

N E L S O N   M A S S I N I

*Handwritten signature and date:*  
Nelson Massini  
1975

ESTUDO DO CRESCIMENTO DENTÁRIO EM RATOS  
TRATADOS COM CICLOFOSFAMIDA (ENDUXAN<sup>(R)</sup>)

Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba - UNI  
CAMP, para obtenção do grau de  
MESTRE EM FARMACOLOGIA.

P I R A C I C A B A   -   1 9 7 5

**UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL**

Aos meus pais e minha irmã, que pelo amor e sacrifícios me proporcionaram esta oportunidade....

À minha esposa, pelo incentivo e compreensão aos meus assuntos universitários.....

À Dona Adelina Cerioni Carmignani, Caetano Carmignani e Yolanda Cerioni pelo apoio recebido durante minha formação acadêmica....

dedico este trabalho.

Ao Professor Doutor Armando Octávio Ramos,  
pela orientação do presente trabalho, bem  
como, pelo apoio e interesse demonstrado  
na minha formação científica.

Aos Professores

Dr. Eduardo Daruge

Dr. Manuel Pereira

Dr. Antonio Carlos Neder

aos quais devo, a oportunidade que tive de sentir a fascinação da pesquisa e de descobrir, que uma única vitória nesse campo compensa sobejamente todos os entraves e dificuldades.

A eles, devo ainda, a tranquilidade de haver trilhado o caminho certo e, amparado que fui por seus exemplos, de devotamento ao trabalho e, sobretudo, pela maneira humana como souberam encarar todas as minhas limitações e dificuldades.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Zeferino Vaz, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas, pelo incentivo que sempre tem dispensado àqueles que se dedicam ao ensino e à pesquisa.

Ao Prof. Dr. José Merzel, Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, pelo apoio recebido.

Ao Prof. Dr. José Lopes de Faria, Digníssimo Diretor da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pelo muito que tem feito em prol do ensino e da pesquisa em nossa Faculdade.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia Aplicada à Clínica Odontológica.

À Sr<sup>a</sup> Ivany do Carmo Guidolin Gerola, Bibliotecária da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelas sugestões na bibliografia apresentada.

Ao Prof. Flávio de Toledo Piza, pela correção do vernáculo.

À Srt<sup>a</sup> Sônia Maria Aparecida Simionato Victoria e Prof. Ulysses de Oliveira Martins, pelos serviços de datilografia.

Ao Sr. Sebastião Rodrigues de Barros, pelos serviços de impressão e encadernação deste trabalho.

# I N D I C E

INTRODUÇÃO .....	Pag. 1
MATERIAL E MÉTODO .....	Pag. 6
SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA .....	Pag. 8
RESULTADOS .....	Pag. 11
DADOS COLETADOS .....	Pag. 13
ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	Pag. 16
VALORES DE PESAGEM .....	Pag. 20
FIGURAS .....	Pag. 26
DISCUSSÃO .....	Pag. 30
CONCLUSÃO .....	Pag. 32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	Pag. 33

## INTRODUÇÃO

A quimioterapia tem encontrado indicações limitadas para o tratamento das neoplasias malignas avançadas, principalmente porque as doses requeridas são altamente tóxicas, com efeitos graves para a hemopoiese e função de vários outros órgãos proliferativos.

Durante a última década, obteve-se muito progresso nas investigações clínicas e farmacológicas referentes às doenças neoplásicas. Ainda que esses resultados positivos sejam bastante alentadores e muito embora para vários casos já se tenham obtido remissões completas positivamente duradouras, ainda não foi conseguido o resultado desejado, que é a cura medicamentosa das doenças neoplásicas.

Um grande número de drogas têm sido investigado em animais de experimentação e algumas se têm demonstrado suficientemente úteis no tratamento clínico de neoplasias humanas, em níveis aceitáveis de toxicidade, a ponto de receberem a designação de agentes quimioterápicos.

Dentre a enorme variedade de substâncias quimioterápicas neoplásicas, destacamos para o nosso estudo uma droga que pertence à classe dos agentes alcoilantes.

Muito embora se conheçam agentes alcoilantes desde 1854, quando houve a primeira síntese, o estudo destes agentes teve seu início a partir da Primeira Guerra Mundial, quando o gás mostarda foi utilizado como arma de guerra química. Naquela oportunidade surgiram os estudos dos seus efeitos vesicantes sobre a pele, os olhos e o aparelho respiratório.

Posteriormente, KRUMBHAAR e KRUMBHAAR(1919), fizeram a observação pertinente de que envenenamento causado pelo agente alcoilante é caracterizado por leucopenias, e em casos autopsiados, por aplasias da medula óssea, dissolução

de tecido linfóide e ulcerações no aparelho gastro intestinal.

A ação citotóxica sobre o tecido linfóide insti gou GILMAN. (1963), GOODMAN e cols. (1946) e T. F. DOUGHER TY (1959) a estudarem o efeito dos agentes alcoilantes sq bre o linfossarcoma transplantado em camundongo. Em 1942, o primeiro paciente foi tratado com a colaboração de G. E. LINDSKOG. Embora o primeiro paciente estudado apresentasse acentuada remissão do tumor, surgiu depressão grave, mas re verssível, da função da medula óssea; a melhora foi de dura ção breve, e as séries subsequentes de medicação mostraram se menos eficazes.

Em suas fases iniciais, o estudo dos agentes al coilantes foi seguido de restrições secretas impostas pelo uso de agentes classificados como de guerra química.

Nos anos seguintes à Segunda Guerra Mundial, diver sas revisões foram escritas sobre esses agentes, relativas a seu mecanismo de ação, sua farmacologia geral e suas apli cações terapêuticas. Entre elas se podem citar as de PHILIPS (1950); ROSS (1953); MONTGOMERY (1959); HALL e cols. (1960); FORKNER e cols. (1961); ROSS (1962); WHEELER (1962 e 1967); MOQUIN e DOMESHEK (1963); WARWICK (1963); OCHOA e HIRSCHBERG (1967).

Muitas modificações da estrutura química básica dos alcoilantes resultaram em muitos derivados, alguns dos quais se mostraram mais úteis do que o composto original em circunstâncias clínicas específicas.

Presentemente, tres tipos principais de agentes alcoilantes são usados na quimioterapia das doenças neoplá sicas: as mostardas nitrogenadas, as etileniminas e os sul fonatos de alcoilas.

