

SELMO DE ÁVILA LIMA

Farmacêutico Bioquímico

**ESTUDO MORFOLÓGICO DAS CÉLULAS DOS ÓRGÃOS
ODONTOGÊNICO E DO ESMALTE DO INCISIVO INFERIOR
DE CAMUNDONGOS SIALOADENECTOMIZADOS**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do grau de Mestre em Biologia e Patologia Buco-Dental, na área de Histologia e Embriologia.

PIRACICABA
1981

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Aos meus Pais, JOSÉ e ANA, exemplos de amor e cordialidade familiar, proporcionando-me tranquilidade e segurança na vida;

Aos meus irmãos:

SHEILA e MANOEL
SUELI e JOAQUIM
MAURO e CLEUSA
GENÉSIO e FILOMENA
JOSÉ AMADOR e
JUAREZ;

À minha esposa, RACHEL, pelo carinho e compreensão nos momentos mais difíceis, durante o curso de Pós-Graduação,

ofereço este trabalho.

A G R A D E C I M E N T O S

À Dra. TEREZA DE LOURDES SCARPARI
BARRICHELLO, Professora Assistente Doutora do
Departamento de Biologia e Patologia Bucodental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP), pela eficaz orientação e constante dedicação na realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. ANTONIO CARLOS NEDER, D.D. Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP;

Ao Professor Dr. VINIO BARBOSA TAMBURINI, D.D. Diretor da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pelo incentivo e apoio;

Ao Professor Dr. ANTONIO CARLOS FERRAZ CORRÊA, Coordenador do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Biologia e Patologia Buco-Dental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, pela atenção;

Ao Programa Institucional de Capacitação Docente (PICD), pela bolsa concedida durante parte da realização deste trabalho;

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - Processo Biológicas 79/0951-2;

Ao Professor Dr. HÉLIO DE SOUZA, Chefe do Departamento de Prótese da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pelo meu ingresso no curso de mestrado;

Aos Professores Drs. GUILHERME BLUMEN e Cássio Odnei Garcia Munhoz, agradecimento especial pela valiosa colaboração no desenvolvimento deste trabalho;

Ao Professor Dr. JOSÉ MERZEL, pela revisão final do texto;

Ao Professor Dr. EDUARDO ARAUJO DOS SANTOS, Chefe do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pela amizade e desprendimento;

Ao Professor Dr. AÉCIO JOSÉ DA SILVA, Responsável pela Disci

plina de Citologia Clínica da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pelo incentivo e dedicação;

À Sra. *IVANY DO CARMO G. GEROLA*, Bibliotecária da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo valioso auxílio na revisão da bibliografia;

Ao Sr. *ADÁRIO CANGIANI*, pela realização do trabalho fotográfico;

À Srta. *MARIA APARECIDA MALIN*, pelos serviços datilográficos;

Ao Professor Dr. *ALCIDES GUIMARÃES*, pelo clima de amizade e hospitalidade no decorrer do curso;

Aos Professores e funcionários do Departamento de Biologia e Patologia Buco-Dental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, pela amizade e amável acolhida;

Aos caros colegas do Curso de Pós-Graduação, pelo companheirismo e incentivos recebidos.

S U M Á R I O

	Pg.
INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	7
RESULTADOS	12
DISCUSSÃO	36
RESUMO E CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

ABREVIATURAS POR ORDEM ALFABÉTICA

- A - AMELOBLASTOS
- BE - BORDA ESTRIADA
- C - CAPILARES
- CP - CAMADA PAPILAR
- D - DENTINA
- E - ESMALTE
- EE - EPITÉLIO DENTAL EXTERNO
- E_{EX} - ESMALTE EXTERNO
- EI - ESTRATO INTERMÉDIO
- E_{IN} - ESMALTE INTERNO
- M - MITOCONDRIOS
- O - ODONTOBLASTOS
- P - POLPA
- PD - PRÉ-DENTINA
- PT - PROCESSOS DE TOMES
- RE - RETÍCULO ESTRELADO

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Trabalhos de OGATA e colaboradores, desenvolvidos a partir de 1928, mostraram que as glândulas salivares principalmente as parótidas e sub-mandibulares, estavam relacionadas ao metabolismo de carboidratos, exercendo provavelmente uma função endócrina.

Em 1944, OGATA isolou de homogenado de glândulas parótidas de bovinos, um polipeptideo biologicamente ativo que, quando injetado em coelho, provocava aceleração do crescimento dos tecidos duros e reduzia o nível do cálcio plasmático. A esse princípio deu o nome de parotin.

ITO (1952)^a isolou esse princípio de parótida de bovinos e verificou tratar-se de uma proteína homogênea, a qual purificou sob a forma cristalina, determinando mais tarde suas propriedades químicas e bioquímicas.

A partir de então, trabalhos têm sido realizados para se observar a influência de um hipersialoadenismo causado pela injeção de parotin, ou a consequência de um hi

posialoadenismo acarretado pela remoção das glândulas salivares.

Os experimentos de MARUYAMA (1950), ITO (1952)^b e SATO (1953) confirmaram os resultados de OGATA (1944) em que administrando-se parotin a coelhos podia-se observar um aumento na calcificação de ossos e dentes. ITO (1954) mostrou que quando parotin era administrado a ratos havia um grande consumo de fósforo inorgânico (^{32}P) em incisivos e fêmures.

SIERVE e DAL MASO (1952) também afirmaram que um hipersialoadenismo aumentou o crescimento dos ossos e dentes, enquanto um hiposialoadenismo retardou a calcificação e diminuiu a vascularização dos ossos da face e dos dentes.

FLEMING (1959, 1960, 1963) realizou estudos histológicos em incisivos inferiores e em disco hipofisário de femur de camundongos injetados com parotin. Os resultados mostraram que, nos incisivos, os ameloblastos apresentaram citoplasma granular, vacúolos entre os ameloblastos da zona secretora, falhas no arranjo da matriz do esmalte e um aumento acentuado na vascularização da área. Na cartilagem epifisária observou decréscimo na proliferação dos condroblastos, formação de um tecido osteóide dentro da cartilagem, aumento da celularidade nos espaços medulares e aumento acentuado no número de vasos sanguíneos. As alterações foram proporcionais às doses de parotin administradas. Embora o autor tenha sugerido que tais alterações, provavelmente, fossem relacionadas à atividade endógena das glândulas salivares no organismo, seus resultados foram diferentes dos obtidos por outros autores (MARUYAMA, 1950; ITO, 1952b; SA-

TO, 1953 e OGATA, 1944) pois não constatou aumento do crescimento, nem da mineralização daqueles tecidos.

Resultados diversos dos obtidos pelos demais autores foi verificado por QUINTARELLI (1960) que injetou em camundongos, doses de parotin superiores àquelas administradas em outros experimentos e não constatou qualquer alteração histológica nos tecidos examinados (adrenais, glândulas salivares, gônadas, pele, mandíbula e dentes) nem na calcificação dos dentes, ossos e cartilagem epifisária, quando comparados com os animais controles.

Como se pode depreender, pelos trabalhos citados, os efeitos da administração de parotin apresentaram resultados controversos.

Com relação à influência do hiposialiadenismo, causado pela remoção das glândulas salivares, sobre o crescimento, mineralização e histologia dos tecidos calcificados, existe um número menor de experimentos realizados e de resultados não menos controversos.

OGATA (1955) encontrou alterações histológicas generalizadas em dentes de ratos albinos jovens sialoadenectomizados. Em cartilagem epifisária observou atraso no crescimento, na calcificação e alteração degenerativa patológica. Nos dentes houve hipoplasia e reabsorção generalizada. No órgão do esmalte as alterações foram mais acentuadas nos ameloblastos secretores que apresentaram degeneração hidrópica, vacuolização, picnose e localização anormal do núcleo. Entretanto, o autor não citou as condições experimentais do trabalho, por exemplo, sexo do animal, quantos dias após a sialoadenectomia o animal foi sacrificado e outras

informações de ordem técnica.

LIMA (1975) estudou a influência da remoção das glândulas salivares parótidas e sub-mandibulares de ratos sobre o irrompimento de molares, crescimento e calcificação dos incisivos e constatou retardamento no irrompimento daquele dente, quando comparado ao grupo de animais normais, assim como menor crescimento e calcificação do incisivo.

MORANO (1976) estudou o efeito da sialoadenectomia materna sobre ameloblastos e odontoblastos de molares dos filhotes sacrificados do nono ao décimo quarto dias de vida pós-natal. Constatou alterações morfológicas naquelas células e concluiu que a secreção salivar materna participa na dentinogênese e amelogênese dos molares dos filhotes. Observou também que a secreção das glândulas salivares desses filhotes foi capaz de recuperar os efeitos da sialoadenectomia materna. Outro aspecto estudado por MORANO foi a influência da remoção das glândulas salivares (sub-mandibulares e sub-linguais) sobre os ameloblastos e odontoblastos de molares de ratos com nove a catorze dias de vida. Também nesse grupo constatou alterações nessas células, traduzidas por vacuolização citoplasmática e espaços intercelulares aumentados. Entretanto, um aspecto que chamou a atenção no trabalho de MORANO é que o autor não citou em qual dos molares as observações foram feitas, o que seria importante, uma vez que a cronologia de formação e desenvolvimento desses dentes não é a mesma para o 1º, 2º e 3º molares.

Considerando o número relativamente pequeno de informações sobre a influência da sialoadenectomia na his

tologia do dente, propos-se neste trabalho, verificar a influência da remoção das glândulas salivares parótidas, submandibulares e sub-linguais sôbre a morfologia das células que compõem os órgãos odontogênico e do esmalte dos incisivos inferiores de camundongos. Optou-se pelo incisivo, porque sendo dente de crescimento contínuo permite que, em um só corte, orientado sagitalmente, possam ser observados os ameloblastos em todas as fases de seu ciclo vital. Para permitir observações mais acuradas da morfologia celular propos-se utilizar cortes semi-finos de 1 μ m de espessura e melhor fixação dos tecidos através de perfusão intracardíaca, pois em outros trabalhos a espessura do corte foi sempre de 5 - 7 μ m e a fixação feita por imersão, sabidamente de resultados precários para tecidos mineralizados.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e dois camundongos, *M. musculus, albinus*, machos, com 10 semanas de idade, pesando em média 34 g cada animal, foram divididos em 2 grupos: o primeiro com 2 animais normais serviu como grupo controle e o outro, contendo 20 animais, teve suas glândulas salivares maiores (parótidas, sub-mandibulares e sub-linguais) removidas cirurgicamente. Quando os animais completavam 10 semanas de idade, eles eram operados sob anestesia, por inalação com éter sulfúrico. A cirurgia para remoção das glândulas salivares, feita sob anestesia com éter sulfúrico, constou de uma incisão de mais ou menos 1 cm no pescoço, no sentido transversal em relação ao longo eixo do animal, à altura de uma linha imaginária que une os dois pavilhões auditivos. Após a divisão da pele e rebatimento dos retalhos, as glândulas salivares foram removidas, tomando-se o cuidado para não lesar os vasos mais calibrosos. Em seguida as bordas da ferida foram

suturadas com fio de algodão.

Os animais foram sacrificados aos pares do 1º ao 10º dia após a cirurgia. Aos tempos de sacrifício, os animais foram anestesiados sob inalação de éter sulfúrico, procedendo-se a abertura e rebatimento da parede torácica, a fim de expor o coração com o objetivo de realizar a perfusão intracardíaca com glutaraldeído a 2,5% tamponado¹ a pH 7,4 (WARSHAWSKY & MOORE, 1967).

As mandíbulas foram cuidadosamente dissecadas e separadas em hemimandíbulas e imersas em solução de glutaraldeído a 2,5% tamponado¹ a pH 7,4, durante 4 horas para completar a fixação, sendo em seguida lavadas com uma solução de tampão fosfato².

Após a lavagem as hemimandíbulas foram descalcificadas com solução de EDTA, (ácido etileno diamino tetra cético) a 4,13%, pH 7,4 (WARSHAWSKY & MOORE, 1967). O tempo de descalcificação foi de 18 dias à temperatura ambiente, trocando-se a solução descalcificadora em dias alternados. O grau de desmineralização da peça foi testado através de sua flexibilidade e cortando-se com uma lâmina de barbear nova a parte incisal do dente, uma vez que esta fração não seria utilizada para o trabalho. A desmineralização estava completa quando o dente não oferecia resistência ao corte.

