

MIRALVA APARECIDA DE JESUS SILVA

**DISTRIBUIÇÃO DAS FIBRAS DE SHARPEY NO ALVÉOLO DE
INCISIVO DE RATO EM CONDIÇÕES FUNCIONAIS, NORMAL E
ALTERADAS. ESTUDO MORFOMÉTRICO ULTRAESTRUTURAL**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do título de Doutor em Biologia e
Patologia Buco-Dental.

PIRACICABA
2002

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

MIRALVA APARECIDA DE JESUS SILVA

**DISTRIBUIÇÃO DAS FIBRAS DE SHARPEY NO ALVÉOLO DE
INCISIVO DE RATO EM CONDIÇÕES FUNCIONAIS, NORMAL E
ALTERADAS. ESTUDO MORFOMÉTRICO ULTRAESTRUTURAL**

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83
CPG 76 / 02 / 02
Assinatura do Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do título de Doutor em Biologia e
Patologia Buco-Dental.

Orientador: Prof. Dr. José Merzel

Banca Examinadora:

Prof. Dr. José Merzel
Prof^o Dr. Norair Salviano dos Reis
Prof^a Dr^a Maria Luiza Ozores Polacow
Prof^a Dr^a Silvana Pereira Barros
Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes

1541,05002

PIRACICABA
2002

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	UNICAMP
	Si38d
V	EX
TOMBO BC/	52055
PROC.	16-124103
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	12/02/03
Nº CPD	

CM00179062-3

BIB ID 278426

Ficha Catalográfica

Si38d Silva, Miralva Aparecida de Jesus.
 Distribuição das fibras de Sharpey no alvéolo de incisivo de rato em condições funcionais, normal e alteradas. Estudo morfométrico ultraestrutural. / Miralva Aparecida de Jesus Silva. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2002.
 xv, 44f. : il.

Orientador : Prof. Dr. José Merzel.
 Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Microscopia eletrônica de varredura. 2. Histologia dentária. I. Merzel, José. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 14 de Agosto de 2002, considerou a candidata MIRALVA APARECIDA DE JESUS SILVA aprovada.

1. Prof. Dr. JOSE MERZEL

2. Profa. Dra. MARIA LUIZA OZORES POLACOW

3. Prof. Dr. NORAIR SALVIANO DOS REIS

4. Prof. Dr. PEDRO DUARTE NOVAES

5. Profa. Dra. SILVANA PEREIRA BARROS

Ao meu querido pai **Fulgêncio**, *in memoriam*

pelo exemplo de sua existência,

com todo meu amor e muita saudade,

dedico este trabalho.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao **Professor Doutor José Merzel**, Professor Titular do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela competente e segura orientação e por toda a compreensão nos momentos difíceis que atravessei.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu primeiro professor de Histologia, **Doutor José César Gazi**, *in memoriam*, grande mestre, a quem devo meu ingresso na docência, minha eterna gratidão pelo seu exemplo de vida e pela ajuda desde a minha graduação, quando ao me aceitar como monitora e auxiliar do laboratório de Histologia sob sua chefia me possibilitou financeiramente completar o curso de Odontologia.

AGRADECIMENTO

À **Pontifícia Universidade Católica de Campinas**, na pessoa do Magnífico Reitor, **Padre José Benedito de Almeida David**, pelo estímulo à minha capacitação docente, na forma de uma bolsa de estudos, que possibilitou o desenvolvimento deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À minha querida **mãe Lydia**, ao meu querido **tio Humberto** e aos meus amados irmãos, **Armênio, Ênio, Ivanilda, Rosilda, Antonio Carlos e Fulgêncio** pela maneira amorosa de estarem presentes em minha vida, dividindo as tristezas e somando as alegrias.

Ao **Luiz** por compartilhar a vida comigo.

Ao **Professor Doutor Pedro Duarte Novaes**, Professor de Histologia e Embriologia do Departamento de Morfologia da Fop-Unicamp, querido amigo de todas as horas, por acompanhar todas as fases de execução deste trabalho, pelas sábias sugestões e pelo carinho a mim dispensado.

À **Professora Doutora Darcy de Oliveira Tosello**, Professora Histologia e Embriologia do Departamento de Morfologia e ex-Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental da Fop-Unicamp, pelo competente atendimento no decorrer deste trabalho e pela atenção e carinho com que me acolheu no curso.

À **Bióloga Eliene Aparecida Orsini Narvaes Romani**, Técnica do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Morfologia da Fop-Unicamp, querida amiga, pelo valioso e competente auxílio junto ao laboratório de microscopia eletrônica em varredura, pelos fins de semana de trabalhos extras a mim dedicados, pelo estímulo constante e pela amizade sincera que tanto prezo.

À querida amiga, **Maria Aparecida Santiago Varela**, Técnica do Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia da Fop-Unicamp, pela inestimável ajuda em todas as fases da realização deste trabalho, pelo incentivo permanente e pela contagiante alegria.

À **Professora Doutora Silvana Pereira Barros**, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Biologia Buco-Dental da Fop-Unicamp, pelo carinho a mim dispensado e pela presteza e segurança com que me orientou na fase de qualificação e de documentação da defesa.

AGRADECIMENTOS

Às minhas cunhadas **Gisele e Elaine Cristina** pela amizade e incentivo.

À amiga **Suzete Regina Tobias Neder** pelo carinho, disponibilidade e especial atenção junto à secretaria do Departamento de Morfologia da FOP/UNICAMP.

À querida amiga **Ivani Odas Demétrio** pelo exemplo de vida e pelo carinho a mim dedicado.

