadas a intervalos regulares, ao longo da sua junção. Em áreas de cimento celular e dentina subjacente, reabsorvidas e em reparação, anastomoses, entre túbulos dentinários e lacunas celulares no cimento, são frequentemente observadas. Estas anastomoses são verdadeiras ramificações e não simples justaposições."

Vários autores têm relatado modificações estruturais no cimento.

Quando o cimento fica desprotegido do ligamento periodontal , sua biologia altera-se. Uma dessas, que serve de tema a grandes polêmicas, é o aumento de sua permeabilidade ou de sua hipermineralização. Essas modificações estão diretamente relacionadas com a doença periodontal , como causa ou como efeito.

Bartelstone (1950) e Wainwright (1952) verificaram um aumento da permeabilidade do cimento e dentina subjacente, na doença periodontal. Fato constatado por Selvig e Selvig (1962) , que mostraram um aumento de mineralização cervical , em indivíduos de mais de 50 anos , dando a seguinte explicação: "Em algumas amostras desse grupo , em virtude da ressecção gengival , o cimento ficou exposto à cavidade oral, onde a saliva pode causar mineralização secundária".

Essa explicação confirma o estudo de Selvig e Zander (1962), que encontraram um pequeno aumento do conteúdo de Ca, Mg e P no cimento cervical.

Blayney e col. (1941), estudando metabolismo do dente humano, tendo fósforo radiativo como evidenciador , observaram diminuição na troca de  $P^{32}$  em dentes envolvidos por doença periodontal.

Forsberg e col. (1960) , analisando amostras de cálculo dental em 23 pacientes, encontraram em alguns casos, zonas de hipermineralização, na região imediatamente abaixo da ancoragem desses cálculos.

Shroff (1955) observou: "A deposição do cálculo envolve uma mudança físico-química na cutícula e no cimento , onde as bactérias podem postular papel importante".

Bass (1951) encontrou e descreveu , pela primeira vez, formações no cimento e dentina expostos à bolsa periodontal , que chamou de "grânulos patológicos". Complementando os estudos de Bass (1951) , Benson (1963) confirmou esses achados , dando algumas das características dessas granulações.

Modificações , quanto à dureza do cimento exposto à bolsa periodontal , são descritas de maneiras diversas por Kerr (1961) , Riffle (1953-54) e por Rautiola e Craig (1961).

Riffle (1953) chama a atenção da importância clínica do amolecimento , que se estende à dentina cervical subjacente ao cimento exposto.

O mesmo autor (1954) , em estudo estatístico , utilizando quinhentos (500) dentes raspados de forma a reproduzir o mesmo efeito da raspagem manual, concluiu: "a penetração do instrumento é proporcional

ao aumento da idade e à profundidade da bolsa periodontal".

A primeira contestação ao conceito clássico que cimento exposto sofre um amolecimento, foi feita por Rautiola e Craig (1961), que, utilizando métodos diferentes daqueles usados por Riffle, observaram: "não há diferença na dureza do cimento exposto à bolsa periodontal e do não exposto".

Warren e col. (1964) confirmam Rautiola e Craig (1961), não tendo achado diferença na dureza Knoop entre cimento de dentes envolvidos ou não por doença periodontal.

Yamada (1968), estudando cimento exposto, sob a influência da placa bacteriana não calcificada, calcificada parcialmente e quase totalmente calcificada, relatou comportamento diferente do cimento. Usando microscopia eletrônica afirma que, no cimento dental, quando em contacto com a placa bacteriana não calcificada, não encontrou diferença na densidade e tamanho dos cristais entre a camada superficial e interna deste cimento.

Quando a placa bacteriana estava parcialmente calcificada, encontrou, na superfície do cimento, uma camada eletro-densa e seus cristais aumentados de tamanho. Considerou, neste estudo, esse fenômeno como provável recristalização.

Estando a placa quase totalmente calcificada, encontrou, na superfície do cimento, aumento considerável da mineralização.

Yamada (1968) discute também se é necessária a presença da placa bacteriana, para o desenvolvimento da zona hipermineralizada.

Recentemente, Selvig (1969), usando microscópio eletrônico, relatou ter encontrado regiões de desmineralizações parciais, na superfície radicular exposta, mesmo em espécimes que, ao exame preliminar, não foram julgados cariados. Porém era frequente encontrar zonas altamente mineralizadas. Concluiu que trocas minerais, tanto quanto às orgânicas, ocorrem, quando a superfície se apresenta exposta à cavidade bucal, como resultado da doença periodontal.

Neste estudo, verifica também o comportamento das superfícies radiculares raspadas, quando em contato com o meio bucal, em tempos diferentes.

Dentes extraídos, após período de observações mais curtas, não mostraram nenhuma mudança da densidade nas superfícies raspadas.

Um dente raspado e extraído após 4 semanas, apresentava fina camada radiopaca.

Dentes extraídos após 8 semanas, esta camada foi frequentemente encontrada.

Furseth (1971) , confirmando Yamada (1968) , Selvig (1969) , encontrou , muitas vezes , ao nível eletrônico , na camada superficial do cimento exposto e não cariado, zonas altamente mineralizadas. Verificou também que os cristais na camada superficial , em alguns espécimes , persistiram após a desmineralização , enquanto que cristais , em áreas localizadas abaixo, foram dissolvidos, indicando maior resistência destes sobre aqueles.

Relaciona-se doença periodontal e depósito de cálculo.

Zander (1955) define o cálculo como resultante da matriz orgânica e de precipitações minerais. Relata ainda que esta matriz pode estar relacionada com o dente de quatro maneiras distintas e, no mesmo pedaço de cálculo, dificilmente se encontra uma única forma de aderência.

Shroff (1955) afirma ainda "ser óbvio postular que atividades bacteriológicas estão relacionadas com o processo". Relata também que, "em áreas, onde o depósito é fino e recente, a aderência é mais fraca que naquelas em que estivera presente por longo período" , conseqüentemente , o conhecimento de sua formação e fixação no dente torna-se importante.

Forsberg e col. (1960) , por métodos radiográficos e cristalográficos, encontraram concen-

tração maior de substâncias não mineralizadas do tipo supra-gengival.

Bodecker (1943) afirma que remoção do cálculo sub-gengival é mais difícil que o supra-gengival.

Thebaud (1951) estuda o efeito dos instrumentos de raspagem na superfície dental.

Hirschfeld (1952) analisa esses instrumentos.

Schaffer (1956) realiza estudos e observa que, em raspagem rotineira, em todos os casos por ele estudados (6), os cálculos permaneceram retidos. Afirma também que, para se obter uma superfície livre de cálculos, algum cemento deve ser removido e, em algumas vezes, todo ele; isto contraria a orientação de Goldman (1948), que preconiza simplesmente sua limpeza pela raspagem.

Áreas reabsorvidas e reparadas têm sido mostradas no cemento por Orban (1928) e Coolidge (1931).

O cemento, nestas áreas reparadas, é chamado de secundário por Thoma e Goldman (1939).

Schaffer (1958) afirma que, na curetagem sub-gengival, em bolsas intra-ósseas, sempre que um novo tecido conjuntivo inserido foi observado, estava

inserido em novo cimento, formados no cimento remanescente ou na dentina, após a curetagem.

Harvey e Zander (1959), estudando raízes de dentes sadios e com envolvimento periodontal, concluíram que a reabsorção radicular era três vezes maior nestas que naquelas, ponderando que a inflamação poderia não ser o único fator dessa reabsorção.

Henry e Weinmann (1951), em estudo estatístico, examinando 261 dentes, encontraram 90,5% com reabsorções, sendo que 70% eram limitadas ao cimento e 30% atingiram também a dentina.

Hurzeler e Zander (1959), estudando aposição de cimento em dentes com avançada doença periodontal, constataram que nestes, houve uma sensível diminuição da espessura média, quando comparados com sadios.

Inesperadamente também encontraram diminuição na área apical, não atingida pelo processo inflamatório, colocando esses achados em harmonia com teorias anteriores (Gottlieb).

Recentemente Morris (1972), usando raízes de dentes em "estado terminal de destruição periodontal", implantadas conjuntamente com enxertos de osso e ou medula, em tecido sub-cutâneo dos ratos doadores, concluiu serem as raízes doentes diferentes biologicamente das sadias. Especula sobre o conceito

de cementopatia de Gottlieb, dizendo ainda não estar claro se tais diferenças são o resultado ou causas da doença.

Peso específico, densidade radiográfica e polarização são utilizados para analisar cemento sadio ou patológico - Yamamoto e col. (1962) , Soni e col. (1962) , Ishikawa e col. (1964) e Bozzo (1972).

Soni e col. (1962) , estudando o grau de mineralização do cimento, acharam uma diferença entre o acelular e celular, sendo este mais radiodenso que aquele. Quando usaram o traçado microdensinométrico, revelaram um grau irregular e inconstante de mineralização, nas diferentes partes do cimento.

Recentemente , Ishikawa e col. (1964) encontraram, na região cervical , cimento mais calcificado. Relatam também que o cálculo dental é mais radiopaco que o cimento.

Furséth (1967), examinando por micro-radiografias , dentes condenados , achou que a linha cimento acelular-dentina era radiolúcida com aproximadamente 10 microns de largura; ao contrário da linha cimento celular-dentina , cuja localização exata foi difícil de determinar.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### A - Procedimentos clínicos:

Foram utilizados dentes de 37 pacientes, de ambos os sexos, selecionados no ambulatório dentário, mantido pela Prefeitura Municipal de Igarapava, Estado de São Paulo, e de nossa clínica particular. A idade desses pacientes variou de 12 a 72 anos.

Dos dentes utilizados tivemos: 11 não erupcionados, 10 com periodonto clinicamente normal e 72 com doença periodontal inflamatória, clinicamente constatada, totalizando 93 dentes estudados.

Todos eles, exceto os não erupcionados, eram pré-molares, caninos ou incisivos, sendo radiografados, identificados e eventualmente fotografados.

Anotamos a cor, idade e sexo dos pacientes, usando abreviaturas indicativas.

Na avaliação do estado clínico da gengiva observamos : cor, forma, presença ou ausência de exudato, sua condição hemorrágica ou não, ao nível do sulco, ao leve toque da sonda milimetrada, a profundidade da bolsa periodontal e perda de inserção.

As radiografias foram tomadas através da técnica do ângulo reto - Menezes (1974).

Os dentes foram extraídos e imediatamente colocados em frascos individuais , contendo formol-cálcio a 10% , nele permanecendo no mínimo 48 horas.

Os frascos foram rotulados com as seguintes indicações :

M - 4 - 7	C - p	nº 009-C
L - 2 - 4	I - 40	Ft
D - 3 - 5	S - f	Rx 12
V - 3 - 4		

Os números da primeira e segunda colunas, próximos às letras M L D V (relativas à face do dente) , indicam em milímetros , respectivamente , a profundidade da bolsa e perda de inserção. As letras C , I e S indicam cor , idade e sexo.

A letra ou letras (no caso C) que segue o número do espécime (no caso 009) é a que indica o paciente, no livro de registro elaborado para este fim.