1) A solução tampão foi preparada colocando-se 7,74 g de Na_2HPO_4 , 7 H_2O e 2,16 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ e completando-se o volume para 370 ml com água destilada.

2) A solução tampão foi preparada colocando-se 18,05 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ e 3,78 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, completando-se o volume para 500 ml com água destilada.

De cada hemimandíbula desmineralizada foram seccionados e desprezados o processo coronóide e cabeça da mandíbula e porção incisal do dente até o nível da crista gengivo-labial. A porção remanescente da mandíbula foi seccionada em 3 segmentos cujos tamanhos permitiram posteriormente a obtenção de cortes semi-finos. Esses segmentos foram denominados: A, B e C e situados sequencialmente na seguinte posição na mandíbula:

Segmento A - Porção anterior da mandíbula - compreende uma extensão que vai desde a porção incisal, ao nível da crista gengivo-labial, até a face mesial do 1º molar.

Segmento B - Porção média da mandíbula - compreende uma extensão que vai desde a face mesial do 1º molar até a face distal do 2º molar.

Segmento C - Porção posterior da mandíbula - compreende uma extensão que vai desde o limite posterior do segmento B até a extremidade posterior da mandíbula, seccionada ao nível da incisura mandibular, conforme já citado.

Após a desmineralização os segmentos mandibulares foram lavados em solução tampão fosfato² à temperatura de 40°C durante 48 horas, e pós fixadas com tetróxido de

ôsmio (OsO_4) a 1% em solução de tampão fosfato³ pH 7,4, durante 4 horas (WARSHAWSKY & MOORE, 1967).

Em seguida, os segmentos foram lavados em tampão fosfato isotônico, desidratados em soluções de concentrações crescentes de acetona e incluídos em epon, segundo LUFT (1961), no sentido longitudinal e direção vestibulo-lingual do dente.

Cortes semi-finos de 1 μm de espessura, obtidos com navalhas de vidro em ultramicrótomo Porter-Blum MT2, foram colocados em lâminas para microscopia e corados com uma mistura em partes iguais de azul de metileno e azur II, montados com bálsamo de Canadá e examinados ao microscópio óptico.

3) A solução tampão foi preparada colocando-se 5,58 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ e 1,17 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, completando-se o volume para 200 ml com água destilada.

RESULTADOS

RESULTADOS

Cortes histológicos semi-finos, obtidos das frações A, B e C de todos os incisivos, foram observados ao microscópio óptico. Como o incisivo de camundongo, apresenta crescimento contínuo, um corte histológico orientado longitudinalmente e na direção lábio-lingual, permite observar uma camada contínua de ameloblastos em todas as fases de seu ciclo vital, na superfície labial do dente. A descrição dos aspectos morfológicos das células do órgão odontogênico e do esmalte baseou-se na classificação morfológica estabelecida por WARSHAWSKY e SMITH (1974), para incisivos de ratos.

A apresentação dos resultados foi feita primeiramente para o grupo de animais controle (I) e em seguida para o grupo de animais sialoadenectomizados (II).

I - GRUPO DE ANIMAIS CONTROLE

A) Zona Pré-secretora - Compreende a camada de amelo-

blastos situados desde o ponto de maior convexidade da alça apical até o ponto onde uma fina camada de esmalte pode ser observada. Essa zona compreende duas regiões principais que são:-

- A-1) Região de ameloblastos faceando a polpa (órgão odontogênico);
- A-2) Região de ameloblastos faceando a dentina (órgão do esmalte).

A-1) Região de ameloblastos faceando a polpa: começa no ponto mais convexo da alça apical e termina incisalmente em um ponto onde se inicia a secreção da pré-dentina pelos odontoblastos.

Na porção posterior dessa região os ameloblastos são células indiferenciadas, organizadas em epitélio colunar com dois a quatro níveis de núcleos, os quais se apresentam grandes e em várias formas, predominando a oval, voltados no sentido do longo eixo da célula. A lâmina basal separa os ameloblastos das células da polpa (Fig. nº 2).

As células do estrato intermédio provisório, as do retículo estrelado, bem como as do epitélio dental externo são indiferenciadas. Estrato intermédio provisório é um termo aplicado à camada de células cuboides que se encontram em íntima relação com a base dos ameloblastos. No reticulo estrelado as células também são cuboides com núcleos frequentemente irregulares (Fig. nº 2).

O epitélio dental externo é constituído por uma múltipla camada de pequenas células achatadas com núcleos pequenos e ovais e encontra-se formando a superfície labial

do órgão odontogênico (Fig. nº 2). Na extremidade da alça apical o epitélio dental externo continua-se com o epitélio dental interno.

Com exceção do epitélio dental externo, todas as camadas descritas acima apresentam figuras de mitose (Fig. nº 2).

Ainda na região de ameloblastos faceando a polpa, porém numa zona situada em posição anterior à mostrada na figura 3, os ameloblastos começam a diferenciar-se tornando-se ligeiramente alongados e dispendo-se em uma camada com tres a quatro níveis de células. Isso pode ser facilmente observado pelos núcleos que também se tornam alongados, acompanhando a forma da célula (Fig. nº 3). Nessa região já se torna possível distinguir um limite interfacial entre os ameloblastos e as células do estrato intermédio provisório que agora se apresentam cubóides, algumas claras e outras escuras, destacando-se algumas por apresentar formato irregular e tamanho maior (Fig. nº 3).

O epitélio externo apresenta apenas uma camada de células cubóides que se confundem com as células do retículo estrelado (Fig. nº 3).

A-2) Região de ameloblastos faceando a dentina: Essa região compreende, no sentido longitudinal do incisivo, o ponto que vai desde o limite incisal da região anterior até onde uma fina camada de esmalte pode ser observada.

Os ameloblastos nessa região, adquirem características morfológicas próprias de células secretoras, onde podemos notar região infranuclear, nuclear e supranuclear. Na extre

midade posterior dessa região os ameloblastos aparecem dispostos em duas camadas de células (Fig. nº 4) e mais incidentalmente em apenas uma camada (Fig. nº 5). Essas células se alongam adquirindo o aspecto colunar, com os núcleos também se alongando no sentido do longo eixo da célula. O citoplasma representa 2/3 do volume total da célula e seus ápices, onde tornam-se visíveis barras terminais apicais, estão em contacto com uma fina camada de dentina. (Fig. nº 5). Os mitocondríos se localizam na região infranuclear separando o núcleo dos ameloblastos do estrato intermédio e dando uma regularidade na interface ameloblastos-estrato intermédio. No citoplasma apical de alguns ameloblastos podem ser vistos grânulos de secreção (Fig. nº 5).

O estrato intermédio apresenta com mais nitidez células mais escuras, espalhadas entre células cubóides mais claras, dispostas em uma ou duas camadas, sem que se possa distinguir perfeitamente o limite entre essa camada e o retículo estrelado (Figs. nºs 4 e 5). O epitélio dental externo permanece com uma única camada de células cubóides formando uma linha sinuosa devido a presença de capilares próximos (Fig. nº 4).

B) Zona Secretora - Inicia-se no ponto onde começa a secreção de esmalte, e estende-se até o ponto onde os processos de Tomes dos ameloblastos secretores de esmalte externo desaparecem. Essa zona é formada pelas seguintes regiões:-

B-1) Região de secreção de esmalte interno;

B-2) Região de secreção de esmalte externo.

B-1) Região de secreção de esmalte interno: Essa região tem seu início no ponto onde começa a secreção de matriz do esmalte e termina incisalmente onde a secreção característica de esmalte interno é trocada pela secreção típica de esmalte externo. No início dessa região os ameloblastos estão quase que praticamente diferenciados e apresentam-se como células colunares altas, uma ao lado da outra, com a região supranuclear do citoplasma bem desenvolvida (Fig. nº 6). Os núcleos são grandes, alongados e se localizam na porção basal da célula formando dois níveis dentro da camada (Fig. nº 6). Os mitocôndrios permanecem na porção infranuclear. Na porção proximal dos processos de Tomes, estrutura que agora se apresenta com maior nitidez, são vistos grandes grânulos escuros. Uma estreita faixa escura representando o início de secreção de esmalte pode ser observada definindo a junção dentino-esmalte (Fig. nº 6).

À medida que se dirige para a porção incisal dessa região, os ameloblastos tornam-se completamente diferenciados e adquirem uma ligeira inclinação para a incisal em relação a uma linha traçada perpendicularmente à junção dentino-esmalte (Fig. nº 7).

A dupla camada de células do estrato intermédio desaparece passando a ter uma simples camada de células cubóides com um núcleo esférico (Figs. nºs 6 e 7).

O retículo estrelado vai gradualmente desaparecendo e o epitélio dental externo com suas células cubóides é invadido por maior número de capilares (Fig. nº 7). A essa

altura as células do retículo estrelado e as do epitélio dental externo se associam para formar a camada papilar do estrato intermédio.

B-2) Região de secreção de esmalte externo: Essa região se estende da extremidade incisal da região de secreção do esmalte interno até o ponto onde os processos de Tomes dos ameloblastos desaparecem. As características morfológicas das células são semelhantes às da região anterior, com exceção dos ameloblastos que se tornaram ainda mais inclinados para a incisal, e dos processos de Tomes que se apresentam mais finos, mais longos e mais inclinados em relação à porção apical do dente (Fig. nº 8).

C) Zona de Maturação - É uma zona bastante longa e ocupa o restante da porção incisal do órgão do esmalte, sendo dividida em quatro regiões:-

C-1) Região de transição pós-secretora;

C-2) Região de maturação propriamente dita;

C-3) Região de pigmentação e

C-4) Região de ameloblastos reduzidos.

C-1) Região de transição pós-secretora: Estende-se por uma pequena região após a secreção do esmalte externo. No início os ameloblastos permanecem altos com forma colunar, porém logo mudam sua inclinação, apresentando-se nova-

mente perpendiculares à superfície do esmalte. Em direção um pouco mais para incisal a altura dos ameloblastos diminui bruscamente, tornando-se reduzidos quase que à metade do seu tamanho inicial (Fig. nº 9º). Os processos de Tomes desaparecem dando um aspecto liso à superfície do esmalte (Fig. nº 9). Os núcleos permanecem na porção basal da célula e os mitocôndrios na região infranuclear (Fig. nº 9). O estrato intermédio apresenta-se com uma camada irregular de células cubóides com núcleos de forma e tamanho diferentes (Fig. nº 9). A camada papilar alcançou o máximo de diferenciação.

C-2) Região de maturação propriamente dita: Ocupa a maior extensão no sentido do ápice para a incisal do dente. Nessa região os ameloblastos começam a adquirir características morfológicas próprias de sua involução. Na porção apical da célula o citoplasma sofre uma série de invaginações, configurando o aspecto de labirinto apical ou borda estriada a essa região celular voltada para o esmalte. O citoplasma apical parece espumoso devido ao grande número de pequenos vacúolos presentes. (Fig. nº 10). A superfície basal da célula é bastante irregular porque o citoplasma emite projeções em direção à camada papilar. Nesse local grandes vacúolos podem ser observados entre os ameloblastos (Fig. nº 10). A linha interfacial entre os ameloblastos e estrato intermédio desaparece. Intercalados nessa região aparecem zonas de ameloblastos com ápice não modificados, com borda lisa (Fig. nº 11), cujas células apresentam-se separadas entre si, por um espaço em toda a sua exten-

são lateral, com exceção da base e do ápice (Fig. nº 11). A partir dessa região, em direção incisal, o local ocupado pelo esmalte aparece nas figuras correspondentes (a partir da figura nº 10) como uma faixa clara e homogênea resultante da remoção de substância inorgânica pelo processo de descalcificação.

C-3) Região de pigmentação: Como o próprio nome indica essa região caracteriza-se por apresentar ameloblastos com muitos grânulos escuros localizados em todo o citoplasma (Fig. nº 12).