O mecanismo de ação destas drogas ainda não está

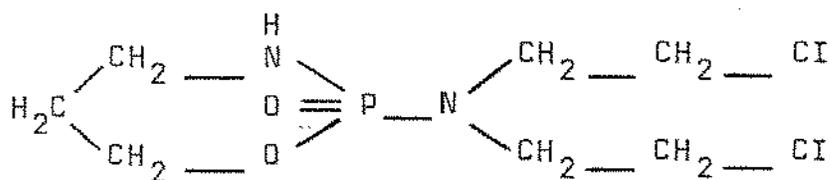
totalmente elucidado, mas sabe-se que elas têm em comum a propriedade de sofrer reações químicas que geram íons de carbônio eletrófilo, altamente reativos, que formam prontamente ligações covalentes (alcoilato) com várias substâncias nucleofílicas, inclusive grupamentos biologicamente importantes, como o fosfato, a sulfidrila, a hidroxila, a carboxila, grupos imidazólicos e amínicos.

Os estudos de BROKES e LAWLEY (1961, 1963, 1964) e LAWLEY e BROKES (1965), sobre a interação dos agentes alcoilantes com o D.N.A., sugerem que o composto alcoilado biológico chave é uma base purínica, a guanina, na qual o nitrogênio 7 é fortemente nucleofílico.

As ações farmacológicas mais importantes dos agentes alcoilantes são as que perturbam os mecanismos fundamentais concernentes ao crescimento, atividade mitótica, diferenciação e função celular. A capacidade dessas substâncias de interferir com as mitoses e a divisão celular normais em todos os tecidos rapidamente proliferantes, proporciona a base para suas aplicações terapêuticas e para muitas de suas propriedades tóxicas.

Tendo em vista os efeitos citotóxicos das mostardas nitrogenadas, o nosso interesse voltou-se para o efeito de uma dessas drogas, a CICLOFOSFAMIDA (ENDUXAN<sup>(R)</sup>) sobre a dentinogênese.

A ciclofosfamida que apresenta a seguinte fórmula bioquímica

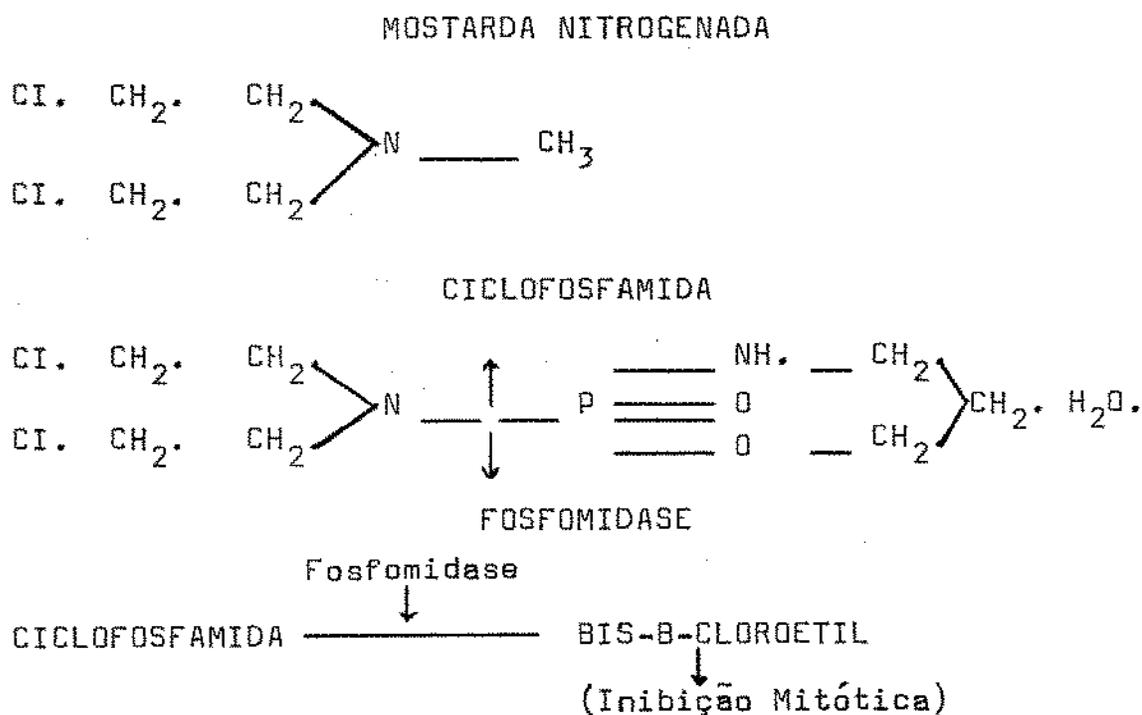


foi obtida a partir da estrutura de mecloretamina (ARNOLD e BOURREAU, 1958).

A ciclofosfamida é um derivado da mostarda nitrogenada (HN<sub>2</sub>).

No Brasil tem o nome comercial de Enduxan. Ainda tem por sinonímia: 1) N, N-Bis-Cloroetil-diamida do ester N, O-propilenfosfórico; 2) Citoxan e 3) B-158, além de outros.

A ciclofosfamida não tem atividade in vitro. Sua atividade terapêutica provém de uma componente de sua molécula, a Bis (B Cloroetil), que age quando isolada. Ocorre que a cisão desta molécula e a libertação da parte ativa só se dá em vivo, sob a ação de um fermento especial, a fosfomidase que cinde a molécula na ligação N.P. do esquema abaixo:



No aspecto clínico, esta droga apresenta atividade

de muito semelhante à mostarda nitrogenada, tendo sido confirmados os bons resultados iniciais observados na doença de Hodgkin e no linfossarcoma.

Constituem vantagens notáveis desta substância a eficácia tanto por via oral quanto parenteral e a possibilidade de administração de doses fracionadas durante períodos prolongados.

Por essas razões, possui versatilidade de ação que possibilita uma faixa intermediária de utilização entre a da mecloretamina, altamente reativa por via venosa e a do clorambucil, por via oral.

Por essas e várias outras razões, a ciclofosfamida tem sido amplamente usada, salientando-se em neoplasias da infância.