---

(\*) original do espécime 009-C.

Fichas, radiografias e fotografias foram identificadas.

A profundidade da bolsa periodontal foi medida pela distância entre a borda da gengiva livre e o fundo da bolsa.

A perda de inserção foi avaliada , medindo-se a distância da junção cimento-esmalte ao fundo da bolsa - Ramfjord (1967).

Nas quatro faces dos dentes, foram feitas medidas e anotadas separadamente. Em todas , foi usada uma única sonda milimetrada\* , adotando-se o critério aceito por Ramfjord (1967).

#### B - Procedimentos laboratoriais:

A descalcificação foi procedida pelo ácido nítrico a 5% e 1/1000 de uréia e esta solução trocada cada três dias , sendo feito um controle por amostragem, usando-se tomadas radiográficas (Fig.1).

---

(\*) Williams-Goldman-Fox-Hu-Friedy-MFG, Co (U.S.A.).

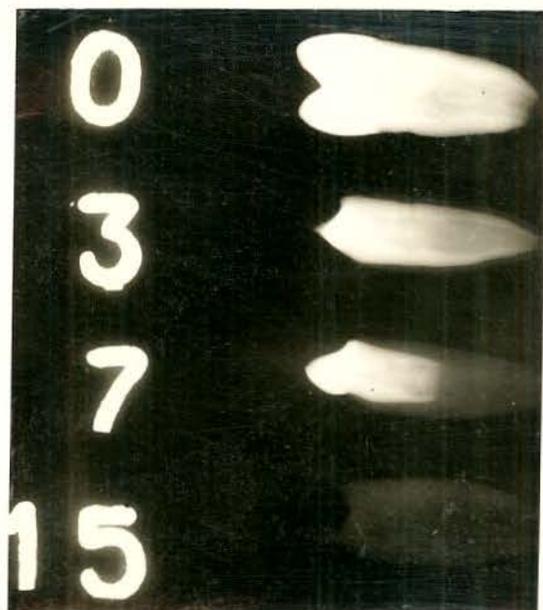


Fig.1

*Fases da descalcificação. Períodos de 0, 3, 7 e 15 dias - Rx: 65 Kva e 10 mA - Película 6/9 Técnica: cone longo - Tempo exposição: 1/4 seg.*

Esta se completou, em média, de 15 a 20 dias.

Para harmonizar a descalcificação interna e externa, efetuou-se na coroa uma perfuração até a câmara pulpar, facilitando a penetração da solução descalcificante.

Após a completa descalcificação, os dentes foram transferidos para frascos contendo formol-cálcio a 10%.

Todos os dentes foram incisados

superficialmente\* , na face vestibular , da coroa ao ápice, para posterior identificação (Fig.2).

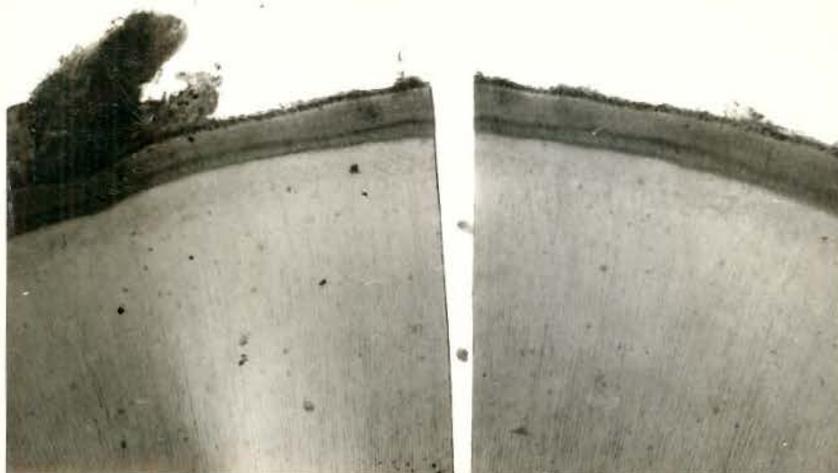


Fig.2

*rotomicrografia, mostrando incisão mediana  
à face vestibular.  
Corte Transversal -  $\pm$  80X*

A seguir , os dentes foram cortados perpendicularmente ao seu longo eixo, em três porções.

A porção (I), coronária, foi desprezada.

As outras duas, correspondentes à raiz do dente em estudo, foram separadas da seguinte maneira:

a) nos dentes com envolvimento periodontal, a porção (II) se estendeu da junção cimento-esmalte até ultrapassar a inserção conjuntiva e a porção (III), do limite com a porção (II) ao ápice; (Fig.3).

---

(\*) lâmina de barbear.

b) nos dentes não erupcionados e naqueles clinicamente sem envolvimento periodontal , a porção (II) correspondeu à metade cervical da raiz , enquanto a porção (III), à metade apical.

Os segmentos foram seccionados por congelação, a  $-20^{\circ}\text{C}$  , no Criostato ( American Optical Cryocut), regulado para 10 microns.

Obtivemos três tipos de secções : Transversal oclusal (T.O); Transversal apical (T.A); Longitudinal (LT).

As secções T.O - (Fig.4) - foram obtidas com a navalha, atingindo a raiz num ângulo de  $90^{\circ}$ . Os cortes foram iniciados na porção mais oclusal (A'- A) para apical (B'- B), (Fig.3), sem atingir cimento não exposto.

As secções T.A foram obtidas somente da porção (III) , iniciando-se os cortes de C'- C para apical (Fig.5).

Nas secções LT, nos dentes com envolvimento periodontal , incluímos cimento exposto e não exposto (X e Y), sendo que o sentido ABC ou A'B'C' foi aleatório (Fig.6).

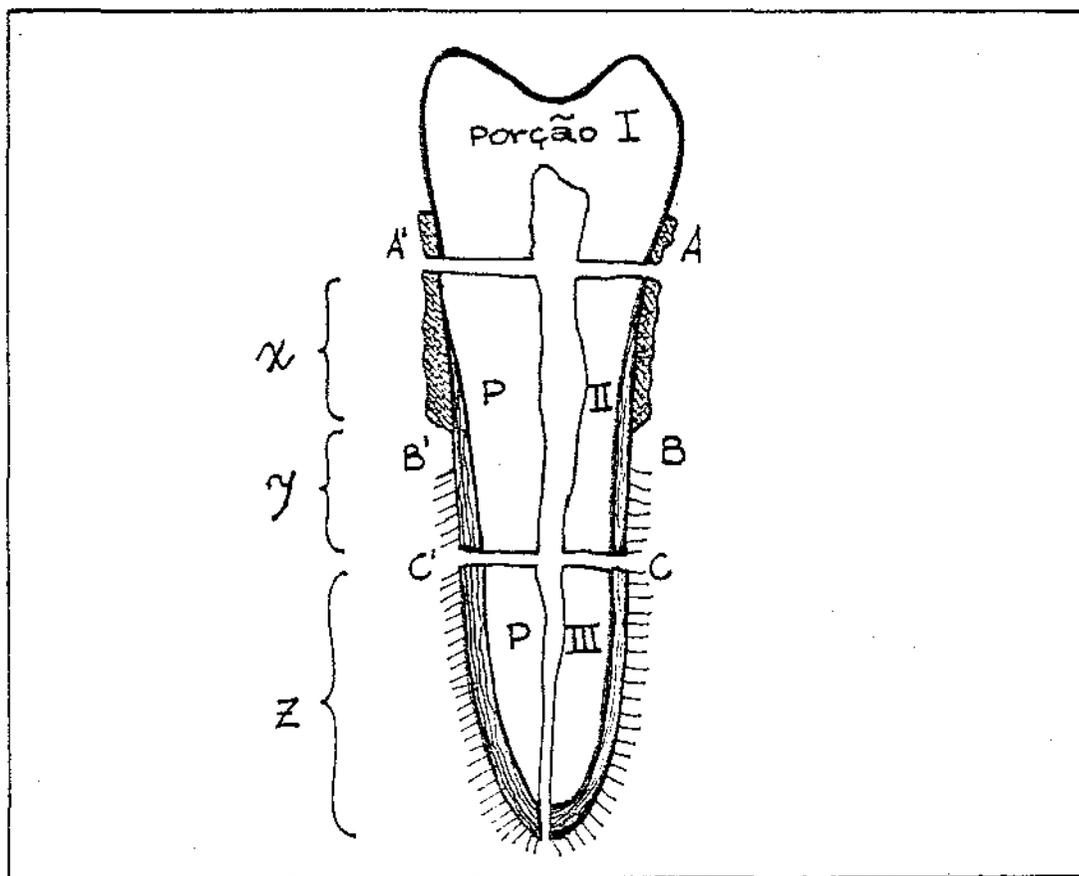


Fig.3

*Esquema das secções em dentes com envolvimento pericardontal, destacando as porções (I), (II) e (III).*

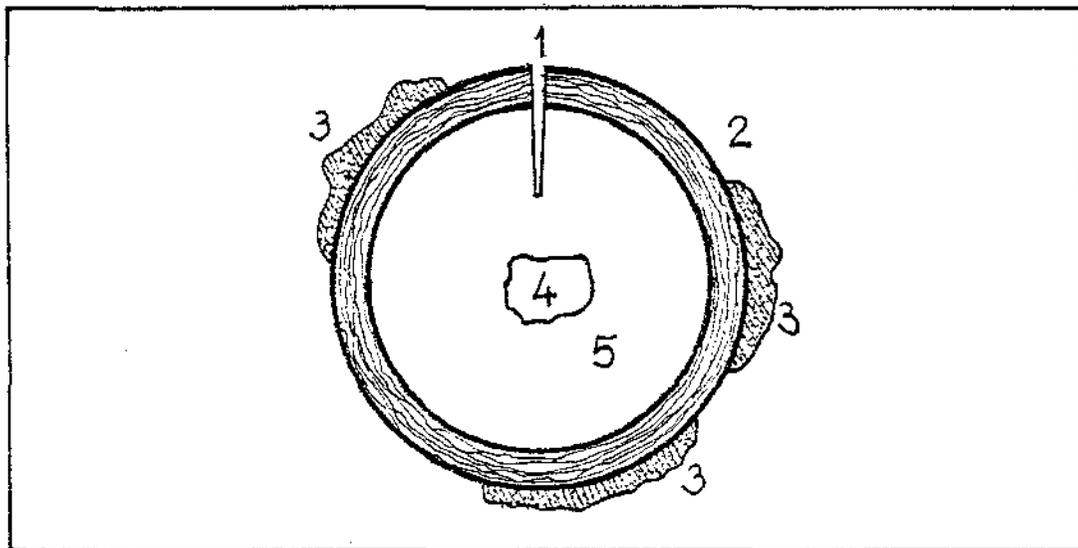


Fig.4

*Desenho esquemático de uma secção T.O, mostrando a incisão na V (1); cimento (2); tártaro (3); canal radicular (4); dentina (5).*