Aquelas projeções da porção basal dos ameloblastos em direção à camada papilar se retraem, e os vacúolos desaparecem. Também na porção apical dessas células há o desaparecimento da borda estriada. Os núcleos já não são tão polarizados. A camada papilar, a partir dessa região, começa a apresentar sinais de involução (Fig. nº 12).

C-4) Região de ameloblastos reduzidos: Nessa região os ameloblastos diminuem de altura, tornando-se cubóides e acompanhados também pela redução dos núcleos que se tornam esféricos. Os grânulos escuros do citoplasma são transformados ou substituídos por grânulos amarelos escuros. À medida que os ameloblastos se aproximam da porção incisal do dente tornam-se achatados e quase paralelos à superfície do esmalte.

Na camada papilar os grandes capilares praticamente desaparecem com o processo de atrofia, as células apresentam-se achatadas, em menor quantidade, e ao nível da

cavidade oral confundem-se com o estrato espinhoso da gengiva (Fig. nº 13).

II - GRUPO DE ANIMAIS SIALOADENECTOMIZADOS

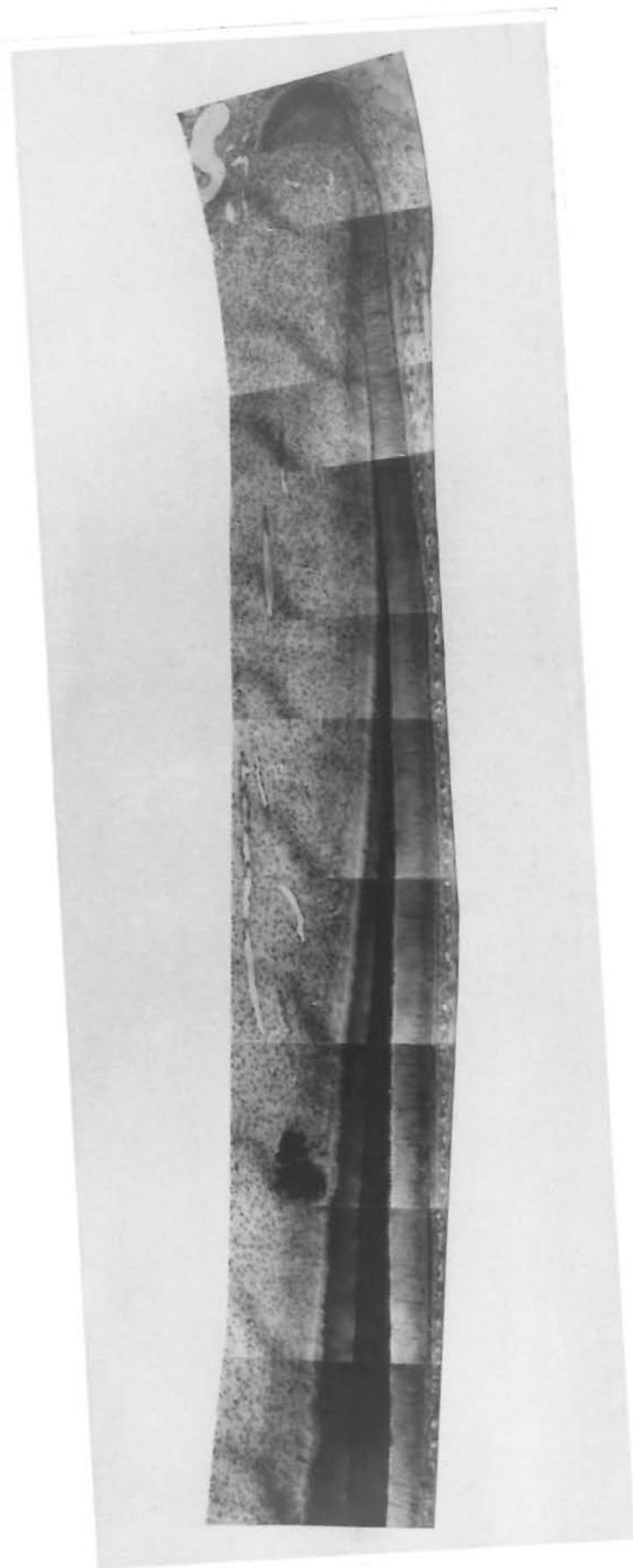
As células do órgão odontogênico e do esmalte dos incisivos inferiores dos animais sialoadenectomizados e sacrificados no período de um a dez dias após a cirurgia, não apresentaram qualquer alteração morfológica, observável a nível de microscopia óptica, quando comparadas às células dos incisivos dos animais normais.

Isto pode ser comprovado pelas figuras que mostram a histologia de regiões do órgão odontogênico e do esmalte dos incisivos dos animais sacrificados 3, 6 e 10 dias após a sialoadenectomia. A escolha desta amostragem foi feita considerando que esses tempos representam um período inicial médio e máximo após a remoção das glândulas salivares.

As figuras de números 14 a 17 (prancha 5) são relativas aos animais sacrificados 3 dias após a sialoadenectomia e devem ser comparadas com as correspondentes de números 2, 4, 5, 7 e 12 obtidas de animais normais. As figuras de números 18 a 21 (prancha 6) são relativas aos animais sacrificados 6 dias após a sialoadenectomia e devem ser comparadas com as correspondentes de números 3, 6, 9 e 10 obtidas de animais normais. As figuras de números 22 a 25 (prancha 7) são relativas aos animais sacrificados 10 dias após a remoção das glândulas salivares e devem ser comparadas às correspondentes de números 2, 3, 7, 12 e 13 obtidas de animais normais.

P R A N C H A I

Visão panorâmica de uma montagem de cortes longitudinais do incisivo inferior de camundongo, mostrando os órgãos odontogênico e do esmalte, até o início da região de secreção de esmalte externo. Azul de metileno - azur II.



P R A N C H A I I

Cortes longitudinais, obtidos no sentido vestibulo-lingual, de incisivos inferiores de camundongos do grupo controle(I). Azul de metileno - azur II.

Fig. nº 2 - Órgão odontogênico - região posterior de ameloblastos faceando a polpa.

Uma múltipla camada de células do epitélio dental externo (EE) constitui a alça apical na superfície labial e continua-se, no extremo apical, com a camada do epitélio interno. As células do retículo estrelado (RE) e do estrato intermédio provisório (EI) são indistinguíveis morfológicamente. Observar figuras de mitose. 560 X.

Fig. nº 3 - Região de ameloblastos faceando a polpa (porção anterior).

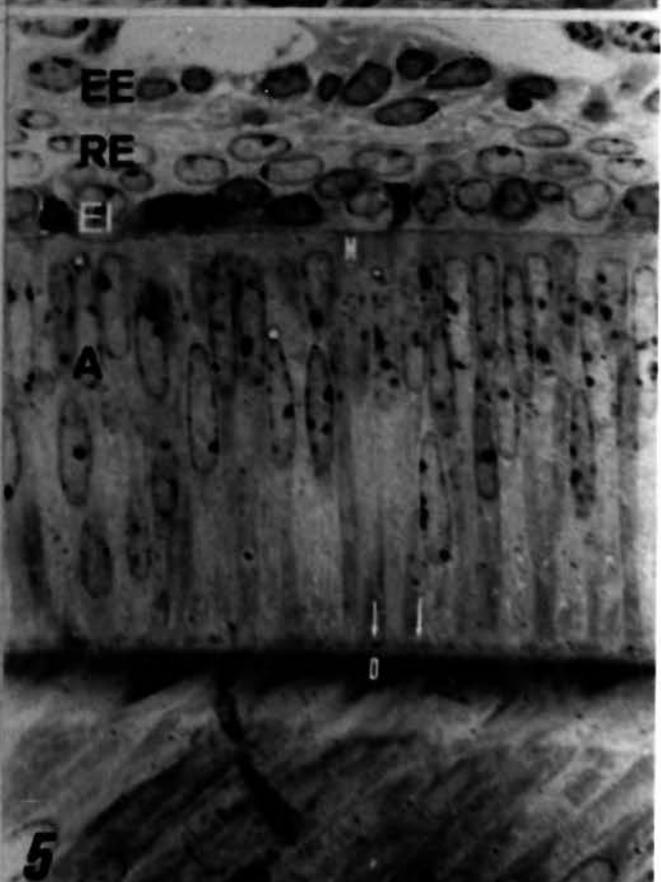
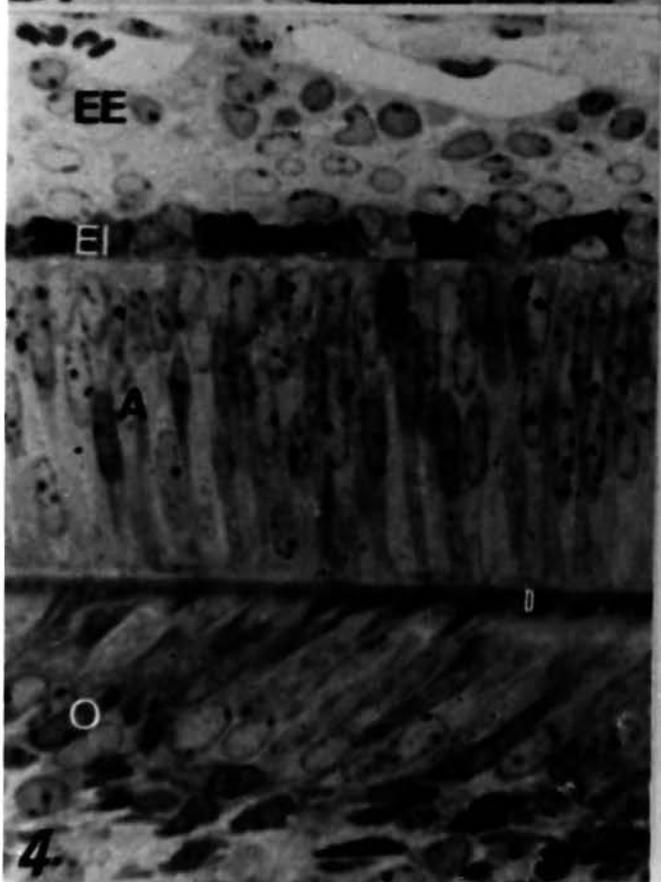
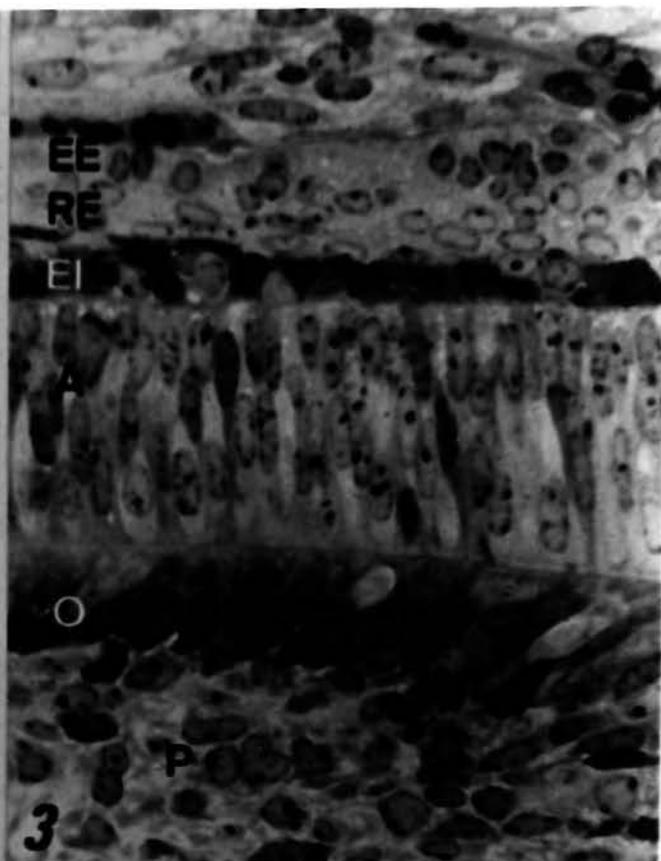
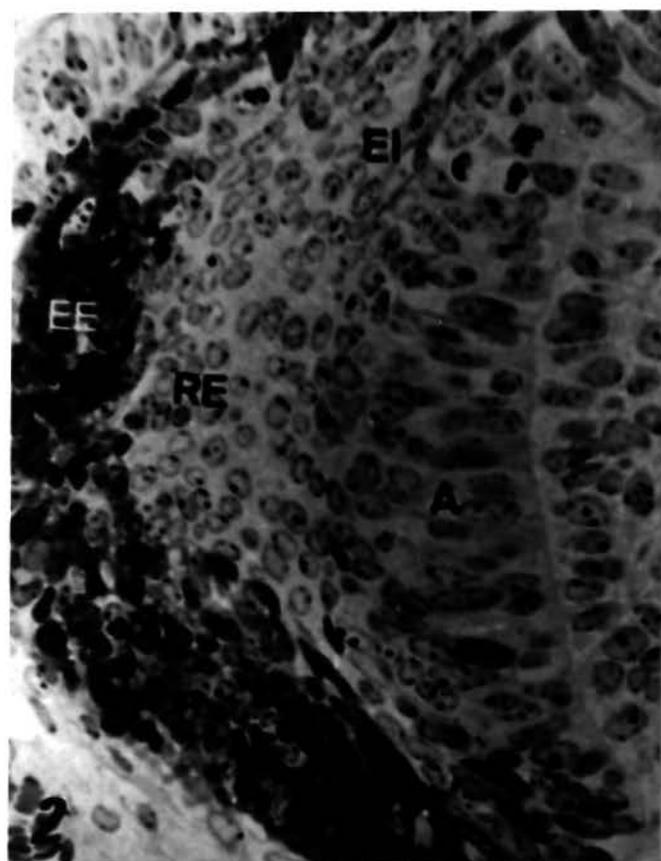
Essa região é mais incisal que a da figura anterior e mostra os ameloblastos (A) começando a diferenciar-se, dispostos em tres ou mais níveis. Os odontoblastos (O) estão começando a se diferenciar e a junção ameloblasto-polpa é regular. O epitélio dental externo (EE) apresenta uma camada de células associadas a capilares. O estrato intermédio provisório (EI) pode ser parcialmente delimitado das células do retículo estrelado (RE). 560 X.