Com o uso dessas drogas em doenças neoplásicas da infância, HOOGSTRATEN (1960), KORST et al. (1964), surgiu nosso interesse em conhecer melhor a influência desses medicamentos em centro de alta proliferação, simulando o que eventualmente acontece com a aplicação terapêutica na criança.

Alguns autores iniciaram o estudo dos efeitos da ciclofosfamida na dentinogênese, dentre eles, podemos citar KOPPANG (1973) que estudou o aspecto histológico e autoradiográfico, sem no entanto assinalar quais os efeitos das alterações observadas no crescimento dentário propriamente dito.

No presente trabalho pretendemos estudar os efeitos da ciclofosfamida na velocidade de crescimento dentário. Para isso, observamos o crescimento do dente incisivo inferior do rato, dente que apresenta centro germinativo constante durante a vida do animal, o que proporciona crescimento contínuo do dente.

## MATERIAL E MÉTODOS

### ANIMAIS UTILIZADOS

As experiências foram realizadas em 30 ratos da raça Wistar, machos, adultos, jovens, de 6 meses de idade e com peso médio de 300 gramas, fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu.

### PREPARO EXPERIMENTAL DOS ANIMAIS

#### Anestesia

Para a marcação dos incisivos e para as mensurações, os animais foram anestesiados com éter sulfúrico por inalação.

#### Marcação dos dentes do animal

No início do experimento, foi feita a marcação base nos dentes incisivos inferiores do animal, utilizando-se para isso um disco metálico de 3/4 de polegada da marca Hórico, adaptado a um mandril e fixado a uma peça de mão movida por um motor de baixa rotação (6.000 r.p.m.).

As marcações bases constam de um pequeno sulco horizontal na face vestibular, tendo como parâmetro inferior, o limite dento-gengival, sem no entanto, ferir a gengiva (Figura I).

### DROGAS, DOSES E VIAS DE ADMINISTRAÇÃO

1 - Ciclofosfamida (Enduxan<sup>(R)</sup>) - Laboratório Pra

vaz Recodati. Usada por via intraperitoneal na dose de 25 mg/kg para o grupo nº 2 e 12,5 mg/kg para o grupo nº 3.

2 - Éter Sulfúrico - Soroquin Indústria e Comércio Limitada, usado por inalação, para anestesia.

#### MENSURAÇÕES

Foram realizadas 4 mensurações a intervalos de 3 dias, a primeira imediatamente a marcação base.

Para as mensurações foi usado um compasso de ponta seca, com o qual foi tomada a medida diretamente sobre o dente; posteriormente, foi feita a leitura sob um paquímetro. O valor final anotado foi a representação da média de 3 medidas consecutivas, expresso em milímetros. (Figura III).

A medida do crescimento dentário corresponde a distância entre o limite dento-gengival e a marcação base executada.

Os animais foram pesados a cada realização das mensurações, com o objetivo de avaliar se a droga estaria produzindo algum efeito sistêmico nocivo.

#### AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Para a avaliação estatística dos efeitos de doses de ciclofosfamida e de dias de mensuração no crescimento dentário de ratos, foi utilizado o método de análise de variância. O teste "t" foi usado para averiguação de possíveis diferenças de crescimento entre os incisivos direito e esquerdo.

## SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

### MODELO EXPERIMENTAL

A dentição do rato é monofiodôntica, isto é, consiste de uma série de dentes: um incisivo e tres molares em cada maxila. No maxilar superior, o incisivo está situado em posição anterior aos molares. No maxilar inferior sua posição é a mesma, no entanto sua raiz se estende por baixo e por trás dos molares.

Os incisivos crescem, calcificam-se e irrompem continuamente, ao longo de toda a vida do animal, mostrando, portanto, num dente único, o completo ciclo vital do desenvolvimento dos dentes, a partir de seu início até a maturidade. Eles vão sendo, também, continuamente gastos pelo atrito nas suas orlas incisivas. No rato adulto, os registros gravados no esmalte e na dentina do incisivo ficam, portanto, limitados aos 40 ou 50 dias anteriores.

Morfogênese - A forma do incisivo do rato é de uma espiral logarítmica lateralmente cortada (cisalhada). A curvatura do dente é lisa, polida e representa, no incisivo superior, um segmento maior de uma espiral menor (cerca de 210°) e, no de baixo, um segmento menor de uma espiral maior (140-145°). Os incisivos superior e inferior são, portanto, segmentos diferentes de uma mesma espiral logarítmica.

O incisivo não tem raiz, mas consiste de uma poderosa coroa, que pode ser dividida longitudinalmente em duas partes: a) a porção labial ou convexa coberta com esmalte e b) as restantes porções lingual ou côncava e lateral, cobertas com cimento. O cone curvo do dente é comprimido médio lateralmente e tem uma leve cisalha lateral. Durante o uso, o ápice do cone é gasto pelo atrito (uso funcional). O movi

mento alternado dos maxilares para frente e para trás, na mastigação, produz um desgaste muito mais rápido do cemento e da dentina relativamente mais moles do lado lingual do que do esmalte realmente duro da superfície labial. Disso resulta uma borda fortemente parecida com um formão.

O dente se desenvolve de uma bainha elíptica chamada epitélio odontogênico, que se acha localizado em sua base e que encerra o tecido conectivo da polpa primitiva. Esse anel epitelial determina o tamanho e a forma do corte transversal do futuro dente e continua proliferando ao longo da vida do animal. Nas alturas de pelo menos 150 dias de idade, ele aumenta de tamanho numa proporção constante com a idade do animal, de forma que o diâmetro do dente, em qualquer nível dado, é um índice da idade do animal.

#### DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

O trabalho consistiu das seguintes fases:

1 - Marcação dos dentes incisivos inferiores do animal, com um pequeno sulco feito na face vestibular.

2 - Injeção diária de ciclofosfamida por via intraperitoneal.

3 - Mensuração a cada 3 dias, partindo do 1º dia de tratamento, para avaliação do crescimento dentário, totalizando um período de 10 dias.

#### GRUPOS DE PESQUISA

Os animais foram divididos em tres grupos, a saber:

Grupo I - Animais controles

Animais não tratados com droga, que tiveram seus incisivos marcados e nos quais foram feitas as medidas de crescimento dentário a cada 3 dias.