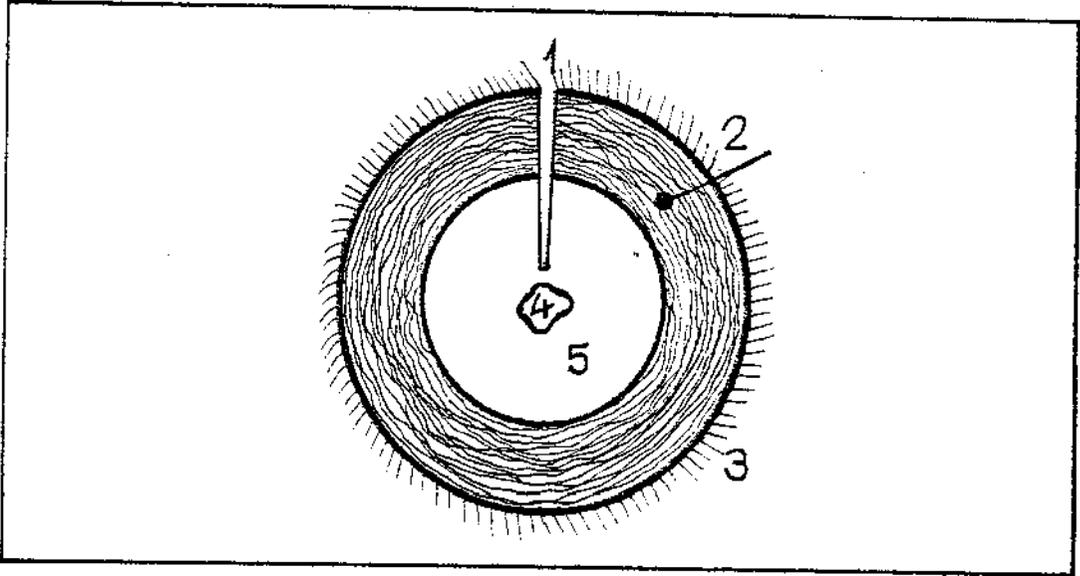


Fig.5

Esquema de uma secção T.A onde vemos a incisão vestibular (1); cimento celular (2); ligamento periodontal (3); canal radicular (4) ; dentina (5).

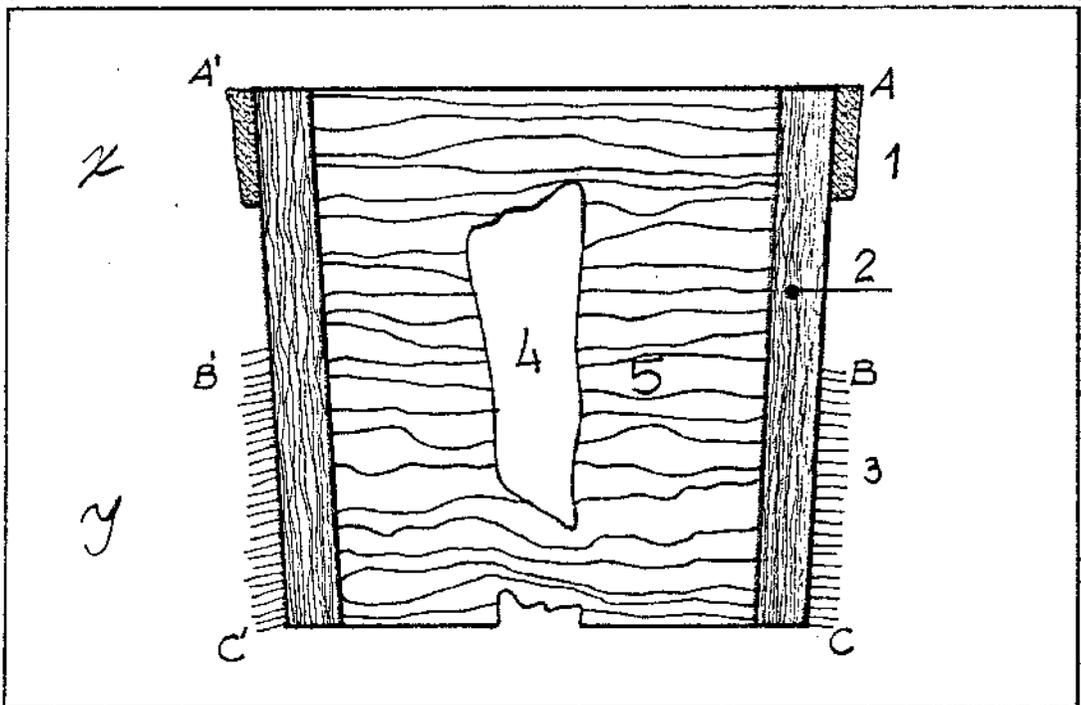


Fig.6

Tártaro (1) ; cimento (2) ; ligamento (3) ; canal radicular (4) ; dentina (5).

Obtivemos aproximadamente 50 secções de cada tipo, isto é, 50 secções em cada sentido e armazenadas em frascos contendo formol-cálcio a 10%.

O estudo morfológico e distribuição quantitativa das granulações foram realizados através da coloração, em secções sobrenadantes, numa solução aquosa de cristal violeta a 0,1%.

De cada dente com doença periodontal coramos 27 secções: 9 T.O; 9 T.A e 9 LT. Para tanto, mergulhamos por 30 segundos aproximadamente, em solução corante, diferenciadas em água acética e montadas em glicerina. Em cada lâmina montamos 3 secções de um mesmo tipo.

Considerando que, tanto os dentes não erupcionados, como os clinicamente normais, não possuíam cimento exposto, nestes fizemos somente cortes no sentido T.O e LT.

Fizemos o estudo da natureza das granulações, através de métodos histoquímicos para lipídios.

Reações utilizadas:

Sudan negro (Sudan Black B), segundo Lison (1960) e OTAN (tetróxido de ósmio -  $\text{OsO}_4$  - naftil

amina) segundo Adams (1969).

Fizemos essas reações em conjugação com o tratamento prévio das secções pelo  $\beta$  naftol (lipofanerose).

Realizamos também estas reações , após o tratamento pela acetona, e pelo clorofórmio - metanol ácido clorídrico (66:33:1, v/v/v).

Para o estudo de birrefringência desses grânulos , montamos secções não coradas em água e as observamos ao microscópio de polarização (Fotomicroscópio Zeiss - Pol.).

Foram também observadas, em polarização, secções coradas pelo cristal violeta, Sudan e OTAN.

Com o objetivo de facilitar a leitura quantitativa e distribuição dos grânulos, adotamos o seguinte critério:

a- quantitativo:

0- ausência de grânulos (Fig.7)

I- de 1 a 10 (Fig.8)

II- de 10 a 50 (Fig. 9)

III- mais que 50 (Fig.10)

b- distribuição:

S- superficiais (Fig.11)

M- médios (Fig.12)

P- profundos (Fig.13)

Quando encontramos , simultaneamente , grânulos superficiais, médios e profundos, para classificá-los, adotamos critério quantitativo (Fig.14).

Para o registro das leituras, através de microscopia ótica, criamos uma ficha (quadro I).

#### Amostra adicional

Além desses 93 dentes, incluímos outros 6, com envolvimento periodontal, a fim de avaliar a distribuição dos grânulos, no sentido longitudinal.

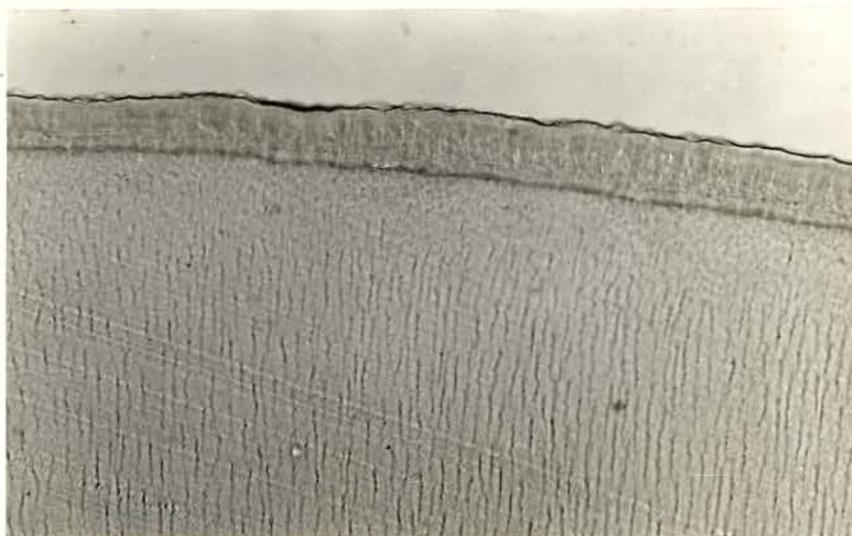


Fig.7

*Fotomicrografia mostrando cimento exposto onde os grânulos não foram encontrados.  
Corte Transversal -  $\pm$  80X*



Fig.8

*Fotomicrografia mostrando 2 grânulos aparentemente sob o cimento não exposto. Notar região próxima aos grânulos onde vemos fibras do ligamento em franca degeneração.  
Corte Transversal -  $\pm$  250X*

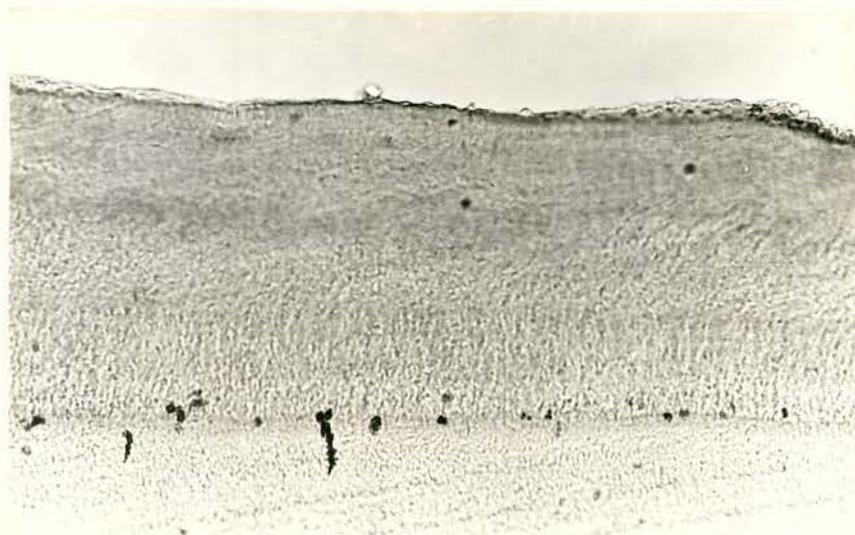


Fig.9

*Fotomicrografia, de corte transversal, onde vemos aproximadamente 20 grânulos próximos à junção, cimento-dentina, sob cimento coberto por cálculo dental. ± 250X*