Fig. nº 4 - Região de ameloblastos faceando a dentina.

Os ameloblastos (A) se alongam e adquirem características de células secretoras. O estrato intermédio (EI) apresenta-se com algumas células escuras entre outras mais claras. O epitélio dental externo (EE) é constituído de uma única camada de células associadas a capilares. Os odontoblastos (O) são completamente diferenciados e camadas de pré dentina e dentina (D) podem ser observadas. 560 X.

Fig. nº 5 - Região de ameloblastos faceando a dentina.

Essa região é mais incisal que a da figura nº 4 e mostra os ameloblastos (A) mais altos, quase que totalmente diferenciados. Complexos da barra terminal (setas) podem ser vistos na extremidade apical próximos à camada de dentina (D). Os mitocôndrios (M) se localizam na região infranuclear. 875 X.



P R A N C H A I I I

Cortes longitudinais, obtidos no sentido vestibulo-lingual, de incisivos inferiores de camundongos do grupo controle(I) Azul de metileno - azur II. 875 X.

Fig. nº 6 - Início da região de secreção de esmalte interno.

Os ameloblastos (A) estão dispostos lado a lado com os núcleos em desnível. O citoplasma supranuclear se alonga e apresenta pequenos grânulos escuros. Grânulos escuros maiores (setas) são vistos entre as porções proximais - dos processos de Tomes indicando o começo de secreção do esmalte. A porção interdifitante dos processos de Tomes ainda não se desenvolveu. Uma fina camada de esmalte define a junção dentino-esmalte. O estrato intermédio (EI) apresenta uma única camada de células.

Fig. nº 7 - Região de secreção de esmalte interno.

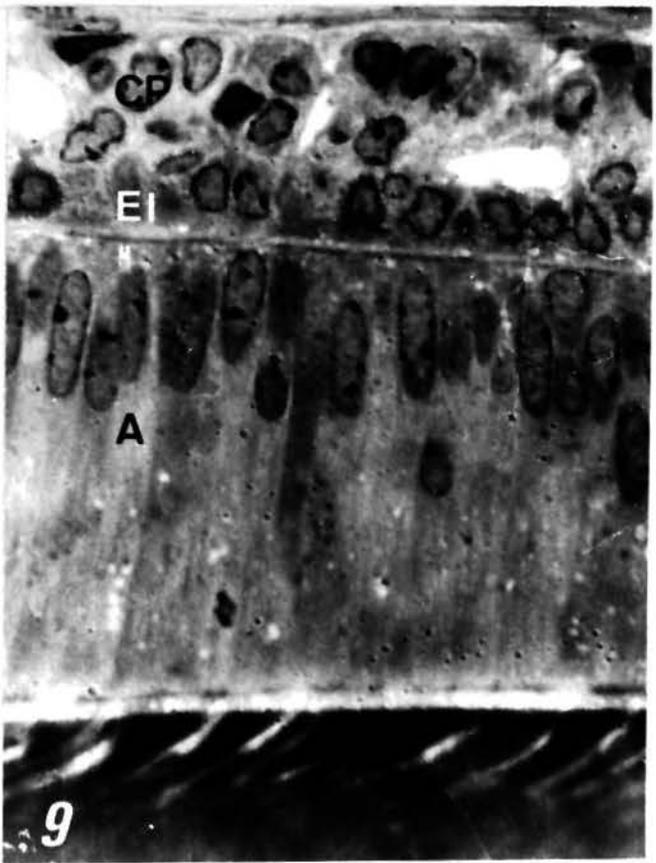
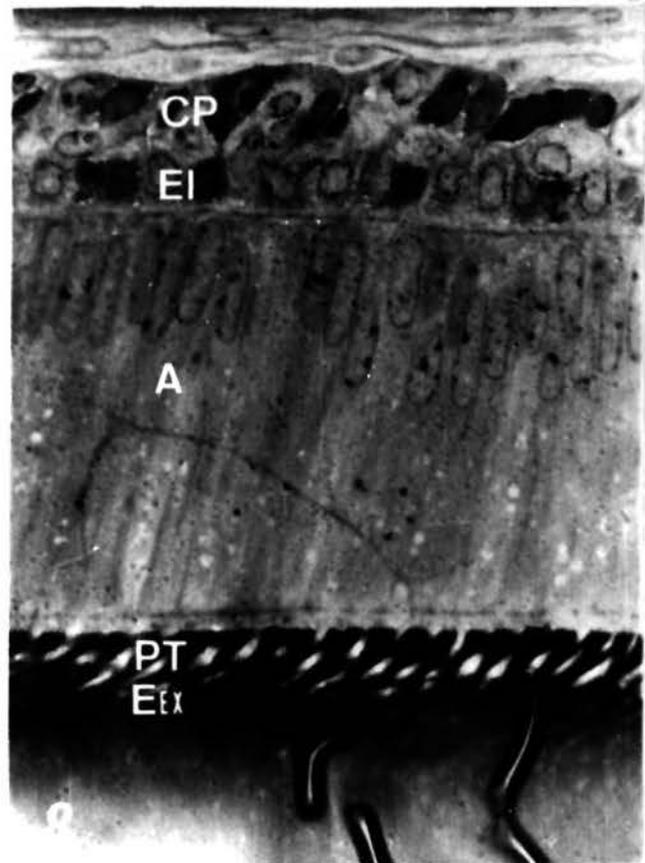
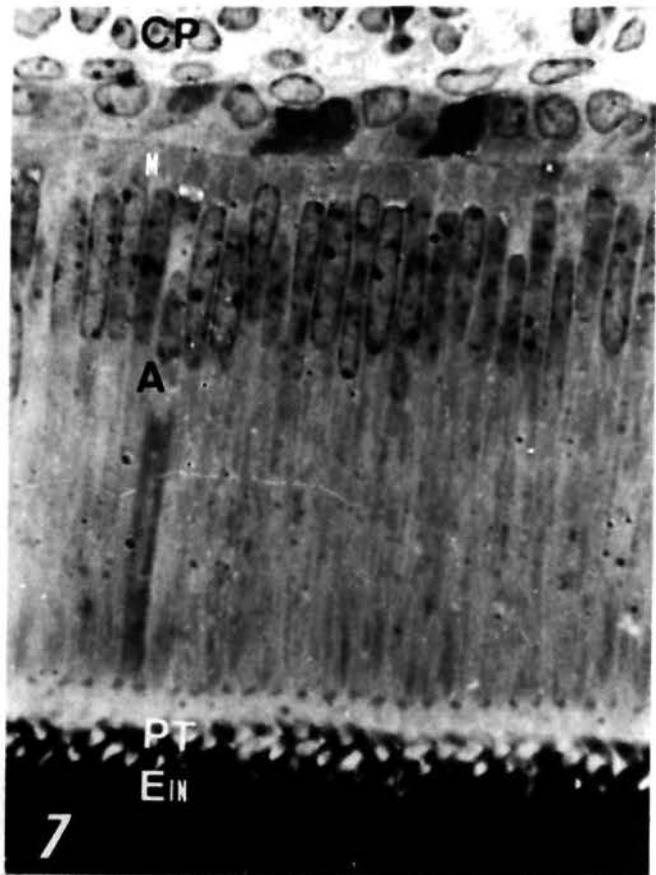
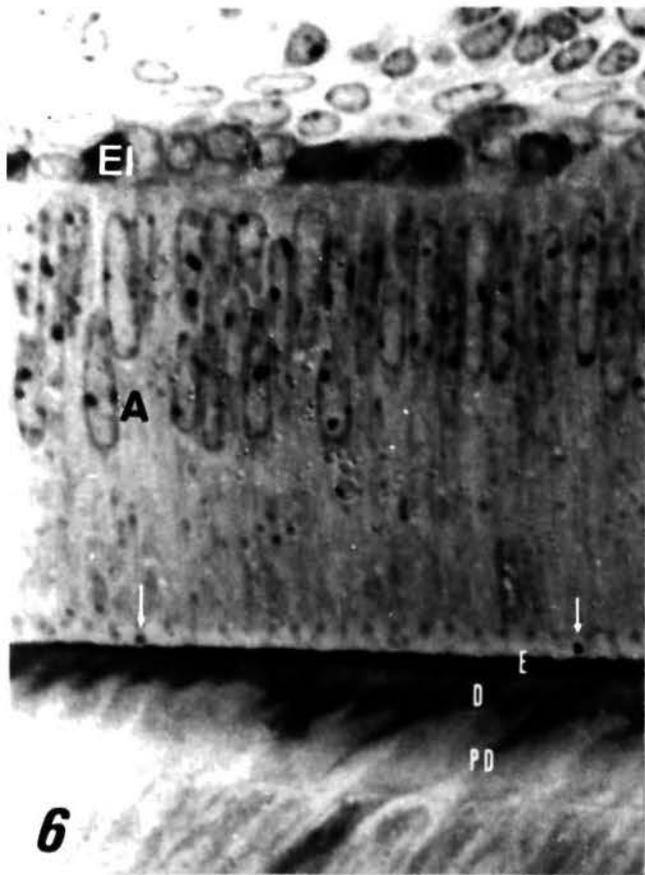
Os ameloblastos (A) estão completamente diferenciados em células secretoras de esmalte. São colunares, com grande porção de citoplasma supranuclear. Os núcleos são longos organizados na região basal da célula e estão separados do estrato intermédio por grande número de mitocôndrios(M). Os processos de Tomes (PT) estão organizados em uma configuração entrelaçada na superfície do esmalte interno (E_{IN}). O retículo estrelado e epitélio dental externo formam juntos a camada papilar (CP) à qual se associam muitos capilares.

Fig. nº 8 - Região de secreção de esmalte externo.

Os ameloblastos (A) estão inclinados para a incisal em relação à superfície do esmalte externo (E_{EX}). Os processos de Tomes (PT) tornam-se delgados, longos e não entrelaçados. As células do estrato intermédio (EI) são cubóides com grandes núcleos irregulares. A camada papilar(CP) é larga e contém muitos capilares.