Grupo II - Animais tratados com droga (25 mg/kg intraperitoneal)

Animais tratados com ciclofosfamida na dose de 25 mg/kg de peso via intraperitoneal, que tiveram seus incisivos marcados e nos quais foram feitas as medidas de crescimento dentário a cada 3 dias.

Grupo III - Animais tratados com droga (12,5 mg/kg intraperitoneal)

Animais tratados com ciclofosfamida na dose de 12,5 mg/kg de peso via intraperitoneal, que tiveram seus incisivos marcados e nos quais foram feitas as medidas de crescimento dentário a cada 3 dias.

## RESULTADOS

### GRUPO I - ANIMAIS CONTROLES

Neste grupo o crescimento dentário dos incisivos inferiores, no período de 10 dias, foi em média de 4,9 mm.

A Tabela IV mostra o crescimento dentário nesses animais.

Os ratos desse grupo apresentaram uma constância no peso, sendo que o valor médio inicial foi de 267 gramas, mantendo-se igual até o final da experiência, conforme se verifica na Tabela V.

O teste "t" mostrou não haver diferença significante do crescimento dos dentes direito e esquerdo.

### GRUPO II - ANIMAIS TRATADOS COM 25 mg/kg i.p. DE CICLOFOSFAMIDA

Neste grupo o crescimento dentário dos incisivos inferiores, no período de 10 dias, foi de 3,7 mm.

A Tabela IV mostra o crescimento dentário nesses animais.

Os ratos neste grupo apresentaram uma variação muito grande de peso, sendo o valor médio inicial de 300 gramas, e ao final da experiência os valores médios encontrados, foram de 258 gramas, conforme se verifica na Tabela VI.

Observou-se ainda, graves sinais de toxicidade geral, como perda de pelos, lesões degenerativas nos olhos e nariz, fígado aumentado, perda de apetite.

GRUPO III - ANIMAIS TRATADOS COM 12,5 mg/kg i.p.  
DE CICLOFOSFAMIDA.

Neste grupo o crescimento dentário dos incisivos inferiores foi de 3,2 mm.

A Tabela IV mostra o crescimento dentário nesses animais.

Os ratos neste grupo, apresentaram uma variação de peso menor, sendo que a média inicial foi de 292 gramas, e a média final de 272 gramas, conforme Tabela VII.

Observou-se ainda, alguns sinais de toxicidade geral, como pelo iriçado, irritação nos olhos e nariz, perda do apetite.

TABELA I

CRESCIMENTO (EM MILÍMETROS) DOS DENTES INCISIVOS INFERIORES DIREITO E ESQUERDO, DE RATOS TRATADOS COM CICLOFOSFAMIDA (12,5 e 25 mg/kg) OU NÃO (CONTROLE), NO QUARTO DIA DE OBSERVAÇÃO.

DENTES	DOSES		
	Controle	12,5 mg/kg	25,0 mg/kg
1	1,4	1,8	1,6
2	1,1	1,5	1,7
3	1,5	2,0	1,4
4	1,2	1,3	1,8
5	1,4	1,6	1,5
6	1,0	1,0	1,5
7	1,2	1,3	1,8
8	1,5	1,1	1,6
9	1,0	1,8	2,0
10	1,2	1,8	1,4
11	1,5	1,7	1,9
12	1,9	1,1	1,0
13	1,4	1,1	1,5
14	1,4	1,2	1,4
15	1,6	1,6	1,8
16	1,1	1,4	1,4
17	1,8	1,4	2,0
18	1,6	1,8	1,4
19	1,8	1,8	1,8
20	1,4	1,6	1,8
MÉDIAS	1,5	1,6	1,5

## TABELA II

CRESCIMENTO (EM MILÍMETROS) DOS DENTES INCISIVOS INFERIORES DIREITO E ESQUERDO, DE RATOS TRATADOS COM CICLOFOSFAMIDA (12,5 e 25 mg/kg) OU NÃO (CONTROLE), NO SÉTIMO DIA DE OBSERVAÇÃO

DENTES	DOSES		
	Controle	12,5 mg/kg	25,0 mg/kg
1	3,0	2,7	3,1
2	2,2	2,9	2,5
3	3,2	3,4	2,6
4	3,0	2,6	2,7
5	2,1	2,8	2,5
6	2,6	2,0	2,4
7	2,4	2,3	3,0
8	2,8	2,4	3,2
9	3,1	4,6	3,2
10	3,0	3,2	2,2
11	3,1	3,0	2,7
12	3,6	2,5	2,2
13	3,1	2,8	2,2
14	3,0	2,2	2,7
15	2,5	2,7	3,0
16	2,8	2,0	2,8
17	3,4	2,3	3,4
18	2,6	3,0	2,8
19	4,3	3,6	2,4
20	3,0	2,8	3,0
MÉDIAS	2,9	2,8	2,7

T A B E L A III

CRESCIMENTO (EM MILÍMETROS) DOS DENTES INCISIVOS INFERIORES DIREITO E ESQUERDO, DE RATOS TRATADOS COM CICLOFOSFAMIDA (12,5 e 25 mg/kg) OU NÃO (CONTROLE), NO DÉCIMO DIA DE OBSERVAÇÃO.

D E N T E S	D O S E S		
	Controle	12,5 mg/kg	25 mg/kg
1	5,4	2,9	3,9
2	4,6	3,6	4,4
3	5,0	3,6	4,3
4	4,4	2,8	3,7
5	4,5	3,1	3,9
6	4,5	2,3	4,5
7	4,6	3,2	3,8
8	4,9	3,2	2,6
9	6,0	4,6	3,6
10	4,0	3,2	2,6
11	5,2	3,6	3,5
12	5,8	3,4	3,6
13	4,5	2,8	4,1
14	4,8	2,6	3,8
15	3,9	3,1	3,8
16	5,2	2,3	4,6
17	5,0	4,0	3,6
18	4,8	3,1	3,4
19	5,0	3,6	2,4
20	4,8	2,8	3,4
MÉDIAS	4,9	3,2	3,7

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES A TABELA I

CAUSAS DE VARIACÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
DOSES	2	0,47	0,24	3,43
RESÍDUO	57	4,19	0,07	
TOTAL	59	4,66		

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES A TABELA II

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
DOSES	2	0,47	0,24	0,96
RESÍDUO	57	14,05	0,25	
TOTAL	59	14,52		

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTES A TABELA III

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
DOSES	2	29,57	14,79	48,65
RESÍDUO	57	17,33	0,30	
TOTAL	59	46,90		

## TABELA IV

COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO CRESCIMENTO DENTÁRIO EM RATOS TRATADOS COM CICLOFOSFAMIDA. OS VALORES SÃO EXPRESSOS EM MILÍMETROS E REPRESENTAM O CRESCIMENTO DOS INCISIVOS DIREITO E ESQUERDO NOS DIVERSOS DIAS DE MENSURAÇÃO E A MÉDIA GERAL.