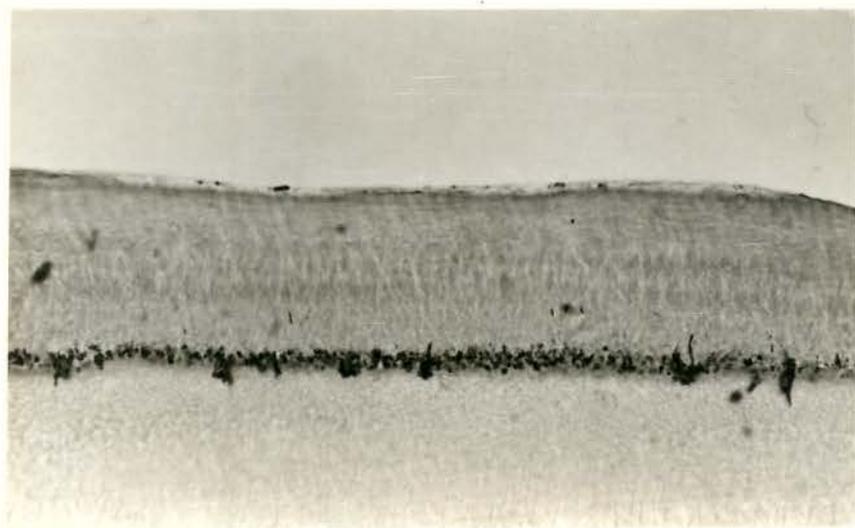


Fig.10

*Fotomicrografia, em corte transversal, mostrando grande concentração de grânulos na região cimento-dentina, em superfície radicular coberta por cálculo - ± 250X*



Fig.11

*Fotomicrografia, de corte transversal, em área radicular exposta, evidenciando grânulos superficiais, muito próximos ao cálculo aderido à superfície -  $\pm$  250X*



Fig.12

*Fotomicrografia, onde vemos grânulos medianamente situados no cimento exposto -  $\pm$  250X*



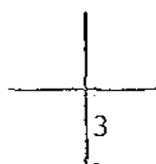
Fig.13

Fotomicrografia, mostrando grânulos localizados profundamente no cimento exposto -  $\pm 250X$



Fig.14

Fotomicrografia, mostrando grânulos localizados superficial, mediana e profundamente no cimento exposto; sendo de notar uma nítida relação com as linhas incrementais -  $\pm 250X$



M- 4 - 7  
L- 2 - 4  
D- 3 - 5  
V- 3 - 4

C- p  
I- 40  
S- f

NQ- 009-C  
Et  
Rω- 12

## T.O

V	IIM	IM	NC	IM	NC	IIM	IM	NC	NC
M	IIS	IIIP	0	IIIM	IIIM	IIIM	IIIM	0	0
L	NC	IS	NC	IIIM	0	0	0	NC	0
M	IIIM	IIIM	0	IIIM	0	IIM	IIM	NC	NC

## T.A

V	O	O	O	O	O	O	O	O	O
M	O	O	O	O	O	O	O	O	O
L	O	O	O	O	O	O	O	O	O
M	O	O	O	O	O	NC	NC	NC	NC

## LT

O	--	--	--	--	--	--	--	--	--
A	--	--	--	--	--	--	--	--	--

## Quadro I

Quadro correspondente ao original da ficha 009-C , com os seguintes símbolos:

T.O - corte transversal oclusal (cimento exposto).

T.A - corte transversal apical (cimento não exposto).

LT - corte longitudinal , mostrando na porção - O - cimento exposto e em - A - cimento protegido por ligamento.

N.C - ausência de cimento.

LG - ligamento periodontal.

L - face lingual ou palatina.

## RESULTADOS

## A - Aspectos Morfológicos e Quantitativos.

No exame microscópico das secções dos 21 dentes, sem doença periodontal, incluindo os não erupcionados e aqueles com periodonto clinicamente normal, não observamos presença de grânulos.

Dos 72 dentes com envolvimento periodontal, observamos grânulos em 32, sendo 11 desprezados, em uma parte deste estudo, por problemas diversos. Dos 32 positivos, em 26 encontramos grânulos nas secções T.O, permitindo seu estudo quantitativo, distribuição e localização. Os resultados são apresentados nas tabelas 1, 2 e 3.

Nos 6 dentes positivos restantes, encontramos grânulos somente nas secções longitudinais, que não permitiram avaliar sua distribuição.

Das 549 secções T.O, dos 61 dentes examinados, os resultados qualitativo e quantitativo encontram-se nas tabelas 4 e 5.

De maneira geral, a morfologia desses grânulos é extremamente variável, o que se pode notar pelas figuras 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 e 19.

As secções coradas pelo cristal violeta, quando examinadas ao microscópio, evidenciavam granulações, cuja coloração variava do marrom ao castanho escuro. Apresentavam-se isoladas ou agrupadas, variando sua distribuição.

Constatamos maior incidência nas proximidades da junção cimento-dentina (Figs. 8, 12 e 13).

Essas granulações podem estar localizadas na superfície ou na porção intermediária do cimento (Figs. 11 e 12).

Raras granulações foram observadas na dentina imediatamente subjacente ao cimento exposto (Fig. 22).

Dentes		Leituras								
028	- G	0	0	0	0	0	0	0	0	0
082	- Y	0	0	0	0	0	0	0	0	0
027	- G	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
008	- B	NC	NC	NC	0	0	0	NC	NC	NC
007	- B	0	0	NC	0	NC	NC	NC	NC	NC
047	- R	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
075	- X	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
094	- Ay	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
015	- D	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
062	- V	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
016	- E	NC	IS	0	0	0	NC	Lg	NC	NC
055	- V	IIP	IIP	IIP	NC	IIIP	NC	IIP	IIP	IIP
036	- L	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIM	IIIM	IIIM	IIIM
030	- G	IIM	IM	IM	0	0	IP	IIIP	IIP	IIM
033	- I	IM	IM	IM	0	0	0	0	0	0
010	- C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
009	- C	IIM	IM	NC	IM	NC	IIM	IM	NC	NC
031	- G	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
037	- L	0	0	0	0	0	0	0	0	0
012	- C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
035	- L	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
059	- V	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
029	- G	IP	IIS	IP	IM	IM	IIM	IM	IM	IM
052	- V	IIIP	NC	IIIP	NC	NC	NC	NC	NC	IIIP
038	- L	NC	0	0	IIP	NC	NC	NC	NC	NC
093	- Ay	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIM	IIM	IIIP	IIIM

Tabela 1

Resultados das leituras realizadas na face vestibular dos 26 dentes nos quais grânulos foram constatados em T.O. (Os símbolos usados nesta tabela, estão explicados nas páginas 29- 30 - 35).

Dentes		Leituras								
028	- G	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
082	- Y	0	NC	0						
027	- G	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
008	- B	0	0	0	0	0	0	0	0	0
007	- B	0	0	NC						
047	- R	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
075	- X	NC	NC	NC	NC	NC	0	NC	NC	NC
094	- Ay	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
015	- D	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	0	NC
062	- V	0	0	0	0	NC	0	0	0	0
016	- E	0	0	NC	NC	0	NC	NC	0	0
055	- V	NC	0	0	0	0	0	0	0	0
036	- L	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
030	- G	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
033	- I	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
010	- C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	IP	NC
009	- C	NC	IS	NC	IIIM	0	0	0	NC	0
031	- G	0	0	0	0	0	IM	0	0	0
037	- L	IP	NC	NC	0	0	0	0	0	0
012	- C	IM	IIIM	IIM	0	0	0	0	0	0
035	- L	IM	IM	0	0	0	0	0	0	0
050	- V	0	0	IIS	0	0	0	0	0	0
029	- G	IIM	IIM	IIP	IIM	IP	IIIP	IM	IIM	NC
052	- V	IIIP	NC	IIIP	IIIP	IIIP	NC	NC	NC	NC
038	- L	NC	IIM	IIIM	IIIM	IIIM	IIIP	IIIM	IIIM	IIIM
093	- Ay	IIIP	NC	IIIP	IIIP	0	0	NC	NC	NC

Tabela 2

Resultados das leituras realizadas na face lingual e ou palatina dos 26 dentes nos quais grânulos foram encontrados em T.O. (Os símbolos usados nesta tabela estão explicados nas páginas 29-30-35).

Dentes	Leituras									
028 - G	IM	0	IM	IM	IIIM	IIIM	IIM	IIM	0	
	0	0	0	0	0	0	IM	0	0	
082 - Y	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP
	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP
027 - G	IIP	IIP	IIP	IIP	IIIP	IIP	IP	IIP	IIP	
	IIP	0	IIIP	Lg	Lg	Lg	0	Lg	IP	
008 - B	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	0	IP	
	0	0	IP	0	0	0	IIIP	0	0	
007 - B	IM	IIM	0	IIM	IM	0	0	0	0	
	0	0	NC	0	0	NC	0	NC	0	
047 - R	0	0	0	0	0	0	0	NC	0	
	IM	IIM	IM	0	IM	IIP	0	0	IIM	
075 - X	IM	0	0	0	0	0	0	IM	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	NC	
094 - Ay	0	0	0	NC	NC	IM	0	NC	0	
	NC	0	0	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
015 - D	0	0	0	0	0	0	NC	0	0	
	0	NC	NC	0	0	IM	IM	IM	0	
062 - V	0	0	0	0	0	IP	IM	0	0	
	0	0	0	NC	NC	0	NC	0	NC	
016 - E	Lg	Lg	Lg	Lg	Lg	Lg	Lg	Lg	Lg	
	NC	Lg	Lg	NC	Lg	NC	NC	Lg	Lg	
055 - V	IIP	IIP	Lg							
	Lg	Lg	Lg	Lg	Lg	Lg	Lg	Lg	Lg	
036 - L	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	
	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	
030 - G	IIIP	IIIP	IIIM	NC	IIIM	IIIP	IIM	IIP	IM	
	IIIP	IIIP	IIIM	IM	IIM	IIIP	IIM	IIIP	IM	
033 - I	0	0	0	IIP	0	0	0	0	0	
	IIM	IM	IIIP	0	0	0	0	0	0	
010 - C	IM	IIIM	NC	NC	IIIM	IIIM	IP	IIIS	IIIS	
	IIM	IIIP	IIIM	NC	IIIM	IIM	IIIP	IM	IIIS	
009 - C	IIIS	IIIP	0	IIIM	IIIM	IIM	IIIM	0	0	
	IIIM	IIM	0	IIIM	0	NC	IIM	NC	NC	
031 - G	IIIM	IS	IIIM	IIIM	IM	IM	IP	IIIM	IIP	
	0	0	0	IIM	0	0	0	0	0	
037 - L	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIP	IIIP	IIIP	IIIP	
	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
012 - C	IM	IM	IP	0	IP	0	0	0	IP	
	NC	NC	0	NC	NC	NC	NC	NC	NC	
035 - L	IIIP	IIIM	0	IIIM	IIIM	IIIM	IIIM	IIIM	IIIM	
	IIIM	0	0	0	0	0	0	0	0	
059 - V	NC	NC	NC	NC	0	NC	0	0	0	
	NC	NC	NC	0	0	NC	0	0	0	
029 - G	IIM	IIIM	IIIP	IIIS	IIS	IIIP	IIIM	IIIP	IIM	
	IIS	IIP	IIP	IIM	NC	IIP	IIP	NC	NC	
052 - V	IIIP	IP	IIIP	IIIP	IIIP	0	0	IIIP	IIP	
	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIIP	IIP	
038 - L	NC	IIIM	0	IIIM	IM	IIIP	IIIM	IIIM	IIIM	
	NC	IIIM	IIIM	IIIM	IIIM	IIIP	IIIM	IIIM	IIIM	
093 - Ay	IIIP	IIIP	IIIP	0	0	IIIP	IM	IIIP	0	
	IM	IIIP	0	IIIP	0	0	0	IIIP	0	

Tabela 3

Resultados das leituras realizadas nas faces proximais dos 26 dentes nos quais grânulos foram encontrados em T.O. (Os símbolos usados nesta tabela estão explicados nas páginas 29-30-35).