Fig. nº 9 - Região de transição pós-secretora.

Os ameloblastos (A) sofrem redução na altura, com os núcleos dispostos em um ou dois níveis. A superfície do esmalte torna-se lisa devido ao desaparecimento dos processos de Tomes. Nessa região os ameloblastos (A) voltam à inclinação normal (perpendiculares à superfície do esmalte). Os mitocôndrios (M) ainda permanecem na região infranuclear. As células do estrato intermédio (EI) são cubóides e a camada papilar (CP) está totalmente diferenciada.



P R A N C H A I V

Cortes longitudinais, obtidos no sentido vestibulo-lingual-de incisivos inferiores de camundongos do grupo controle(I) azul de metileno - azur II.

Fig. nº 10 - Região de maturação propriamente dita.

Os ameloblastos (A) mostram borda estriada apical (BE). Largos espaços intercelulares separam a porção basal dos ameloblastos que emitem projeções em direção à camada papilar (CP). Na porção apical a presença de vacúolos dão ao citoplasma um aspecto espumoso. A camada papilar (CP) está completamente diferenciada e associada a capilares (C). 875 X.

Fig. nº 11 - Região de maturação propriamente dita (zona de ameloblastos com ápices não modificados).

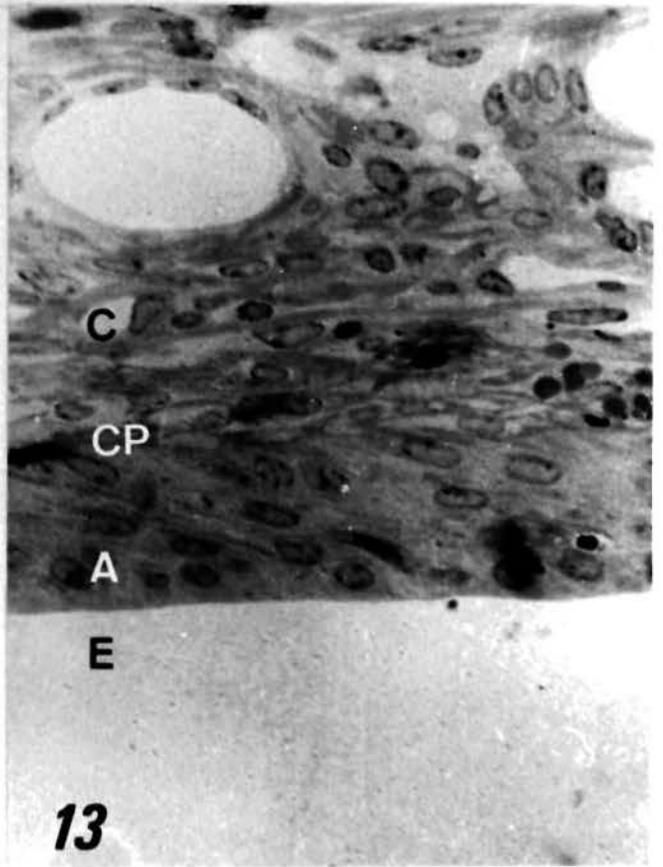
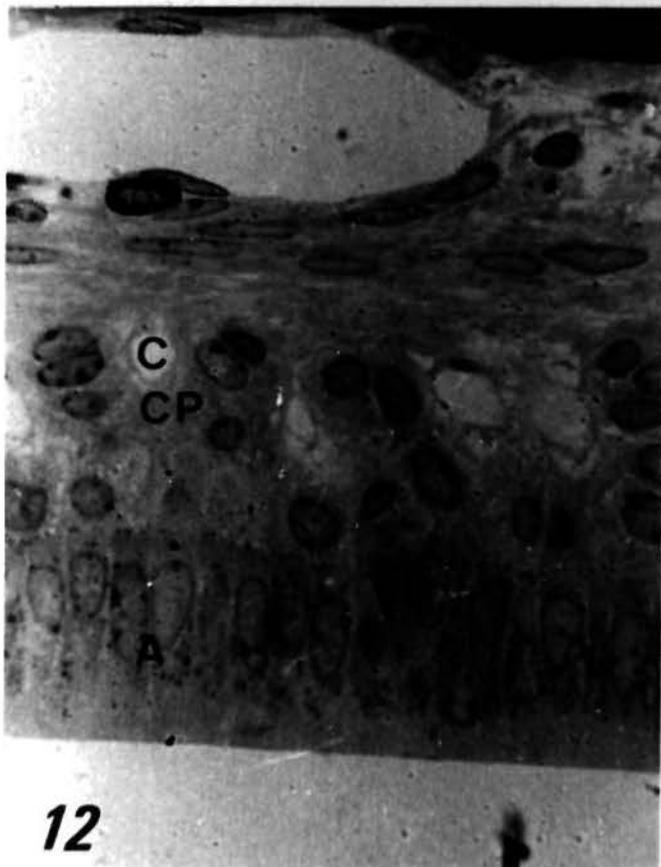
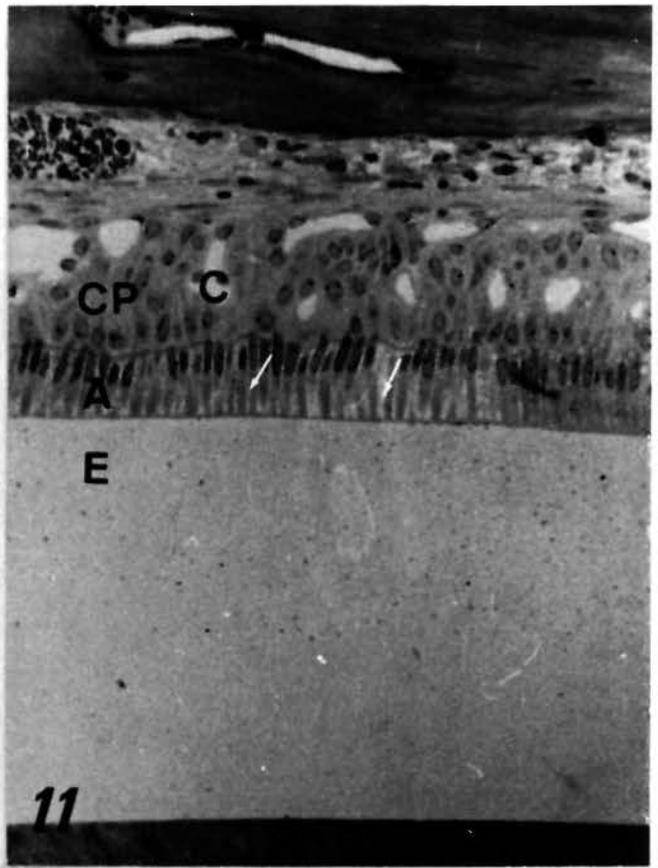
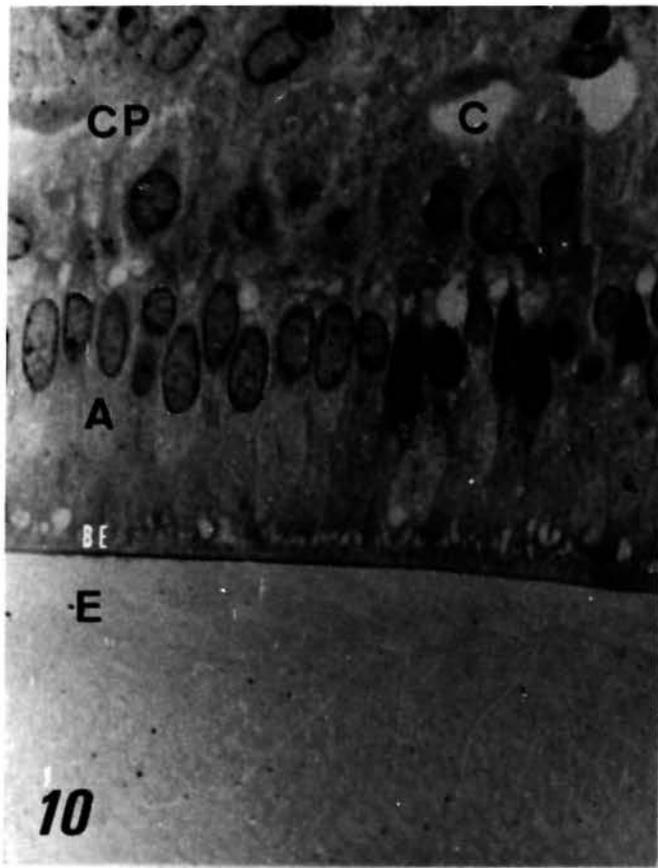
Os ameloblastos (A) não têm borda estriada e largos espaços intercelulares (setas) são vistos em toda a extensão lateral da célula. A camada papilar (CP) apresenta-se bastante desenvolvida e suas células estão associadas a grandes capilares (C). 220 X.

Fig. nº 12 - Região de pigmentação.

Na zona dos ameloblastos (A) voltada para o esmalte e para o estrato intermédio aparecem muitos grânulos escuros dando à região um aspecto pigmentado. A camada papilar (CP) permanece diferenciada. 875 X.

Fig. nº 13 - Região de ameloblastos reduzidos.

Os ameloblastos (A) tornaram-se células achatadas quase que paralelas à superfície do esmalte. As células da camada papilar (CP) também são achata-



P R A N C H A V

Cortes longitudinais, obtidos no sentido vestibulo-lingual, de incisivos inferiores de camundongos sacrificados tres dias após a remoção de suas glândulas salivares parótidas, sub-mendibulares e sub-linguais. Azul de metileno - azur II

Fig. nº 14 - Órgão odontogênico (região posterior de ameloblastos faceando a polpa).

Os ameloblastos (A) são indiferenciados com núcleos ovais e grandes dispostos em tres ou mais níveis. O estrato intermédio provisório (EI) e o retículo estrelado são morfológicamente indistinguíveis. O epitélio dental externo (EE) é constituído por camada múltipla de células. Compare esta figura à correspondente nº 2, obtida de animal normal. 560 X.

Fig. nº 15 - Região de ameloblastos faceando a dentina.