GRUPO		4º dia	7º dia	10º dia
CONTROLE	D -	1,3	2,7	4,8
	E -	1,6	3,1	4,9
	M -	1,5	2,9	4,9
CICLOFOSFAMIDA 25 mg/kg i.p.	D -	1,6	2,7	3,8
	E -	1,6	2,7	3,6
	M -	1,6	2,7	3,7
CICLOFOSFAMIDA 12,5 mg/kg i.p.	D -	1,5	2,9	3,2
	E -	1,5	2,7	3,1
	M -	1,5	2,8	3,2

D = INCISIVO DIREITO

E = INCISIVO ESQUERDO

M = MÉDIA DOS DOIS INCISIVOS

## TABELA V

VALORES ( EM GRAMAS ) OBTIDOS COM A PESAGEM DOS ANIMAIS, NO 1º, 4º, 7º e 10º DIA DE OBSERVAÇÃO, EM RATOS CONTROLE.

ANIMAIS	DIAS DE PESAGEM				MÉDIA
	1º	4º	7º	10º	
1	257	259	262	256	258
2	265	251	237	231	246
3	250	246	243	252	247
4	275	267	265	270	269
5	290	276	263	284	278
6	284	314	344	296	307
7	240	242	245	248	243
8	270	276	282	284	278
9	247	251	256	260	253
10	283	290	294	297	291
MÉDIA	267	267	259	267	267

## TABELA VI

VALORES (EM GRAMAS) OBTIDOS COM A PESAGEM DOS ANIMAIS, NO 1º, 4º, 7º e 10º DIA DE OBSERVAÇÃO, EM RATOS TRATADOS COM 12,5 mg/kg DE CICLOFOSFAMIDA

ANIMAIS	DIAS DE PESAGEM				MÉDIA
	1º	4º	7º	10º	
1	302	305	297	280	296
2	295	290	291	275	287
3	298	296	272	268	283
4	318	298	290	292	299
5	310	311	305	291	304
6	270	273	269	258	267
7	260	263	270	263	264
8	310	315	304	290	304
9	279	283	270	262	273
10	278	269	260	250	264
MÉDIA	292	290	282	272	253

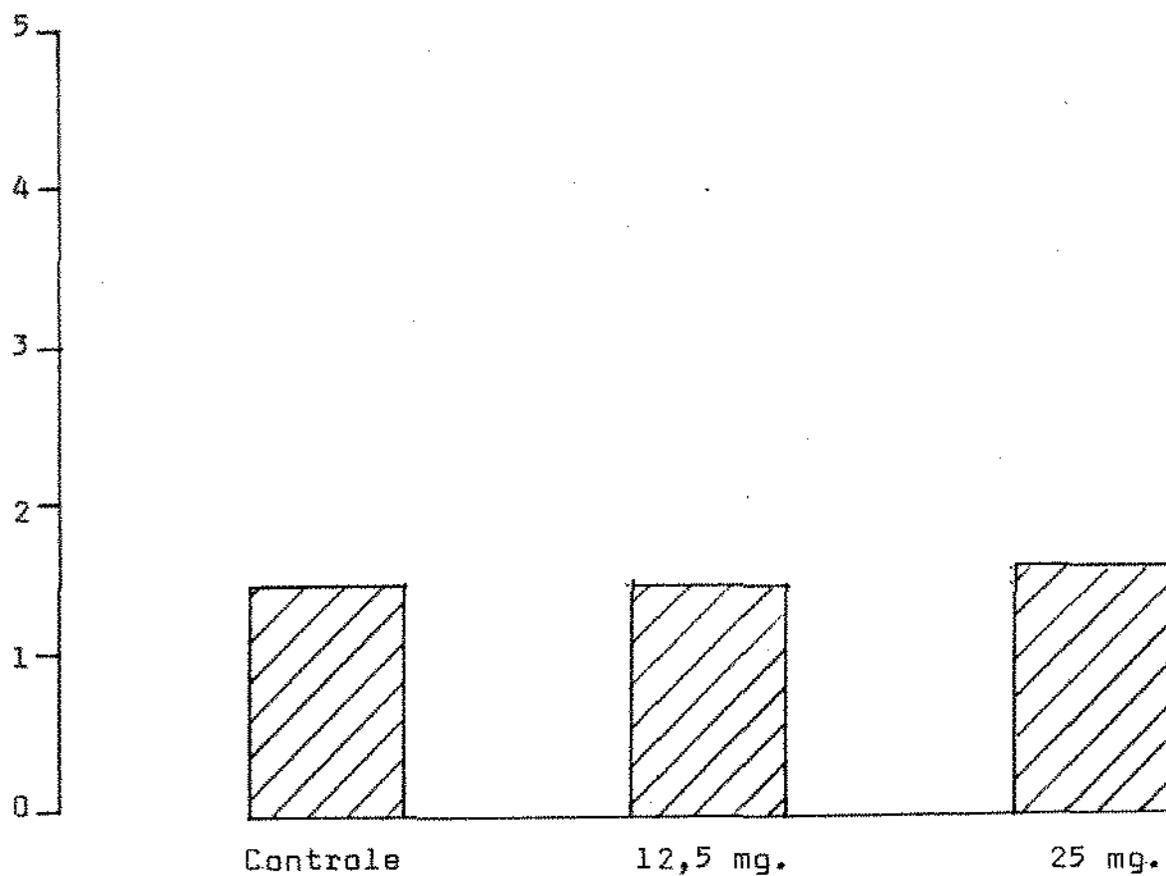
T A B E L A VII

VALORES ( EM GRAMAS ) OBTIDOS COM A PESAGEM DOS ANIMAIS, NO 1º, 4º, 7º e 10º DIA DE OBSERVAÇÃO, EM RATOS TRATADOS COM 25 mg/kg DE CICLOFOSFAMIDA.