Qualidade	Faces		
	V	L/P	Prox.
S	1	1	0
M	2	3	5
P	3	4	7
S e M	0	1	0
M e P	3	2	8
S, M e P	1	0	4
Total de dentes	10	11	24

Tabela 4

Resultado da ocorrência qualitativa por faces, nos dentes nos quais grânulos foram encontrados, em secções T.O.

Quantidade	V	L/P	Prox.
I	2	4	5
II	3	1	3
III	5	6	16
Total de dentes	10	11	24
<i>O</i>	18	16	27
<i>NC</i>	33	33	8
<i>Lg</i>	0	1	2
Total de dentes	51	50	37

Tabela 5

Resultado da ocorrência quantitativa por faces, nos dentes nos quais grânulos foram encontrados, em secções T.O.

Ao longo da superfície radicular exposta, há uma incidência nitidamente mais acentuada na região cervical que no terço apical - demonstrada no quadro 2.

Número de dentes:	Número de faces estudadas:	Total de leituras:	T.C		T.M		T.A	
			Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
6	12	108	86	2	66	28	18	84

Quadro 2

Demonstração do estudo da prevalência de grânulos em toda a extensão do cimento exposto, no sentido cervical-apical, em dentes da amostra adicional.

T.C - terço cervical do cimento exposto.

T.M - terço médio do cimento exposto.

T.A - terço apical do cimento exposto.

Neste quadro não foram computadas ausências de cimento eventualmente encontradas.

## B - Análise da Birrefringência.

Tanto as secções não coradas, como aquelas coradas pelo Sudan, pelo cristal violeta ou pelo OTAN, mostraram intensa birrefringência das granulações. As figuras 15 e 16 mostram os aspectos morfológicos e a birrefringência das granulações, quando as secções eram coradas pelo cristal violeta. O tratamento das secções pela acetona a 4°C por 2 horas, fez desaparecer completamente tanto a birrefringência como sua afinidade pelos corantes usados.

Quando se colocava, entre o polarizador e o analisador uma lâmina de quartzo de vermelho de 1ª ordem, estas granulações assumiam colorações, na maioria das vezes, diferentes do colágeno do cimento. Isto é, quando observados no 1º e 3º quadrante, o colágeno (cimento) assumia uma coloração azul-esverdeada, enquanto as granulações eram mais amareladas (Figs. 17, 18 e 19). Quando se invertia o quadrante, isto é, no 2º e 4º, o colágeno aparecia mais amarelado, enquanto que parte das granulações tornava-se azul-esverdeada (Fig.20).



Fig.15

*Fotomicrografia de secção transversal, corada pelo cristal violeta observada ao microscópio de polarização, com o polarizador e analisador não cruzados -  $\pm$  200X*

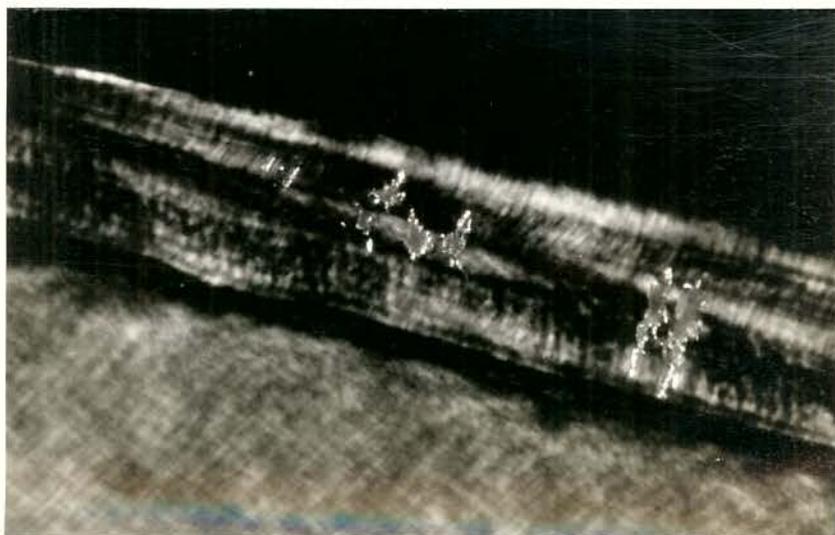


Fig.16

*Mesmo detalhe da figura anterior observada com o polarizador e analisador cruzados. Os grânulos aparecem intensamente birrefringentes -  $\pm$  200X*

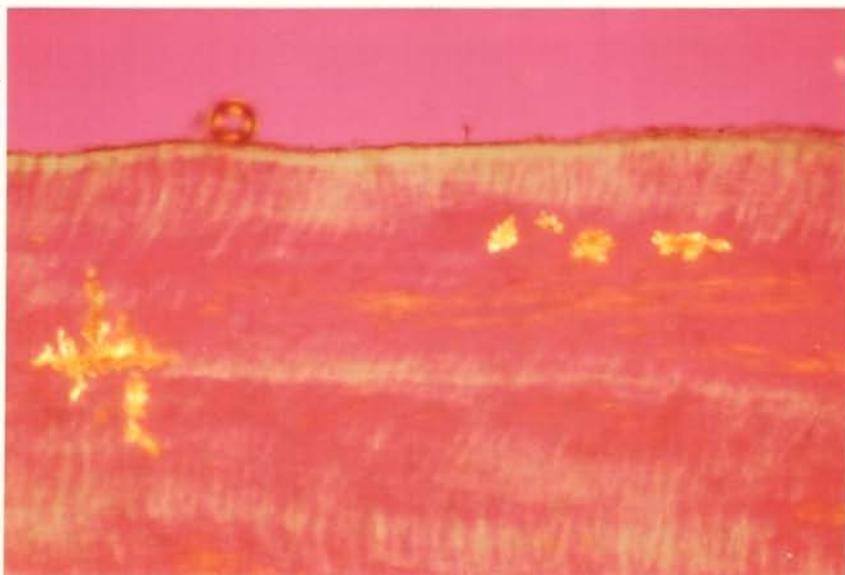


Fig.17

Fotomicrografia de uma secção, observada em microscópio de luz polarizada, no 1º ou 3º quadrante com vermelho de 1.ª ordem, evidenciando a birrefringência do cimento e dos grânulos -  $\pm 250X$

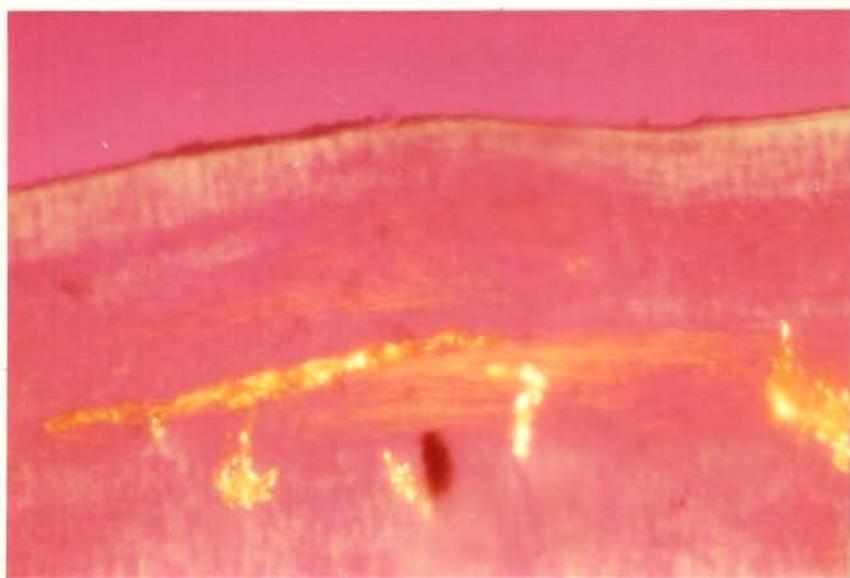


Fig.18

Secções observadas em microscópio de luz polarizada no 1º e 3º quadrante com vermelho de 1.ª ordem onde o cimento apresenta-se azul-esverdeado e as granulações amareladas -  $\pm 250X$



Fig.19

*Fotomicrografia de secção observada em luz polarizada, utilizando vermelho de 1a. ordem. Observa-se que o cimento assume uma coloração verde-azulada enquanto as granulações aparecem mais amareladas, no 1º e 3º quadrante.*



Fig.20

*Fotomicrografia de secção observada em luz polarizada utilizando vermelho de 1a. ordem. Observa-se que o cimento assume uma coloração amarelada enquanto as granulações aparecem predominantemente verde-azuladas, no 2º e 4º quadrantes.*

Para a avaliação da natureza histoquímica, foram utilizadas reações específicas para lipídios, conjugadas com métodos de extração por solventes.

As reações de sudanofilia e a reação pelo OTAN mostraram-se inicialmente negativas em todas as secções, tendo sido necessária uma lipofaneroze (Lison, 1960), para que estas reações se positivassem. A lipofaneroze foi feita através de um tratamento prévio das secções, durante 5 minutos, em solução aquosa de  $\beta$  naftol a 1%.

Após a lipofaneroze, as secções sobrenadantes foram coradas pelo Sudan Black B (Lison-1960), durante 30 minutos.

Observamos que, após a lipofaneroze, as granulações coravam-se intensamente pelo Sudan (Figs. 21 e 22).

O tratamento das secções pela acetona ou pelo clorofórmio-metanol-ácido clorídrico, realizado antes ou após a lipofaneroze, deram sistematicamente resultados negativos.

Em secções tratadas previamente pelo  $\beta$  naftol e depois pelo método OTAN, as granulações apresentaram intensa coloração negra (Figs. 23 e 24).

O tratamento das secções por solventes de gorduras, fez com que as reações ao OTAN fossem negativas.