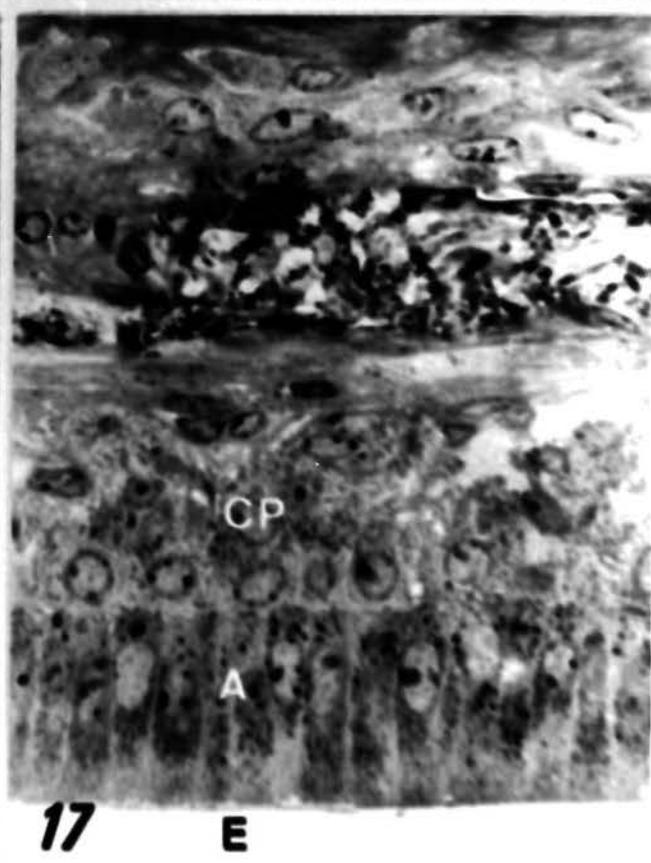
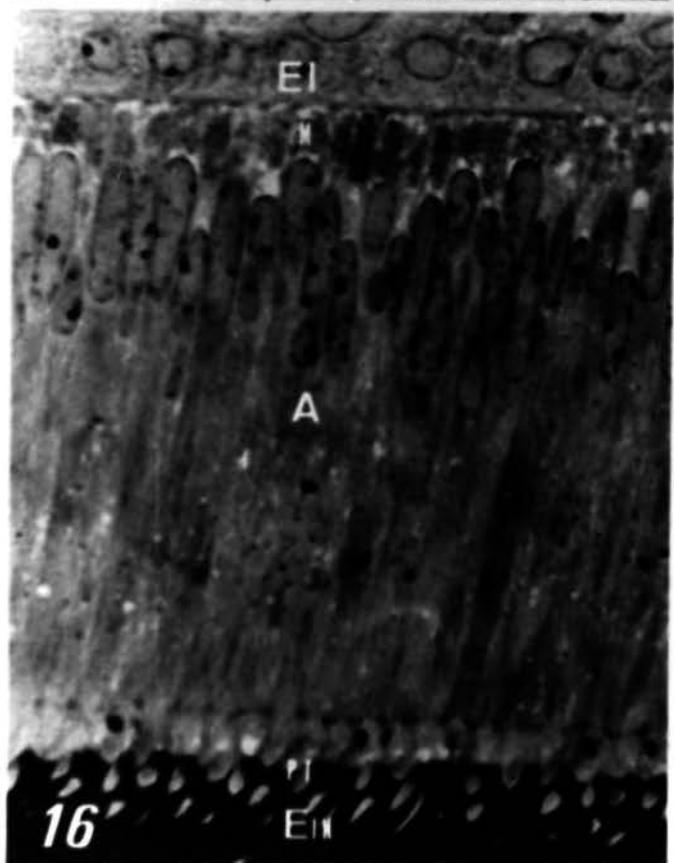
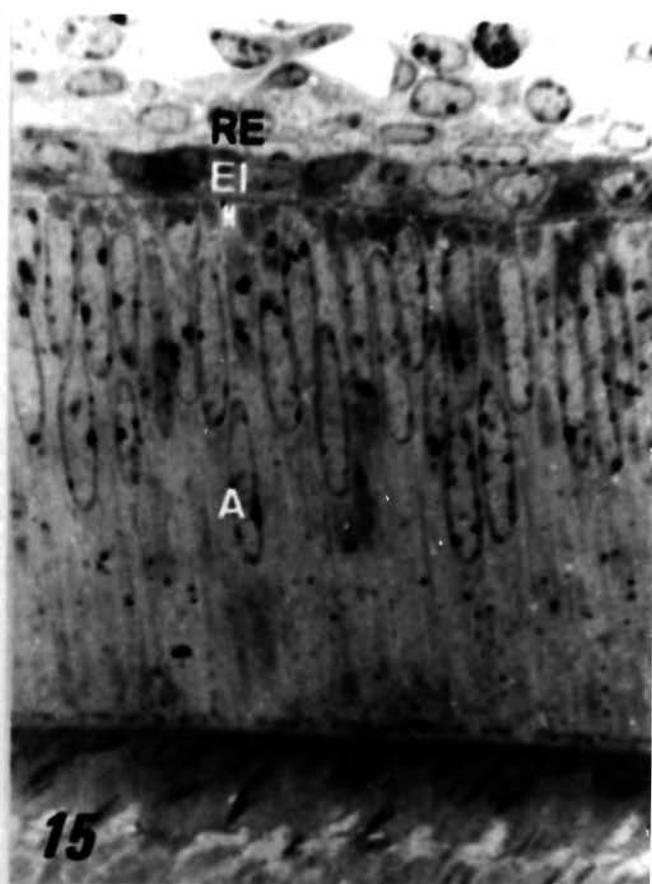
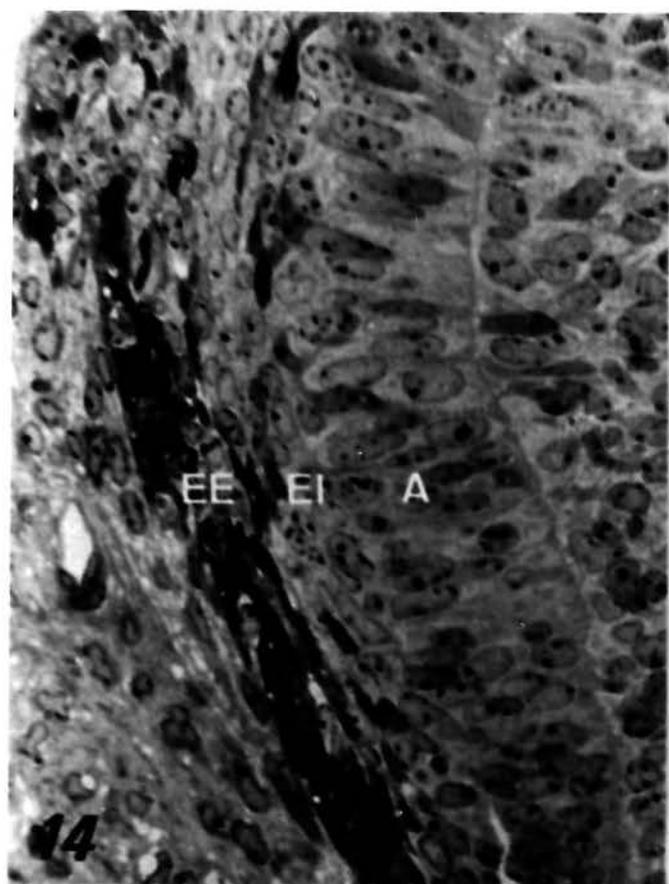
Os ameloblastos (A) possuem numerosos mitocôndrios (M) que se localizam na região infranuclear. O estrato intermédio (EI) possui células dispostas em uma única camada. Os núcleos das células do retículo estrelado (RE) são longos e perpendiculares ao núcleo dos ameloblastos. Esta figura é comparável à de número 5 obtida de animal controle, porém situada numa região um pouco mais incisal, ou seja, mais próxima da zona de secreção, o que se pode deduzir pelo maior número de grânulos secretores dos ameloblastos e pela maior altura destes. 875 X.

Fig. nº 16 - Região de secreção de esmalte interno.

Na região infranuclear dos ameloblastos (A) são vistos muitos mitocôndrios (M). Grandes grânulos escuros são vistos entre a porção proximal dos processos de Tomes (PT) que estão arrançados numa configuração entrelaçada na superfície do esmalte interno (EIN). O estrato intermédio (EI) tem uma única camada de células cubóides com grandes núcleos. Essa figura é comparável à correspondente número 7, obtida de animal normal. 875 X.

Fig. nº 17 - Região de pigmentação.

Os ameloblastos (A) desta região são células relativamente baixas com núcleos ovais localizados na base da célula. Muitos grânulos escuros cobrem todo o citoplasma celular. A camada papilar (CP) é bem desenvolvida. Essa figura é comparável à correspondente nº 12, obtida de animal normal. 875 X.



P R A N C H A VI

Cortes longitudinais, obtidos no sentido vestibulo-lingual, de incisivos inferiores de camundongos sacrificados seis dias após a remoção das glândulas salivares parótidas, submandibulares e sub-linguais. Azul de metileno - azur II.

Fig. nº 18 - Região de ameloblastos faceando a polpa (porção anterior).

A junção ameloblastos (A) - polpa (P) é irregular e a lâmina basal é nítida. As células do estrato intermédio (EI), retículo estrelado (RE) e epitélio dental externo (EE) são indiferenciadas e não possuem limite nítido entre elas. Essa figura foi obtida de uma região pouco mais próxima da zona apical do incisivo quando comparada à figura correspondente nº 3 obtida de animal normal. 875 X.

Fig. nº 19 - Região de secreção de esmalte interno (início de secreção).

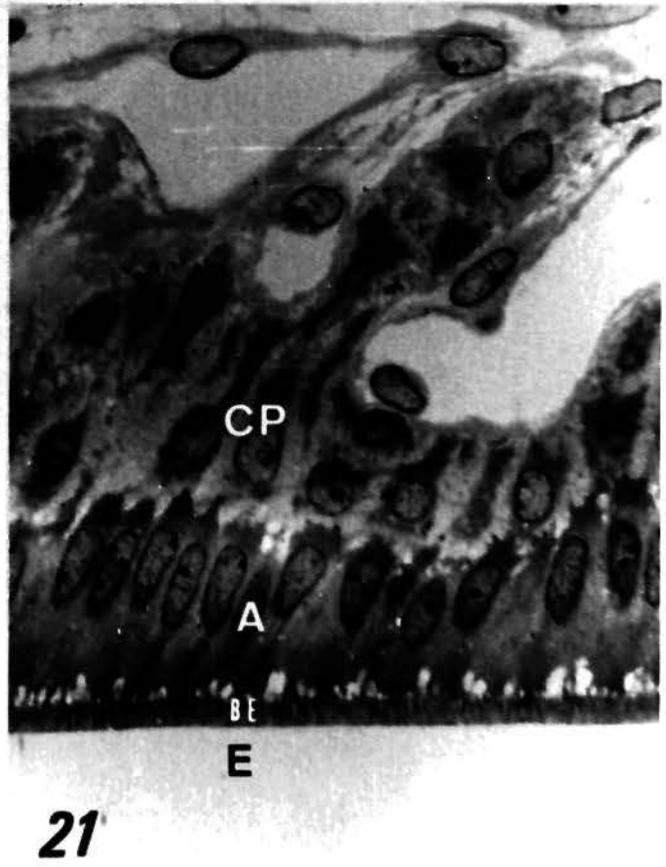
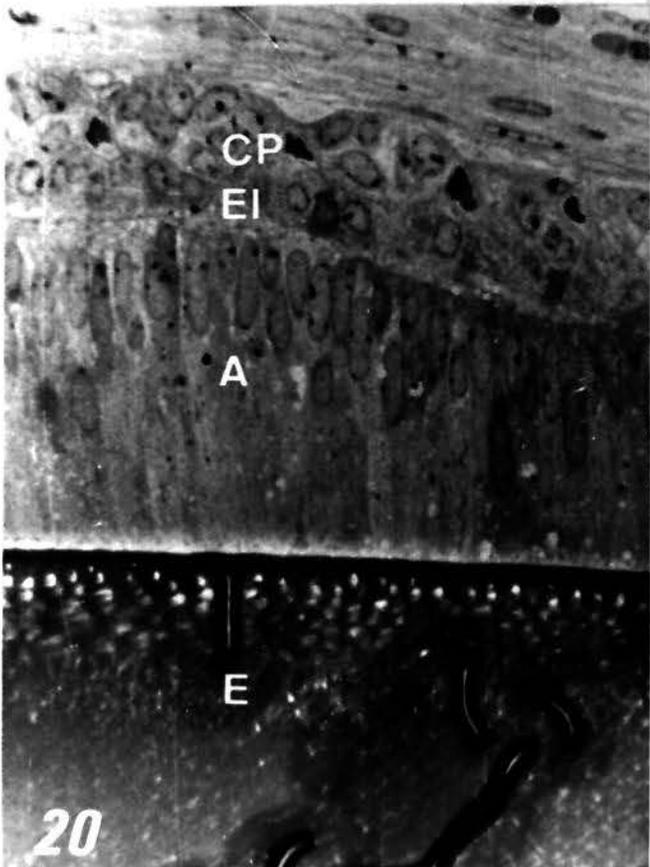
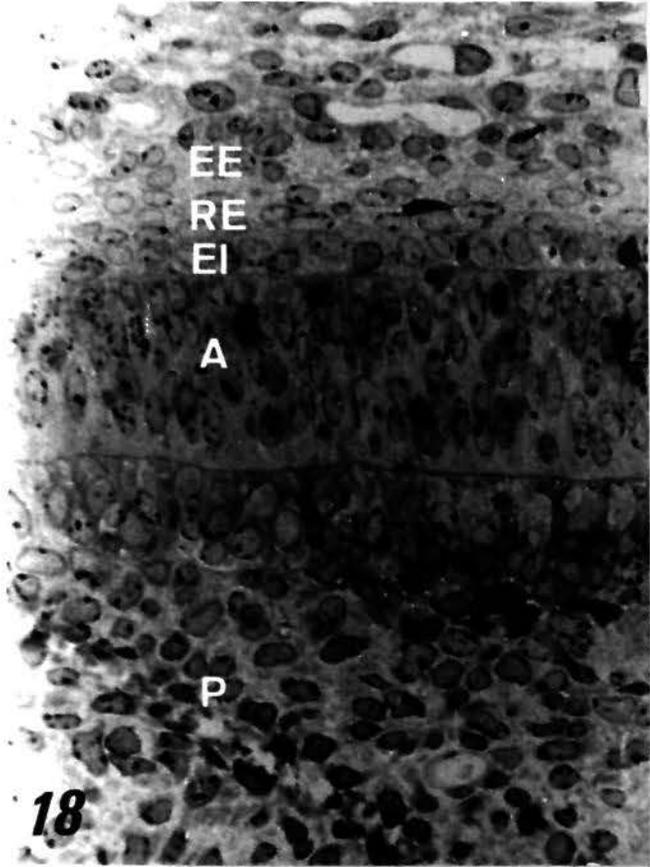
Uma fina faixa escura de esmalte (seta) é vista marcando o início de secreção. Os odontoblastos (O) são células diferenciadas. Uma camada de dentina (D) e pré-dentina (PD) podem ser observadas. Poucas células cubóides com núcleos esféricos constituem a camada do estrato intermédio (EI). Essa figura é comparável à correspondente nº 6, obtida de animal normal. 875 X.