ANIMAIS	D I A S D E P E S A G E M				MÉDIA
	1º	4º	7º	10º	
1	295	290	287	258	283
2	303	300	289	272	291
3	295	281	268	245	272
4	293	287	267	237	271
5	315	300	290	267	293
6	290	282	270	248	273
7	297	290	281	257	281
8	315	305	288	272	295
9	316	306	291	259	293
10	290	282	278	257	277
MÉDIA	301	292	281	258	283

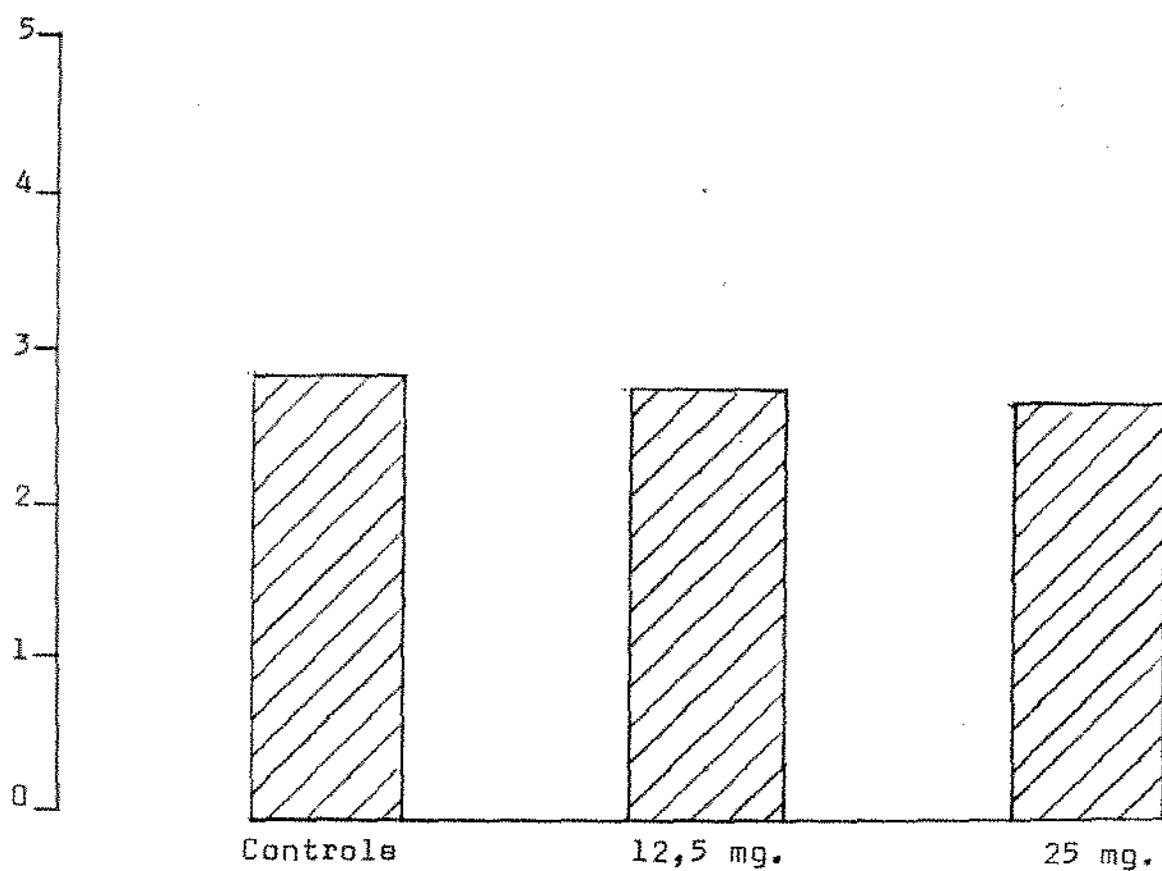
G R A F I C O I

MÉDIAS DO CRESCIMENTO DENTÁRIO DOS INCISIVOS INFERIORES DI  
REITO E ESQUERDO NO 4º DIA DE OBSERVAÇÃO.