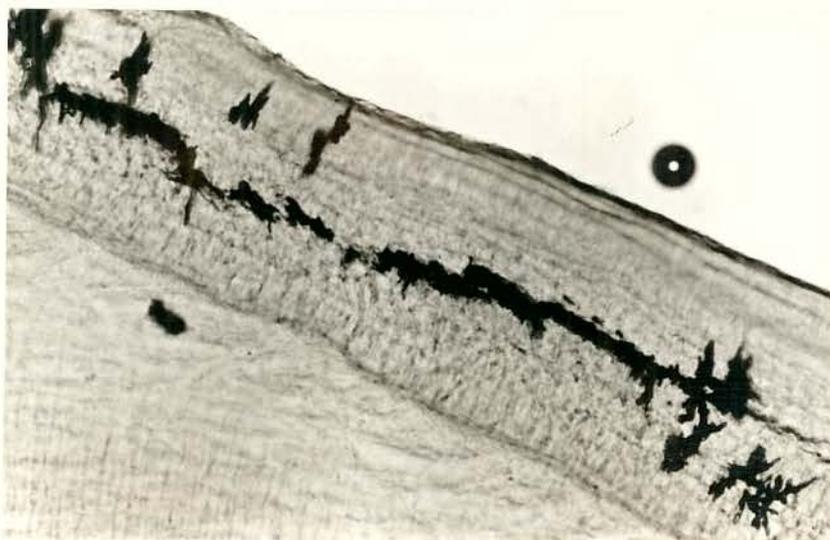


Fig.21

*Fotomicrografia de secção corado pelo Sudan Black após lipofanerose pelo  $\beta$  - naftol-  
 $\pm$  250X*

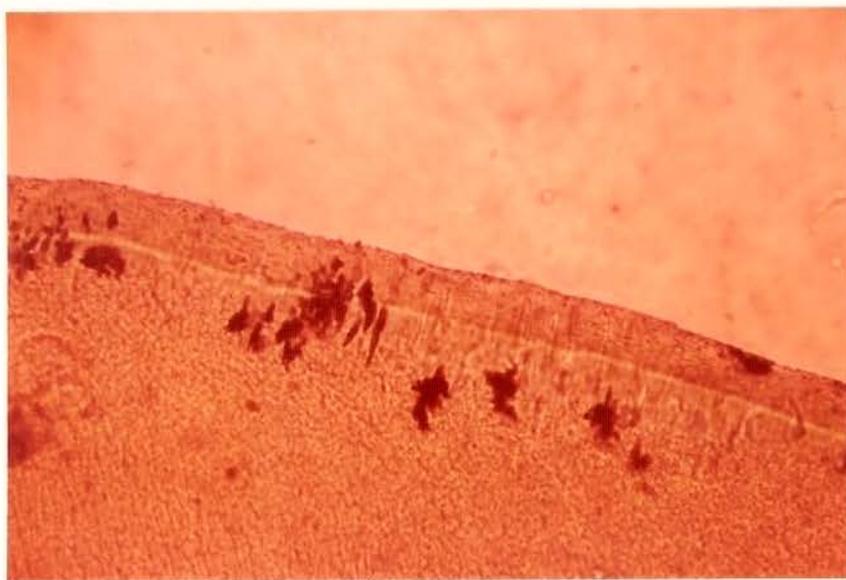


Fig.22

*Fotomicrografia de secção corada pelo Sudan Black, mostrando morfologia diversa da encontrada na anterior -  $\pm$  50X*

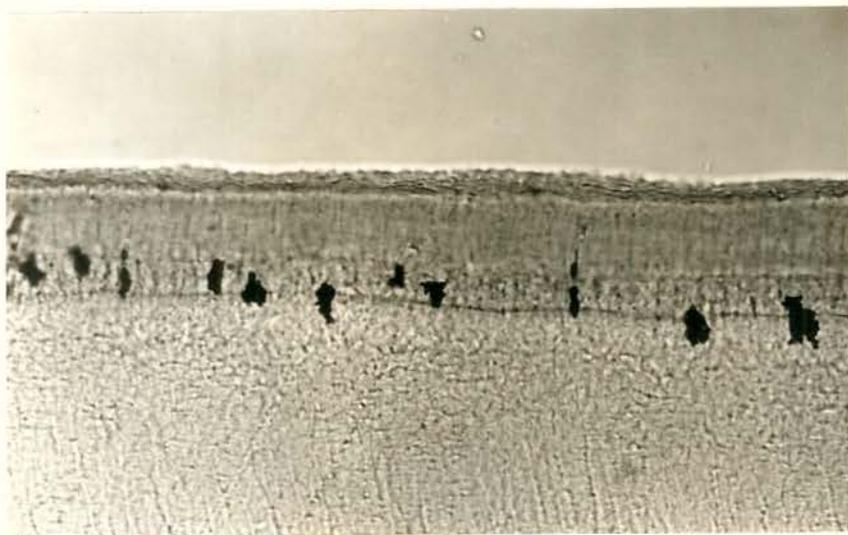


Fig.23

*Fotomicrografia mostrando granulações coradas pelo OTAN, após tratamento das seções pelo  $\beta$  naftol -  $\pm$  100X*

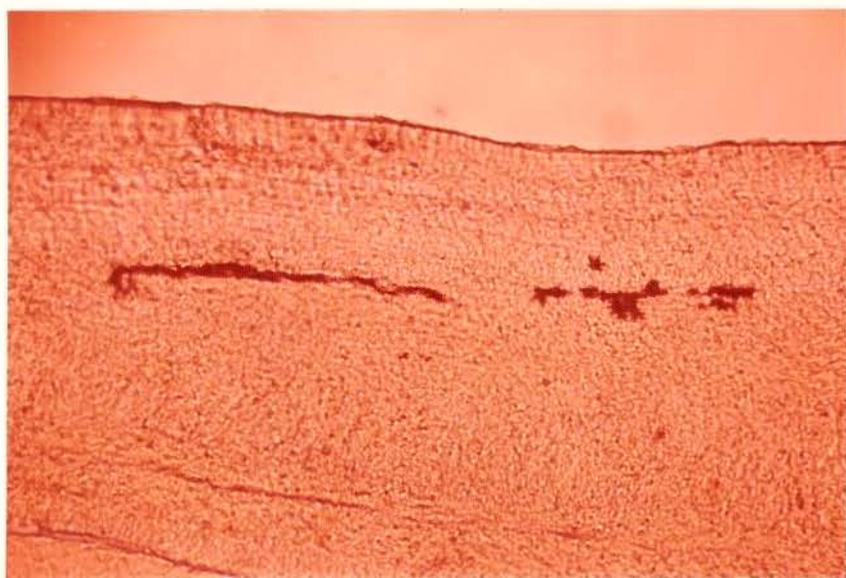


Fig.24

*Fotomicrografia onde vemos grânulos corados em preto pelo OTAN -  $\pm$  250X*

## DISCUSSÃO

Os resultados, encontrados na presente pesquisa, mostram algumas divergências sobre o que até agora existe dos "grânulos patológicos" do cemento, não são em relação aos percentuais observados, mas, principalmente, quanto aos aspectos histoquímicos e histofísicos.

Com relação à morfologia, foram encontrados exatamente os mesmos aspectos descritos anteriormente por Bass (1951), Benson (1963) e Armitage e Christie (1973). Entretanto, com relação à prevalência, distribuição e natureza dos grânulos, a presente pesquisa trouxe informações importantes.

No que concerne à prevalência, Armitage e Christie (1973) encontraram estes grânulos, em 96% dos dentes com "avançada doença periodontal". Benson (1963) encontrou a mesma incidência, sem contudo correlacioná-la com o estado clínico do periodonto.

No presente trabalho, tais granulações foram encontradas somente em 52% dos dentes com doença periodontal. Esta grande discrepância poderá estar intimamente relacionada com a variedade da amostra utilizada, contrastando com a de outros autores.

A avaliação clínica dos espécimes com algum grau de envolvimento periodontal, traduzida, neste trabalho pela profundidade da bolsa e perda de inserção, poderá ser verificada nas tabelas 6, 7, 8 e 9.

Analisando os resultados obtidos nos 32 dentes positivos (tabela 6 e 8), observamos que, se forem avaliados, pela perda de inserção, a prevalência estaria levemente mais relacionada (6,52 mm para 3,97 mm) com a presença de grânulos, quando esta é avaliada somente pela profundidade da bolsa periodontal (4,10 mm para 2,87mm), ou seja, 1,642 para 1,428 respectivamente, confirmados pela análise individual de cada face (tabelas 11, 12 e 13). Isto se explica por encontrarmos casos de ressecção ou hiperplasia gengival, proporcionando falsa apreciação do estágio da doença.

A presença de grânulos e sua íntima relação com a doença periodontal, está demonstrada no presente estudo, por não acharmos grânulos nos dentes não erupcionados, nos clinicamente normais, nas

secções (T.A) e região (Y) dos cortes (LT). Constatamos uma única exceção (Fig.8) onde vemos um grânulo em cimento protegido por membrana periodontal. Isto se explica, pelo exame da figura em questão, onde observamos degeneração das fibras próximas a este grânulo.

O resultado do estudo da incidência, quantidade e localização desses grânulos, em cada uma das faces dos dentes, é encontrado nas tabelas 11, 12 e 13. Concordamos em parte com o trabalho de Benson, quando afirma serem os grânulos mais incidentes nas faces proximais, que na vestibular, lingual ou palatina.

Para explicar esse achado, poder-se-ia correlacionar a maior ausência de cimento, observado nas faces vestibular, lingual ou palatina que nas proximais - tabela 10.

Profundidade média da bolsa periodontal: X	Número de dentes: f	f.X
2,00 mm	1	2,00
2,25 mm	1	2,25
2,50 mm	2	5,00
2,75 mm	3	8,25
3,00 mm	6	18,00
3,25 mm	1	3,25
3,50 mm	1	3,50
3,75 mm	3	11,25
4,00 mm	1	4,00
4,25 mm	2	8,50
4,50 mm	1	4,50
4,75 mm	5	23,75
5,00 mm	1	5,00
5,25 mm	2	10,50
8,75 mm	1	8,75
12,25 mm	1	12,25
	$\Sigma f = 32$	$\Sigma f.X = 130,75$

$$\bar{X} = \frac{\Sigma f.X}{\Sigma f} = \frac{130,75}{32} = 4,10 \text{ mm}$$

Tabela 6

Estudo da média aritmética da profundidade das bolsas, dos dentes nos quais foram detectadas granulações.

Profundidade média da bolsa periodontal: X	Número de dentes: f	f.X
1,50 mm	1	1,50
2,00 mm	1	2,00
2,25 mm	4	9,00
2,50 mm	5	12,50
2,75 mm	6	16,50
3,00 mm	4	12,00
3,25 mm	3	9,75
3,50 mm	3	10,50
3,75 mm	1	3,75
5,75 mm	1	5,75
	$\Sigma f = 29$	$\Sigma f.X = 83,25$

$$\bar{X} = \frac{\Sigma f.X}{\Sigma f} = \frac{83,25}{29} = 2,87 \text{ mm}$$

Tabela 7

Estudo da média aritmética da profundidade das bolsas, dos dentes nos quais NÃO foram detectadas granulações.