Fig. nº 20 - Região de transição pós-secretora.

Os ameloblastos (A) são reduzidos quase que à metade de sua altura. O estrato intermédio (EI) contém uma única camada de células com núcleos esféricos. A camada papilar (CP) começa a atingir o máximo de diferenciação. Essa figura é comparável à correspondente nº 9, obtida de animal normal. 560 X.

Fig. nº 21 - Região de maturação propriamente dita (zona de ameloblastos com borda estriada).

Os ameloblastos (A) em sua porção basal emitem projeções em direção à camada papilar (CP). No citoplasma apical próximo à borda estriada (BE) muitos vacúolos podem ser observados. Essa figura é comparável à de nº 10, obtida de animal normal. 875 X.



P R A N C H A VII

Cortes longitudinais, obtidos no sentido vestibulo-lingual, de incisivos inferiores de camundongos sacrificados dez dias após a remoção das glândulas salivares parótidas, submandibulares e sub-linguais. Azul de metileno - azur II.

Fig. nº 22 - Região de ameloblastos faceando a polpa (porção anterior).

Uma lâmina basal (setas) separa os ameloblastos (A) dos odontoblastos (O). O estrato intermédio provisório (EI) é constituído por células cubóides indiferenciadas. Figuras de mitose podem ser observadas na camada ameloblástica e entre as células da polpa. Essa figura é comparável às correspondentes de nºs 2 e 3 obtidas de animal normal. 700 X.

Fig. nº 23 - Região de secreção do esmalte interno.

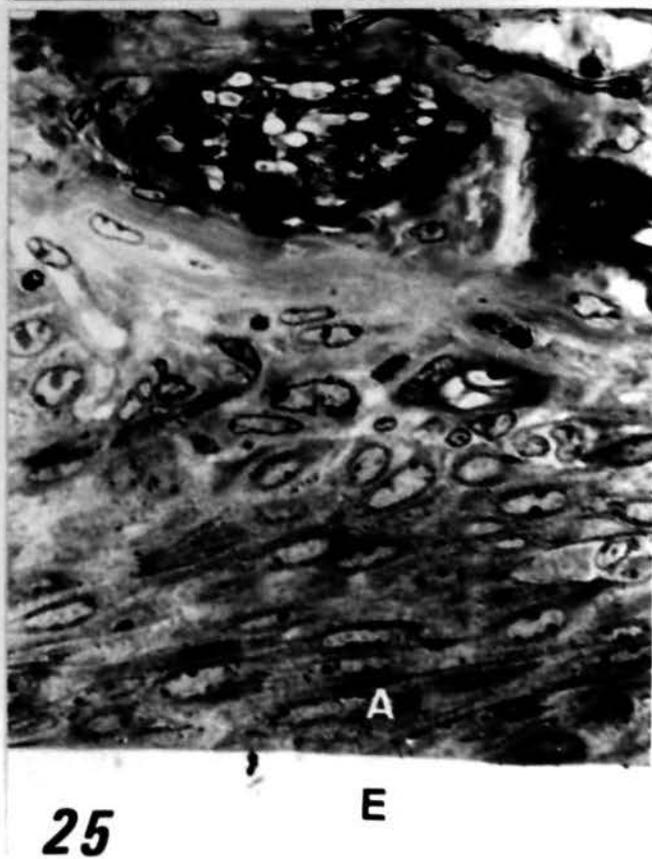
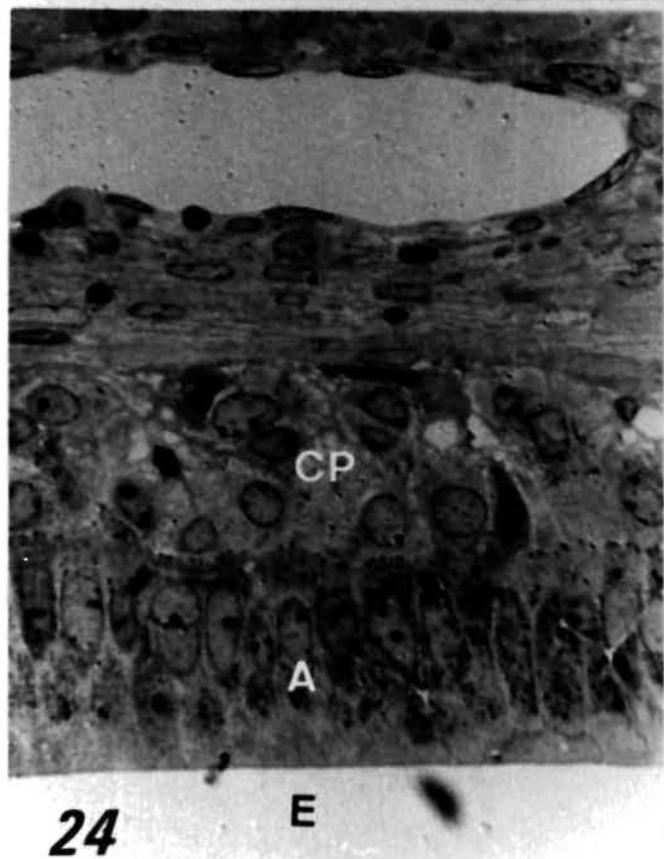
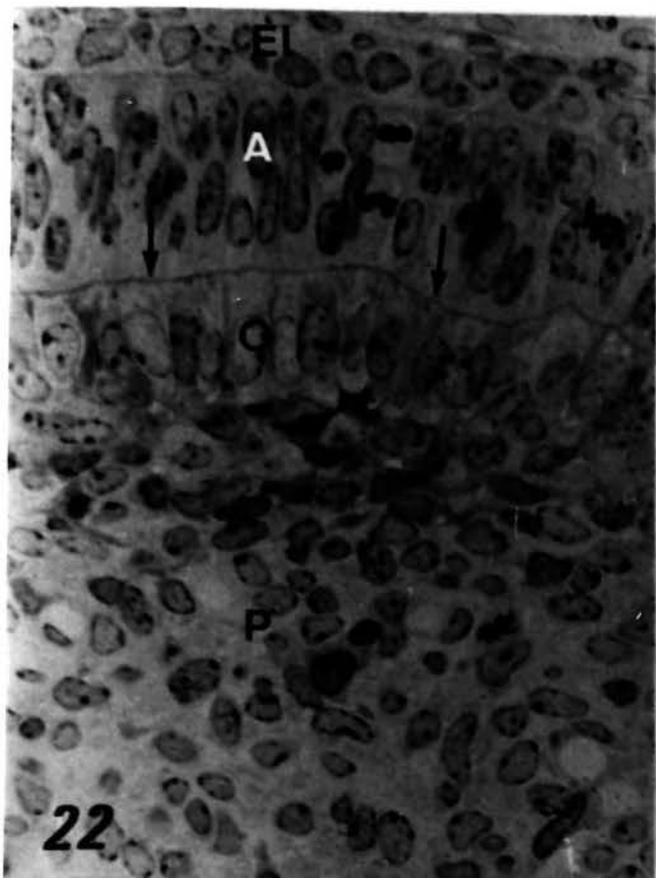
Os ameloblastos (A) possuem numerosos mitocôndrios (M) que se localizam na região infranuclear. Os processos de Tomes (PT) possuem a configuração entrelaçada. Grânulos escuros são vistos na região supranuclear. O estrato intermédio (EI) tem uma única camada de células cubóides. A camada papilar (CP) apresenta-se com poucas células entre grandes capilares (C). Essa figura é comparável à correspondente nº 7, obtida de animal normal. 875 X.

Fig. nº 24 - Região de pigmentação.

Nessa região os ameloblastos (A) cobertos de grânulos escuros perderam a borda estriada, assim como os espaços intercelulares. A camada papilar (CP) ainda permanece com poucas células de núcleos esféricos e grandes. Essa figura é comparável à correspondente nº 12, obtida de animal normal. 875 X.

Fig. nº 25 - Região de ameloblastos reduzidos.

Os ameloblastos (A) tornam-se achatados adquirindo uma inclinação quase paralela ao esmalte (E). Essa figura é comparável à correspondente nº 13, obtida de animal normal. 875 X.



DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

O incisivo de camundongo, dente de crescimento contínuo, apresenta características anatômica e funcional semelhantes às do rato. Por esse motivo, a classificação morfológica estabelecida por WARSHAWSKY e SMITH (1974) para ameloblastos de incisivos de rato foi utilizada neste trabalho para descrição das células dos órgãos odontogênico e do esmalte do incisivo inferior de camundongo.

Os resultados deste experimento mostraram que os ameloblastos e demais células dos órgãos odontogênico e do esmalte dos incisivos inferiores de camundongos que tiveram removidas as suas glândulas salivares maiores (parótidas, sub-mandibulares e sub-linguais), após um período de uma a dez dias, não apresentaram qualquer alteração histológica, ao nível do microscópio óptico, quando comparadas às células correspondentes dos animais que serviram como controle.

Em trabalho realizado por OGATA (1955), alte-

rações histológicas foram encontradas em incisivos de ratos albinos, causadas pela extirpação bilateral das glândulas salivares. Elas ocorreram em todas as estruturas do dente, inclusive nos ameloblastos secretores que apresentaram atrofia, degeneração hidrópica, vacuolização, picnose e localização anormal do núcleo. Entretanto não podemos comparar nossos resultados aos obtidos por OGATA (1955) porque não se tem referência das condições experimentais em que foi realizado aquele trabalho, por exemplo, quanto tempo após a sialoadenectomia tais alterações foram verificadas, sexo do animal, dieta empregada, número de animais utilizados e informações de ordem técnica. Apesar das modificações histológicas encontradas por esse autor terem sido atribuídas à sialoadenectomia, não houve um grupo experimental de animais sialoadenectomizados nos quais a administração de parotina tenha criado reversibilidade daquele quadro de alterações.

MORANO (1976) estudou o efeito da remoção bilateral das glândulas salivares sub-mandibulares e sub-linguais sobre os ameloblastos e odontoblastos de molares de ratos com nove a catorze dias de idade. A cirurgia foi realizada quando os filhotes completavam oito dias de vida, e sacrificados nos dias subsequentes, do nono ao décimo quarto dias de idade. A partir do terceiro dia após a sialoadenectomia as primeiras alterações morfológicas (presença de vacúolos citoplasmáticos e espaços intercelulares aumentados) puderam ser observadas nos ameloblastos e odontoblastos, alterações essas que se tornaram gradativamente mais acentuadas até o décimo quarto dia. Nossos resultados não devem

ser comparados com os de MORANO (1976) uma vez que as condições experimentais não foram as mesmas da empregada por aquele autor que estudou molar de rato com alguns dias de vida, enquanto neste trabalho utilizou-se incisivo de camundongo adulto.