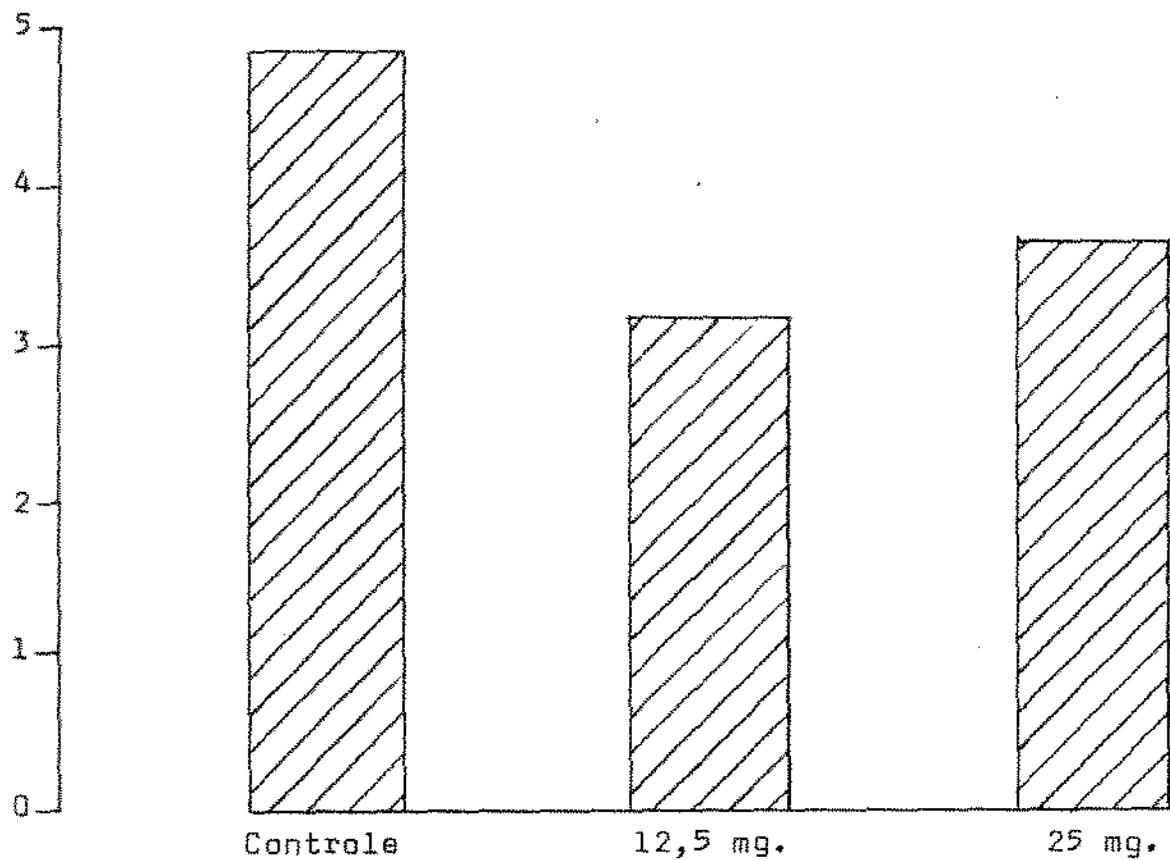
G R A F I C O II

MÉDIAS DO CRESCIMENTO DENTÁRIO DOS INCISIVOS INFERIORES DI REITO E ESQUERDO NO 7º DIA DE OBSERVAÇÃO.



G R A F I C O III

MÉDIAS DO CRESCIMENTO DENTÁRIO DOS INCISIVOS INFERIORES DI  
REITO E ESQUERDO NO 10º DIA DE OBSERVAÇÃO.



UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

F I G U R A I

FEITURA DA MARCAÇÃO BASE, COM MOTOR DE BAIXA ROTAÇÃO E DISCO METÁLICO.



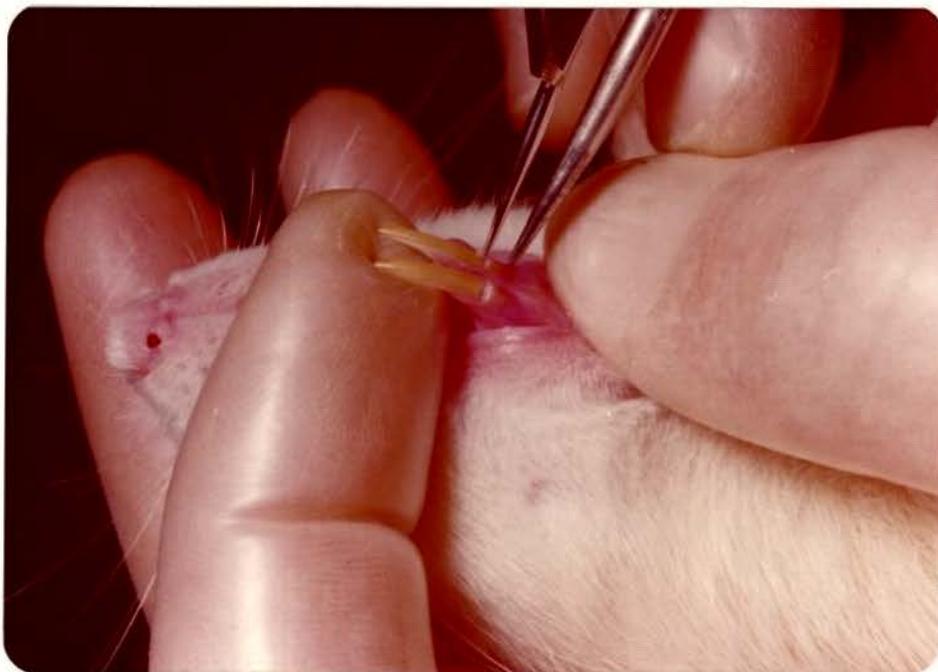
F I G U R A II

MARCAÇÃO BASE EXECUTADA



F I G U R A   I I I

TOMADA DA MEDIDA DE CRESCIMENTO SOBRE O DENTE, COM COMPASSO DE PONTA SECA.



F I G U R A   I V

LEITURA DA MEDIDA DO CRESCIMENTO, SOBRE O PAQUÍMETRO



## DISCUSSÃO

No grupo controle, o crescimento dentário foi si milar aos descritos na literatura, FARRIS (1971), e por isso, podem ser considerados válidos e dignos de confiança para se fazer a comparação com o crescimento dentário nos ani mais tratados com droga antimetabólica.

Como não foram observadas diferenças significantes de crescimento entre os dentes direito e esquerdo, os resul tados foram computados considerando o crescimento de cada dente. Por outro lado, o fato de conservarem o peso durante o tempo de experiência, revela que eram razoáveis as condi ções de manutenção e alimentação.

Tendo em vista os resultados obtidos, podemos con cluir que a ciclofosfamida inibiu o crescimento dos dentes incisivos inferiores do rato, sendo que este efeito exigiu um tempo de latência, evidenciando-se inibição entre o 7º e 10º dia de tratamento.

Paralelamente a esta inibição, encontramos alto grau de toxicidade do medicamento, pois no 10º dia de obser vação, os animais apresentavam-se bastante debilitados, com perda de peso, como se observa na Tabela VII, e também pro fundas alterações gerais, como perda de pelos, lesões dege nerativas nos olhos e nariz, fígado aumentado, perda de ape tite.

Como vemos, a ciclofosfamida age somente em doses com evidente toxicidade e depois de um período de latência de cerca de 10 dias.

O elevado grau de toxicidade, revelado pela acen tuada perda de peso e outros sintomas, ocorrendo progrssi vamente e mesmo antecedendo a inibição do crescimento dentário, revelam que a ação inibitória da ciclofosfamida sobre

os odontoblastos carece de especificidade e acompanha o quadro geral de inibição mitótica causada pelo farmaco. Tal inespecificidade de ação sobre o odontoblasto pode se constituir, talvez, em indicação de que a ciclofosfamida não seria eficaz em odontossarcomas.

Verificamos mesmo que os odontoblastos devem ser relativamente resistentes a ciclofosfamida, pois somente doses elevadas são eficazes. KOPPANG (1974) demonstra inibição total de reprodução dos odontoblastos em ratos tratados com dose de 150 mg/kg, altamente tóxica, que provocaram a morte da quase maioria dos animais. Ainda KOPPANG (1974) trabalhou com doses menores, de 50 mg/kg, onde afirma ter encontrado sinais de pequena inibição dos odontoblastos, verificando a presença de quantidade mínima de odontoblastos com mitose interrompida.