Quantidade média de cimento exposto : $X$	Número de dentes: $f$	$f \cdot X$
2,50 mm	1	2,50
3,25 mm	1	3,25
3,50 mm	1	3,50
3,75 mm	1	3,75
4,25 mm	1	4,25
4,50 mm	3	13,50
5,00 mm	4	20,00
5,50 mm	4	22,00
5,75 mm	2	11,50
6,00 mm	1	6,00
6,25 mm	2	12,50
6,50 mm	1	6,50
7,25 mm	2	14,50
7,75 mm	1	7,75
8,50 mm	1	8,50
8,75 mm	1	8,75
9,00 mm	2	18,00
10,00 mm	1	10,00
14,75 mm	1	14,75
17,25 mm	1	17,25
	$\Sigma f = 32$	$\Sigma f \cdot X = 208,75$

$$\bar{X} = \frac{\Sigma f \cdot X}{\Sigma f} = \frac{208,75}{32} = 6,52 \text{ mm}$$

Tabela 8

Estudo da média aritmética da quantidade de cimento exposto, dos dentes nos quais foram detectadas granulações.

Quantidade média de cimento exposto: $X$	Número de dentes: $f$	$f \cdot X$
2,25 mm	3	6,75
2,75 mm	2	5,50
3,00 mm	2	6,00
3,25 mm	2	6,50
3,50 mm	6	21,00
3,75 mm	2	7,50
4,00 mm	1	4,00
4,25 mm	3	12,75
4,50 mm	1	4,50
4,75 mm	2	9,50
5,25 mm	1	5,25
5,50 mm	1	5,50
6,00 mm	2	12,00
8,25 mm	1	8,25
	$\Sigma f = 29$	$\Sigma f \cdot X = 115,00$

$$\bar{X} = \frac{\Sigma f \cdot X}{\Sigma f} = \frac{115,00}{29} = 3,97 \text{ mm}$$

Tabela 9

Estudo da média aritmética da quantidade de cimento exposto, dos dentes nos quais NÃO foram detectadas granulações.

Faces	número de dentes	porcentagem
V	41	57%
L/P	43	59%
P	14	19%

Tabela 10

Perda de cimento por face, em 72 dentes examinados.

V - Vestibular.

L/P - Lingual ou Palatina.

P - Proximais.

*Obs.:* Consideramos, neste estudo, dentes desprotegidos de cimento (N.C), quando em mais da metade das leituras (T.O) esta ausência foi observada.

Pela leitura das tabelas 11, 12 e 13, entende-se não ter havido uma significante preponderância quanto à localização (S, M e P) e quantidade de granulações (I, II e III) proporcionais à média da perda da inserção e da profundidade da bolsa periodontal, porque, os resultados foram relativamente constantes, apesar da grande variação dos dados clínicos das faces estudadas.

		FACE VESTIBULAR			Leituras das Seções						
Posi- ti- vos	Profundi- dade da bolsa. (Média)	Perda da inserção (Média)	Número do dentes	Porcen- tagem	Quantidade/ Locali- zação	S	M	P	To- tal	Porcen- tagem	Total Lei- turas
	3,5 mm	5,1 mm	10	38,40%	I	1	13	3	17	19%	54
					II	1	6	3	15	17%	
					III	0	6	16	22	24%	
					Total	2	25	27	54		
					Porcen- tagem	2%	28%	30%		60%	
					O		13		13	14%	
					NC		22		22	24%	
					Lg		1		1	2%	
					Total		35		36	40%	
					Nega- tivos	3,0 mm	4,7 mm	16	61,60%	Leitu- ras	
O	3	18%									
NC	11	69%									
O e NC	2	13%									
Total	61 dentes	26	100%	16						100%	

Tabela 11  
Estudo, da distribuição e localização das granulações, por faces.

FACE		LINGUAL E OU PALATINA			Leituras das Secções						
Posi- ti- vos	Profundi- dade da bolsa. (Média)	Perda da inserção. (Média)	Número de dentes	Porcen- tagem	Quantidade/ Locali- zação	S	M	P	To- tal	Porcen- tagem	Total Lei- turas
	3,7 mm	8,0 mm	11	42%	I	1	5	3	9	9,2%	34
					II	1	6	1	8	8,8%	
					III	0	8	9	17	17%	
					Total	2	19	15	34		
					Porcen- tagem	2%	20%	13%		35%	
					0		41	41	41%	65	
					NC		24	24	24%		
					Lg		0	0	0%		
Total		65	65	65%							
Nega- tivos	3,4 mm	6,4 mm	15	58%	Leitu- ras	Número de dentes		Porcen- tagem		234	
					0	1	6%				
					NC	7	47%				
					0 e NC	7	47%				
Total		61 dentes	26	100%	15		100%				

Tabela 12  
Estudo, da distribuição e localização das granulações, por faces.

## FACES PROXIMAIS

Posi- ti- vos	Profundi- dade da bolsa. (Média)	Perda da inserção (Média)	Número de dentes	Porcen- tagem	Leituras das Seções					
					Quantidade/ Localiza- ção	S	M	P	To- tal	Porcen- tagem
5,1 mm	7,2 mm	24	92%	I	1	14	10	25	11%	111
				II	1	10	10	21	10%	
				III	2	20	43	65	30%	
				Total	4	44	63	111		
				Porcen- tagem	2%	23%	29%		51%	
				0		70	70	32%	105	
				NC		25	25	13%		
				Lg		10	10	4%		
				Total		114	114	49%		
				Nega- tivos	4,7 mm	4,0 mm	8%	Leitu- ras	Número de dentes	
0	0	0%								
NC e 0	1	50%	9							
NC e Lg	1	50%	9							
Total	61 dentes	26	100%		2	100%	234			

Tabela 13

Estudo, da distribuição e localização das granulações, por faces.

## BIRREFRINGÊNCIA E HISTOQUÍMICA

Quando observamos estas secções em luz polarizada, os resultados mostraram exatamente o contrário do exposto pelos autores que estudaram estas granulações. A intensa birrefringência, evidenciada pelas figuras 15, 16, 17, 18, 19 e 20, mostra que tanto Bass como Benson, como Armitage e Christie devem haver-se equivocado ou utilizado métodos inadequados. O desaparecimento da birrefringência desses grânulos, quando as secções eram tratadas por solventes de lipídios, como a acetona ou o clorofórmio-metanol-ácido clorídrico, permitiu a suposição de que parte dessa birrefringência era devida a lipídios. As reações histoquímicas específicas (Figs. 21, 22, 23 e 24) comprovaram esta evidência, não só pela sua positividade como pelos resultados negativos, quando eram conjugados com técnicas de remoção de lipídios. Os resultados observados com Sudan e OTAN, antes e após o tratamento com solvente, permitem afirmar que estas granulações, sem dúvida alguma, possuem uma natureza lipídica, havendo provavelmente uma associação com proteínas, formando complexos lipoproteicos. Esta afirmação baseia-se no fato das reações histoquímicas só se positivarem, após lipofaneroze e a birrefringência desaparecer completamente, depois do tratamento das secções, por solventes de gorduras.

Quanto à sua origem, Armitage e Christie (1973), examinando, ao nível de microscopia eletrônica, os espaços ocupados pelos grânulos, denominados vacúolos, realçam a insistente semelhança morfológica entre fibras colágenas e esses vacúolos.

Esses mesmos autores, utilizando as técnicas histoquímicas específicas para lipídios, não conseguiram demonstrar a presença dessa substância, discordando frontalmente dos resultados do presente trabalho, encontrados - Figs. 21, 22, 23 e 24.

A própria presença dos vacúolos, observada por Armitage e Christie ao M.E., fala a favor da natureza lipídica dessas granulações.

## CONSIDERANDOS

Analisando à luz dos nossos resultados, a maneira pela qual se formariam esses grânulos, chamados de "patológicos" por Bass (1951), observamos:

- 1- Independem, em quantidade e localização, dos vários estágios da doença.
- 2- A incidência é diretamente proporcional à evolução da doença.
- 3- Na superfície radicular exposta, são acentuadamente mais prevalentes no terço cervical que no apical.

Se a quantidade e localização independem do estágio da doença, eles - grânulos - já estariam previamente programados, antes do cimento, tornar-se exposto, isto é, na cementogênese.

Isto é muito provável, pois na maioria das secções estudadas, eles se apresentaram quase sempre relacionados a uma ou mais linhas incrementais, lembrando um determinado estágio na formação do cimento.

Sendo a incidência desses grânulos diretamente proporcional à doença e, admitindo-se a hipótese de que esse estado inflamatório por sua

- "influência" - promova uma variação estrutural na superfície radicular exposta, é lógico imaginar que, quanto mais tempo a - "influência" - se fizer presente, maior oportunidade terá para atingir camadas mais profundas da superfície radicular exposta - junção cimento-dentina, tornando as granulações evidentes. Este raciocínio é reforçado pela análise da distribuição longitudinal, onde é mais incidente, no terço que mais tempo ficou exposto à doença, ou seja, no cervical.

Para chegar a uma conclusão, se não definitiva, ao menos satisfatória, essas modificações estruturais, em forma de grânulos, matéria não fluida nem imprecisa, terão que ser integralmente avaliadas na metodologia da raspagem dental. Equacionando esses valores, recomendamos que a raspagem dental seja efetuada, levando-se em consideração o sentido da extensão patológica, tanto longitudinal - perda de inserção - como no sentido cimento-polpa.

A esta raspagem, mais racional, equilibrada e contemporânea, chamaremos RASPAGEM INTEGRAL.

## CONCLUSÃO

- 1º - Não encontramos "grânulos patológicos", em nenhum dos dentes não erupcionados ou com periodonto clinicamente normal.
- 2º - A incidência dos grânulos é sensivelmente maior nos dentes envolvidos por doença periodontal inflamatória, cuja profundidade média da bolsa é da ordem de 4,10 mm do que naqueles cuja profundidade média é de 2,87 mm.
- 3º - A incidência de grânulos é acentuadamente maior nos dentes envolvidos por doença periodontal inflamatória, cuja perda média de inserção é de 6,52 mm do que naqueles cuja perda média de inserção é de 3,97 mm.
- 4º - A presença de grânulos é acentuadamente maior nas faces proximais, que na lingual ou palatina e vestibular.

- 5º - A perda de cemento, nas faces vestibular, lingual e ou palatina, 57% e 59%, respectivamente, é acentuadamente maior que nas proximais, 19%.
- 6º - Os grânulos apresentam-se birrefringentes, quando secções coradas e não coradas são examinadas ao microscópio polarizante.
- 7º - As reações histoquímicas demonstram que estes grânulos tem uma natureza lipídica.
- 8º - Esses lipídios são predominantemente de caráter neutro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

1. ADAMS, C.W.M. - Lipid histochemistry. *Adv.Lipid Res.* 7: 1-62, 1969.
2. ARMITAGE, G.C. & CHRISTIE, T.M. - Structural changes in exposed human cementum. I. Light microscopic observations. *J.periodont. Res.*, 8(6) : 343-55, 1973.
3. ARMITAGE , G.C. & CHRISTIE, T.M. - Structural changes in exposed human cementum. II. Electron Microscopic observations. *J.periodont. Res.* , 8(6): 356-65, 1973.
4. BARTELSTONE, H.J. - Survey of the use of radioactive isotopes in dentistry. *N.Y.J.Dent.* , 20(8/9): 320-35, Aug./Sept. 1950.