Com relação ao fator idade do animal, PLAGGE (1938); BARTHE e DAVID (1971); LOUSSARN (1972); VILARINO (1976) mostraram que a remoção das glândulas salivares de ratos recém-nascidos provocou sérios problemas de desenvolvimento, levando-os à morte por inanição, uma vez que por falta de saliva os animais tornavam-se incapazes de se alimentar. ALVARES (1979) confirmou esse ponto de vista mostrando que foi possível 100% de sobrevivência de ratos recém-nascidos sialoadenectomizados, induzindo-lhes alimentação por sonda gástrica.

Trabalhos de SHAW & WOLLMAN (1958) e de LIMA (1978) mostraram que a sialoadenectomia, quando realizada em ratos adultos, não os impossibilitou de se alimentar, mas acarretou-lhes uma diminuição no crescimento e no peso corporal. WYNN et alii (1961); HALDI & WYNN (1963); NARASHIMA & GANHA (1968) realizaram sialoadenectomia em ratos adultos e os alimentaram com dieta padronizada através de sonda gástrica. Mesmo nessas condições, os animais apresentaram diminuição do peso corporal em relação aos controles, sugerindo uma alteração endócrina ou metabólica ocasionada pela remoção de suas glândulas salivares. Entretanto convém ressaltar que, também em nenhum desses trabalhos, houve um grupo experimental de animais cujo peso e crescimento corporal tenham sido restabelecidos pelo uso de extrato de glândulas ou

parotin, justificando a atribuição daquelas alterações a um fator endócrino. Não se sabe portanto, até que ponto o fator idade do animal poderá ter interferido para justificar o aparecimento das alterações nos molares de ratos jovense, a inexistência delas nos incisivos de camundongos, ambos submetidos a sialoadenectomia.

MORANO (1976) não utilizou sonda gástrica para alimentar os animais e as alterações foram mais acentuadas naqueles sacrificados no tempo máximo de seis dias após a sialoadenectomia. Surge então uma pergunta: Seriam as modificações histológicas observadas por Morano, consequentes da remoção das glândulas salivares, ou ocasionadas por uma alteração metabólica acarretada pela falta de nutrição ?

Ainda nesse trabalho, MORANO (1976) não fez referência em qual dos molares as observações foram feitas. Cronologicamente, sabe-se que por volta do nono dia de vida pós-natal, a matriz do esmalte atingiu quase que a sua espessura total, no primeiro molar, e inicia-se a maturação do esmalte. Os ameloblastos tornaram-se reduzidos a uma camada de células cubóides adjacentes à superfície oral da matriz do esmalte (COHN, 1957). O desenvolvimento do segundo molar ocorre dois dias após em relação ao primeiro. Entretanto para o terceiro molar o desenvolvimento é bem mais tardio, ou seja, por volta do décimo primeiro ou décimo segundo dia é que se inicia a deposição da matriz do esmalte, fase em que os ameloblastos apresentam-se como células colunares altas. As ilustrações do trabalho de MORANO (1976) mostram uma camada relativamente desenvolvida do esmalte descalcificado, o que leva a crer que o autor trabalhou com pri

meiro ou segundo molar. Assim sendo, pode-se deduzir que as alterações observadas por MORANO (1976) ocorreram em ameloblastos na fase de pós-secreção. Este resultado difere do de OGATA (1955) que observou alterações nos ameloblastos secretores do incisivo de rato. Outra consideração é que as alterações descritas por MORANO (1976), ou seja, vacúolos citoplasmáticos e espaços intercelulares aumentados são características normais de ameloblastos em certa fase da pós-secreção, conforme descrito por WARSHAWSKY e SMITH (1974) para incisivos de ratos, conforme mostram ilustrações apresentadas por COSTA (1979) no estudo da histoarquitetura das células do órgão do esmalte de molares de camundongos, além dos resultados obtidos neste experimento.

No presente trabalho, as observações histológicas realizadas no órgão do esmalte foram feitas no período de um até dez dias após a remoção das glândulas salivares. Considerando que não se conhece a taxa normal de parotina no sangue, nem a velocidade do seu desaparecimento na corrente sanguínea, ocorre a possibilidade de que o período máximo de dez dias após a sialoadenectomia seja insuficiente para que as alterações se tornem observáveis, embora MORANO (1976) as tenha verificado apenas tres dias após a remoção das glândulas.

Finalmente, outro aspecto que deve ser ressaltado é sobre a metodologia utilizada neste trabalho em comparação à utilizada nos experimentos acima citados. Assim, utilizamos a fixação dos tecidos por perfusão intracardíaca com glutaraldeído a 2,5% que permite uma fixação quase que imediata, enquanto que os outros autores a fizeram por imer

são, sabidamente de resultados precários para tecidos mineralizados. Do mesmo modo, a inclusão da peça foi feita em epon que possibilitou obter cortes semi-finos, que permitem uma melhor resolução para se estudar a morfologia celular ao nível de microscopia óptica, quando comparados a cortes de 5 a 7 μm obtidos em parafina.

Acreditamos portanto que os resultados obtidos nos experimentos citados na literatura se devam a diferenças de regiões estruturais observadas e também a problemas de ordem técnica.

RESUMO E CONCLUSÕES

RESUMO E CONCLUSÕES

No presente trabalho, com o objetivo de observar possíveis alterações na morfologia das células do órgão dental de incisivos inferiores de camundongos, causadas pela extirpação bilateral das glândulas salivares maiores (parótidas, sub-mandibulares e sub-linguais), foram usados vinte e dois camundongos *M. musculus, albinus* machos adultos, com 70 dias de idade, divididos em dois grupos: um grupo controle com dois animais normais e o outro com vinte animais, que ao completar 70 dias de idade foram submetidos a sialoadenectomia. Os animais desse grupo foram sacrificados, dois a dois, nos seguintes intervalos de tempo após a cirurgia: 24 horas, 2 dias, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 dias.

As hemimandíbulas dos animais foram fixadas por perfusão intracardíaca com glutaraldeído a 2,5%, pós-fixada por imersão em glutaraldeído a 2,5% durante 4 horas, e descalcificadas em EDTA a 4,13% durante 18 dias. Depois de pós fixadas em tetróxido de ósmio a 1% foram incluídas em

epon. Cortes de 1 μ m de espessura foram obtidos e corados - com azul de metileno e azur II e, em seguida, analisados histológicamente a nível de microscopia óptica.

A descrição morfológica das células foi feita nos vários compartimentos funcionais do dente, de acordo com a classificação de WARSHAWSKY e SMITH (1974) para incisivo de rato.

Os resultados deste experimento mostraram que as células dos órgãos odontogênico e do esmalte não sofreram alterações morfológicas observáveis ao microscópio óptico, em consequência da remoção das glândulas salivares parótidas, sub-mandibulares e sub-linguais, no período de um a dez dias após a cirurgia, ao contrário dos poucos resultados descritos na literatura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARES, G.F. Efeitos da sialoadenectomia em ratos lactentes: sobrevivência e crescimento. Campinas, 1979. {Tese (mestrado) Instituto de Biologia - UNICAMP} .
- BARTHE, D. & DAVID, J.F. Effects de l'ablation des glandes sous-maxillaires et de la destruction de leurs canaux excreteurs sur la survie at la croissance du rat nouveau né. C. r. Soc. Biol., 165: 570-4, 1971.
- COHN, S.A. Development of the molar teeth in the albino mouse. Am. J. Anat., 101: 295-319, 1957.
- COSTA, J.R.V. Estudo da histoarquitetura das células que compoem o órgão do esmalte de molares de camundongo. Piracicaba, 1979. Tese (mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP .

FARRIS, E.J. & GRIFFITH, J.Q. The rat in laboratory investigation. 3. ed. New York, Hafner Publ., 1967. p. 106
18.

FLEMING, H.S. Parotin and growth centers of femurs and incisors in mice. J. dent. Res., 38: 374-85, 1959.

_____. The effect of parotin in mice. Ann. N. Y. Acad. Sci., 85: 313-23, 1960.

_____. The effect of salivary gland extracts on tooth development. In: ORCA CONGRESS, 9., Paris, 1962. Procé- dings... Oxford, Pergamon press, 1963. p. 195-200.

HALDI, J. & WYNN, W. Effect of sialoadenectomy on weight - gain and body composition of albino rats. J. dent. Res., 42: 11-5, 1963.

ITO, Y. & AONUMA, S. Studies on the submaxillary gland. I. Effects of submaxillary gland extracts on serum phosphate and calcium. J. pharm. Soc. Japan, 72: 1517, 1952.

_____ & MIZUTANI, A. Studies on salivary gland hormones. XIV - Isolation of crystalline parotin by fractional precipitation with ammonium sulfate. J. pharm. Soc. Japan, 72: 244, 1952.

_____ ; TSURUFUJI, S.; KUBOTA, Y. Studies on the saliva-

ry gland hormone. XXV.- Effect of parotin on the distribution of radioactive ^{32}P , in vivo. J. pharm. Soc. Japan; 74: 350-4, 1954.

LIMA, J.E.O. Influência das glândulas salivares no irrompimento, crescimento e calcificação dos dentes incisivos e molares de ratos. Bauru, 1975. {Tese (mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru - USP} .

Influência da remoção das glândulas salivares - maiores sobre o ganho de peso corporal e o desenvolvimento ósseo do rato. Bauru, 1978. {Tese (doutoramento) - Faculdade de Odontologia de Bauru - USP} .

LOUSSAUARN, D. Effect de l'exerese des glandes sous-maxillaries sur la croissance du jeune rate male. Revue Stomat., 73: 627-31, 1972.

LUFT, J.H. Improviments in epoxy resin embedding methods . J. biophys. biochem. Cytol., 9: 409-14, 1961.

MARUYAMA, M. Chemical studies on the substance wich is contaminated in the parotin gland and influences upon the calcium content of the blood. J. Biochem., Tóquio, 37:1, 1950.

MORANO JR., M. Efeitos da extirpação bilateral das glându-

las salivares sub-mandibulares e sub-linguais nos amelo-
blastos e odontoblastos de molares de ratos jovens. Pi-
racicaba, 1976. {Tese (doutoramento) - Faculdade de O-
dontologia de Piracicaba - UNICAMP} .

NARASHINHAN, M.J. & GANHA, V.G. The regulatory influence of
the sub-mandibular salivary gland on growth. Annals En-
docr., 29: 513-22, 1968.

OGATA, T. On the internal secretion of salivary gland. Jo-
lia endocr. jap., 20: 1-6, 1944.

_____. The internal secretion of salivary gland. Endo-
cr. jap., 2: 247-61, 1955.

PLAGGE, J.L. The vital importance of salivary glands to new
born rats. Am. J. Physiol., 124: 612-9, 1938.

QUINTARELLI, G.; GORDON, R.B.; CHAUNCEY, H.H. The effect of
parotid gland extract on the hard and soft tissues of
growing mice. Oral Surg., 13: 875-7, 1960.

SATO, T. Effects of parotid gland extract upon calcificati-
on of dentin of rabbit. Gunna J. med.Sci., 2: 183-5 ,
1953.

SHAW, J.H. & WALLMAN, P.H. The influence of sialoadenecto-

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

4287

my in rats on food and water consumption. J. dent. Res.,
37: 805-10, 1958.

SIERVE, R. & DAL MASO, L. Parotin: A hormone of salivary -
glands. Riv. ital. Stomat., 17: 255-69, 1962.

VILARINO, J.F. Influência das glândulas salivares sub-man-
dibulares na ingestão láctea, em ratos. Campinas, 1976.
{Tese (mestrado) - Instituto de Biologia - UNICAMP} .

WARSHAWSKY, H. & MOORE, G. A technique for the fixation and
decalcification of rat incisors for electron microscopy.
J. Histochem. Cytochem., 15: 542-9, 1967.

_____ & SMITH, C.E. Morphological classification of rat
incisor ameloblast. Anat. Rec., 179: 423-46, 1974.

WYNN, W. et alii. Effect of sialoadenectomy in growth and
body composition of rats. J. dent. Res., 40: 688-9, 1961.