É de se acentuar que o método por nós utilizado, embora simples, mostrou-se útil e bastante sensível, pois podemos detectar os efeitos da ciclofosfamida no crescimento dentário em doses bastante inferiores às utilizadas por KOPPANG (1974).

Pelos nossos resultados e os de KOPPANG(1974), podemos concluir que a ciclofosfamida pode alterar a velocidade de crescimento dentário e a velocidade das mitoses nos odontoblastos.

## CONCLUSÕES

Em ratos tratados com doses diárias de 12,5 e 25 mg/kg i.p. de ciclofosfamida, ocorreu inibição acentuada do crescimento dos incisivos inferiores, significativa na mensuração feita no 10º dia de tratamento (24,5 a 31 por cento de inibição). Concomitantemente, os animais apresentaram diminuição progressiva de peso e evidentes sinais de toxicidade da ciclofosfamida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNOLD, H. & BOURSEAUX, F. Synthese und Abbau cytotostatisch wirksamer cyclischer N-Phosphamid-ester des Bis (-Chloräthy)-amins. Angew. Chem., 70: 539-44, 1958.
- BROOKES, P. & LAWLEY, P.D. The reaction of mono and defunctional alkylating agents with nucleic acids. Biochem.J., 80: 496-503, 1961.
- \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_ Alkylating agents. Br.med.Bull., 20: 91-5, 1964.
- \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_ Reaction of some mutagenic and carcinogenic compounds with nucleic acids. J.cell.comp. Physiol., 64: 111-28, 1964.
- DOUGHERTY, T.F. Lymphocytokaryorrhetic effects of adrenocortical steroids. In: REBUCK, J.W., ed. Lymphocyte and lymphocytic tissue. New York, Paul B. Hoeber, 1959. pg. 143-54.
- FARRIS, E.J. The rat in laboratory investigation, by a staff twenty-nine contributors, ed. by EDMOND J. FARRIS and JOHN Q. GREFFETH JR., New York, Hafner, 1971.
- FOKNER, C.E.; BURCHENAL, J.H.; FRIEDMAN, M.; GELLHON, A.; KARNOFSKY, D.A. Advances in the management of lymphomas. Bull. N.Y. Acad. Med., 37: 251-76, 1961.
- GILMAN, A. The initial clinical trial of nitrogen mustard. Am. J. Surg., 105: 575-8, 1963.
- \_\_\_\_\_ & PHILIPS, F.S. The biological actions and the therapeutic applications of the B-Chlorethylamines and sulfides. Science, New York, 103: 409-15, 1946.
- GOODMAN, L.S.; WINTROBE, M.M.; DAMESHEK, W.; GOODMAN, M.J.;

- GILMAN, A.; MCLENNAN, M. Nitrogen mustard therapy: use of methylbis (B-chlorethyl) amino hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. J. Am. med. Ass. , 132: 126-32, 1946.
- GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 4 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973.
- HALL, B.E.; WILLET, F.M.; HALES, D.R. Observations on the effects of alkylating agents in human neoplastic disease. Ann. intern. Med., 52: 602-25, 1960.
- HOOGSTRAATEN, B. et alii. Cyclophosphamide (Cytosan) in acute leukemia. Preliminary report: a study by the Acute Leukemia Cooperative Group B. Cancer Chemother Rep., 8: 120-35, 1960.
- KOPPANG, H.S. Histomorphologic investigations on the effect of cyclophosphamide on dentinogenesis of the rat incisor. Scand. J. dent. Res., 81: 383-96, 1973.
- \_\_\_\_\_ Autoradiographic investigations on the dentinogenesis of the rat incisor. Scand. J. dent. Res., 81: 397-405, 1973.
- KORST, D.R.; FRENKEL, E.P.; NIXON, J.C. Multiple myeloma: studies of mouse plasma cell tumor and human myeloma response to cyclophosphamide (Cytosan). Ann. intern. Med., 60: 217-30, 1964.
- KRUMBHAAR, E.B. & KRUMBHAAR, H.D. The blood and bone marrow in yellow cross gas (mustard gas) poisoning: changes produced in the bone marrow of fatal cases. J. Med. Res., 40: 497-507.
- LAWLEY, P.D. & BROOKES, P. Molecular mechanism of the cyto

- toxic action of difunctional alkylating agents and of resistance to this action. Nature, Lond, 206: 480-3, 1965.
- LINDSKOG, G.E. Apud GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. As bases farmacológicas de terapeutica. 4 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973. p. 1246.
- MONTGOMERY, J.A. The relation of anti-cancer activity to chemical structure. Cancer Res., 19: 447-63, 1959.
- MOQUIN, R.B. & DAMESHEK, W. Use of alkylating agents in neoplasm of the hematopoietic system. Tufts Folia Med., 9: 1-9, 1963.
- POCHOA, M. & HIRSCHBERG, E. Alkylating agents. In: SCHNITZER R.J. & HAWKING, F., eds. Experimental Chemotherapy. New York, Academic Press, 1967. p. 1-132.
- PHILIPS, F.S.; THIERSCH, J.B.; FERGUSON, F.C. Studies on the action of 4 aminopteroylglutamic mammals. Ann. N.Y. Acad. Sci., 52: 1349-59, 1950.
- ROSS, G.T.; GOLDSTEIN, D.P.; HERTZ, R.; LIPSETT, M.B.; ODELL, W.D. Sequential use of methotrexate and actinomycin D in the treatment of metastatic choriocarcinoma and related trophoblastic diseases in women. Am. J. Obstet. Gynec., 93: 223-9, 1965.
- ROSS, W.C.J. Biological Alkylating agents. London, Butterworth. 1962. 342 p.
- WARWICK, G.P. The mechanism of action of alkylating agents. Cancer Res., 23: 1315-33, 1963.
- WHEELER, G.P. Studies related to the mechanisms of action of cytotoxic alkylating agents. Cancer Res., 22: 651-88, 1962.
- \_\_\_\_\_ Some biochemical effects of alkylating agents. Fedn Proc. Fedn. Am. Socs. exp. Biol., 26: 885-92, 1967.