---

\* De acordo com PNB/66 da Associação Brasileira de Normas Técnicas/1970.

Abreviaturas de periódicos - World Medical Periodicals.

5. BASS, C.C. - A previously undescribed demonstrable pathologic condition in exposed cementum and the underlying dentine. *Oral Surg.*, 4(5) : 641-51, May 1951.
6. BENSON, L.A. - A study a pathologic condition in exposed cementum. *Oral Surg.*, 16(9): 1137-49, Sept. 1963.
7. BLACKWOOD, H.J.J. - Intermediate cementum. *Brit. dent.J.*, 102(9): 345-50, May 7, 1957.
8. BLAYNEY, J.R., WASSERMAN, F., GROETZINGER, G. , & DEWITT, T.G. - Further studies in mineral metabolism of human teeth by the use of radioactive phosphorus. *J.dent.Res.*, 20(6): 559-63, Dec. 1941.
9. BODECKER, C.F. - The difficulty of completely removing subgingival calculus. *J.Amer.dent.Ass.*, 30(8): 703-8, Apr. 1943.
10. BOZZO, L. - The structural orientation of human cementum determined through form birefringence curve. *Bull.Tokyo med.dent.Coll.*, 18(2): 185-9 , Aug. 1972.

11. CABRINI, R. - *Histología y embriología bucodentaria*. Buenos Aires, El Ateneo, 1947.
12. CARRANZA, F.A. - A technic for reattachment. *J. Periodont.*, 25(4): 272-8, Oct. 1954.
13. CESAR, H.C., LAUAND, F., LIA, R.C.C., ZARAMELLA, A. & FONSECA, M.J.C. - Contribuição para o estudo histológico da junção cimento-dentina. *Rev. Fac. Farm. Odont. Anaraquara*, 2(1): 67-80, jan/jun. 1968.
14. CHAIKIN, B.S. - Subgingival curettage. *J. Periodont.*, 25(4): 240-2, Oct. 1954.
15. COOLIDGE, E.D. - The reaction of cementum in the presence of injury and infection. *J. Amer. dent. Ass.*, 18(3): 499-525, Mar. 1931.
16. DIAS JUNIOR, T. - Conexão cimento-dentina. *Rev. bras. Odont.*, 16(93): 169-71, maio/jun. 1958.
17. EL MOSTEHY, M.R. & STALLARD., R.E. - Intermediate cementum. *J. periodont. Res.*, 3(1): 24-9, 1968.
18. ERAUSQUIN, J. - *Histología y embriología dentaria*. Buenos Aires, Progental, 1958. p. 182-200.

19. FORSBERG, A., LAGERGREN, C. & LONNERBLAD, T. -  
Dental calculus - A biophysical study. *Oral Surg.*,  
13(9): 1051-60 , Sept. 1960.
20. FUENTES, A. - Fibras nerviosas en el cemento.  
*Odont.urug.*, 25(1): 5-12, enero 1970.
21. FURSETH, R. - Further observations on the fine  
structure of orally exposed and carious human  
dental cementum. *Arch.oral Biol.*, 16(1): 71-85,  
Jan. 1971.
22. FURSETH, R. - A microradiographic and electron  
microscopic study of the cementum of human deci-  
duous teeth. *Acta.odont.scand.*, 25(6):613-27, Dec.  
1967.
23. GLICKMAN, I. - *Clinical periodontology*. 4. ed.  
Philadelphia, Saunders, 1972. p.624.
24. GOLDMAN, H.M. - Subgingival curettage, a ratio-  
nale. *J.Periodont.*, 19(2): 54-62, Apr. 1948.
25. HARVEY, B.L.C. & ZANDER, H.A. - Root surface  
resorption of periodontally diseased teeth. *Oral  
Surg.*, 12(12): 1439-43, Dec. 1959.

26. HELD, A.J. - Cementogenesis and the normal and pathologic structure of cementum. *Oral Surg.*, 4(1): 53-67, Jan. 1951.
27. HENRY, J.L. & WEINMANN, J.P. - The pattern of resorption and repair of human cementum. *J.Amer.dent.Ass.*, 42(3): 270-90, Mar. 1951.
28. HIRSCHFELD, L. - Subgingival curettage in periodontal treatment. *J.Amer.dent.Ass.*, 44(2) : 301-14, Feb. 1952.
29. HURZELER, B. & ZANDER, H.A. - Cementum apposition in Periodontally diseased teeth. *Helv.odont.Acta*, 3(1): 1-3, Apr. 1959.
30. ISHIKAWA, G. YAMAMOTO, H., ITO, K., & MASUDA, M. - Microradiographic study of cementum and alveolar bone. *J.dent.Res.*, 43(5): 936-44, Sept/Oct. 1964.
31. JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO, J. - *Histologia básica*. 2.ed. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, 1971. p.259.
32. KERR, D.A. - The cementum: its role in periodontal health and disease. *J.Periodont.*, 32(3) : 183-9, July 1961.

33. KRONFELD, R. - The biology of cementum. *J.Amer. dent.Ass.*, 25(9): 1451-61, Sept. 1938.
34. LIGHTNER, L.M., O'LEARY, T.J., DRAKE, R.B., CRUMP, P.P. & ALLEN, M.F. - Preventive periodontic treatment procedures: results over 46 months. *J. Periodont.*, 42(9): 555-61, Sept. 1971.
35. LISON, L. - *Histochemie et cytochimie animales*, X  
- 3. ed. Paris - Gauthier Villars, 1960. v.2 ,  
p.479.
36. LØVDAL, A.A., ARNO, A., SCHEI, O. & WAERHAUG, J. - Combined effect of subgingival scaling and controlled oral hygiene on the incidence of gengivitis. *Acta.odont.scand.*, 19(3/4): 537-55, 1961.
37. MENEZES, A.C. - *Contribuição à seleção da série radiográfica para fins periodontais*. Bauru, 1974. (Tese - Mestrado - Faculdade de Odontologia).
38. MORRIS, M.L. - The subcutaneous implantation of periodontally diseased roots. *J.Periodont.*, 43(12): 737-47, Dec. 1972.
39. NABERS, C.L.; PRICHARD, J.F.; ROBINSON, R.E. & SCHALLHORN, R.G. - In our opinion. *J.Periodont.*, 41(7): 419-23, July 1970.

40. ORBAN, B. - *Histologia e embriologia oral*. 3. ed. Rio de Janeiro, Atheneu, 1955. p.197 , 199, 204, 207 e 212.
41. ORBAN, B. - Resorption and repair on the surface on the root. *J.Amer.dent.Ass.*, 15(9): 1768-77, Sept. 1928.
42. PANNACI, R. - Canales vasculares en el cemento humano. *Acta odont.venez.*, 8(1): 3-29, abr. 1970.
43. PANNACI, R. -- Las lagunas del cemento. Forma y distribucion. *Acta odont.venez.*, 9(1 y 2): 16-31, enero/agosto 1971.
44. PRITZ, W. - À propos de l'histologie de la jonction dentine cément. *Bull.Grp.int.Rech.sci. Stomat.* , 5(1): 9-29, Jan. 1962.
45. RAMFJORD, S.P. - The periodontal disease index (PDI). *J.Periodont.*, 38(6): 602-10 , Nov./Dec. 1967.
46. RAUTIOLA, C.A. & CRAIG, R.G. - The microhardness of cementum and underlying dentin of normal teeth and teeth exposed to periodontal disease. *J.Periodont.*, 32(1): 113-23, Jan. 1961.
47. RIFFLE, A.B. - The cementum during curettage. *J.Periodont.*, 23(3): 170-7, July 1952.

48. RIFFLE, A.B. - The dentin: its physical characteristics during curettage. *J.Periodont.* 24(24): 232-41, Oct. 1953.
49. RIFFLE, A.B. - The dentin: its physical characteristics during curettage. II - Statistical findings. *J.Periodont.* , 25(2): 138-49, Apr. 1954.
50. SASSO, W.S. & VILLA, N. - Estudo histoquímico do cemento dental humano. *Rev.Fac.Odont.S.Paulo.*, 4(2): 183-90, jul./dez. 1966.
51. SCHAFFER, E.M. - Histological results of root curettage of human teeth. *J.Periodont.*, 27(4): 296-300, Oct. 1956.
52. SELVIG, K.A. - Biological changes at the tooth-saliva interface in periodontal disease. *J.dent. Res.*, 48(5): 846-55, Sept./Oct. 1969.
53. SELVIG, K.A. - The fine structure of human cementum. *Acta odont.scand.*, 23(4): 423-41, Aug. 1965.
54. SELVIG, K.A. - An ultrastructural study of cementum formation. *Acta odont.scand.*, 22(1) : 105-20, 1964.

55. SELVIG, K.A. & SELVIG, S.K. - Mineral content of human and seal cementum. *J.dent.Res.*, 41(3): 624-32, May/June 1962.
56. SELVIG, K.A. & ZANDER, H.A. - Chemical analysis and microradiography of cementum and dentin from periodontally diseased human teeth. *J.Periodont.*, 33(4): 303-10, Oct. 1962.
57. SHROFF, F.R. - An observation on the attachment of calculus. *Oral Surg.*, 8(2): 154-60, Feb. 1955.
58. SONI, N.N., HUYSEN, G.V. & SWENSON, H.M. - A microradiographic and X-ray densitometric study of cementum. *J.Periodont.*, 33(4): 372-8, Oct.1962.
59. THEBAUD, J. - Some microscopic aspects of the curetted surface of the cementum after the subgingival curettage. *J.Canad.dent.Ass.*, 17(3): 127-30, Mar. 1951.
60. THOMA, K.H. & GOLDMAN, H.M. - The pathology of dental cementum. *J.Amer.dent.Ass.*, 26(11): 1943-53, Nov. 1939.
61. WAINWRIGHT, W.W. - The permeability of human dental root structures to radioactive iodine. *J.Periodont.*, 23(2): 95-102, Apr. 1952.

62. WARREN, E.B., HANSEN, N.M., SWARTS, M.L. & PHIL-  
LIPS, R.W. - Effects of periodontal diseased and  
of calculus solvents on microhardness of cementum.  
*J.Periodont.*, 35(6): 505-11, Nov./Dec.1964.
63. YAMADA, N. - Fine structure of exposed cementum  
in periodontal disease. *Bull.Tokyo med.dent.Univ.*,  
15(4): 409-34, Dec. 1968.
64. YAMAMOTO, H., MASUDA, M., TOEDA, K. & SUZUKI, K.  
- Microradiographic and histopathological study  
of the cementum. *Bull.Tokyo med.dent.Univ.*, 9(2):  
139-50, June 1962.
65. ZANDER, H.A. - The attachment of calculus to  
root surfaces. *J.Periodont.*, 24(1): 16-9 , Jan.  
1953.
66. ZANDER, H.A. & HURZELER, B. - Continuous cemen-  
tum apposition. *J.dent.Res.*, 37(6): 1035-43,  
Nov./Dec. 1958.