Ao **Professor Doutor Norair Salviano dos Reis**, especial amigo, por ter sido nos últimos 26 anos fonte de apoio e incentivo permanente à minha vida profissional e pessoal.

À **Professora Doutora Maria Luiza Ozores Polacow** pela carinhosa atenção e estímulo que me proporciona desde o mestrado.

À **Professora Doutora Selma Candelária Genari**, querida ex-aluna e hoje colega, pelo incentivo e carinho.

À **Doutora Gláucia M. Bovi Ambrosano** pela atenção e valiosa análise estatística.

Ao **Professor Doutor Sérgio R. P. Line**, Professor Titular de Histologia e Embriologia do Departamento de Morfologia da Fop-Unicamp, pelo incentivo permanente e pela atenção a mim dispensada.

Ao **Professor Doutor Luiz Maria Pinto**, Diretor do Centro de Ciências da Vida da PUC-Campinas, querido amigo, pelo incentivo e pela disponibilidade em assumir minha parte do trabalho do Centro na fase final da tese.

À querida amiga **Maria Claret Gavioli da Rocha** pelo apoio, boa vontade e persistente estímulo durante realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À querida amiga **Silvania Machado**, Bióloga do NAP/MEPA da ESALQ/USP, pelo carinho e grande ajuda no desenvolvimento da parte prática deste trabalho.

Ao querido **Doutor Lineu Correia Fonseca**, Professor da Faculdade de Medicina do Centro Ciências da Vida da PUC-Campinas, exemplo de Médico e de Professor, pela amizade, confiança e incentivo.

À querida amiga **Professora Doutora Glória M. A. S. Tedrus**, Diretora da Faculdade de Medicina do Centro Ciências da Vida da PUC-Campinas, pela amizade e grande ajuda em todos os momentos que necessitei.

À querida amiga **Professora Rosibeth Del Carmen M. Palm**, Diretora da Faculdade de Terapia Ocupacional do Centro Ciências da Vida da PUC-Campinas, pelo carinho e pelas sábias palavras proferidas nos momentos difíceis.

À querida amiga **Professora Doutora Maria Luiza Cruz**, Diretora da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Centro Ciências da Vida da PUC-Campinas, pelo carinho e pelo incentivo.

À querida Professora da minha graduação, **Doutora Elda Pisaneshi**, Diretora da Faculdade de Odontologia do Centro Ciências da Vida da PUC-Campinas, pelo exemplo, pelo carinho e pelo estímulo.

À Professora **Heloisa Amélia de Lima Castro**, Professora de Anatomia do Departamento de Morfologia da Fop-Unicamp, pelo carinho permanente.

À querida ex-aluna e hoje colega **Gláucia Bolzani** pela preciosa amizade e pelas incontáveis "caronas" entre Campinas e Piracicaba.

Ao Professor **Doutor José Roberto Ortale**, grande amigo, pelo carinho e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Ao querido Professor **José Norberto Barreto**, grande incentivador da minha capacitação, pelo estímulo diário e pelo carinho a mim dedicado.

Ao **Professor Doutor Romário de Araújo Mello**, querido amigo, pelo incentivo diário e pela disponibilidade em colaborar comigo permutando aulas durante o desenvolvimento dos créditos do doutorado.

Ao querido **Professor José Eduardo Diotto** pelo apoio em todos os momentos.

Ao **Professor Elliot W. Kitajima** por disponibilizar o laboratório de microscopia eletrônica do NAP/MEPA DA ESALQ/USP na fase inicial deste trabalho.

Ao querido amigo **Dr. Roberto Natalino Ricarte**, Professor de Anatomia da PUC-Campinas, pelo carinho, apoio e incentivo.

Ao **Professor José Francisco Bernardes Veiga Silva**, ex Vice-Reitor para Assuntos Administrativos da PUC-Campinas, pela confiança em mim depositada e pelo estímulo constante à capacitação docente.

Ao **Professor Nelson Eugênio Lauer**, querido ex-aluno e ex-Diretor do Instituto de Ciências Biológicas da PUC-Campinas, pela amizade e incentivo.

À querida amiga **Silvana Furlan** pelo carinho e disponibilidade em me ajudar na montagem dos gráficos.

À querida amiga **Mônica Machado Duarte**, mestranda do Curso de Pós-Graduação em Biologia Buco-Dental da Fop-Unicamp, pelo carinho e auxílio junto ao analisador de imagens.

À querida amiga **Silvana Paseto**, doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Biologia Buco-Dental da Fop-Unicamp, pela disponibilidade e pelo incentivo permanente.

AGRADECIMENTOS

Ao **Biólogo Ricardo Catalano**, querido amigo e ex-aluno, pela grande ajuda na fase de sacrifício dos animais.

Ao querido amigo **Luiz Carlos Furlan** pelo apoio, disponibilidade e grande incentivo na fase final deste trabalho.

À querida amiga **Maria Martins Pereira** pelo carinho e incentivo permanente.

À **Bióloga Elizabeth Martins da Silva**, querida amiga e ex-aluna, pelo carinho e incentivo.

Ao querido amigo **Gustavo Henrique da Silva** pelo carinho e estímulo.

Às queridas amigas **Edna Cassimiro** e **Kátia Maria F. Grillo Coelho** pelo carinho e incentivo permanente.

À querida amiga **Neusa Aparecida Soares**, Professora de Genética da Faculdade de Ciências Biológicas da PUC-Campinas, pelo carinho e atenção nos momentos em que estive doente.

Ao **Professor Doutor Marco César Somazz**, querido amigo, pelo incentivo e por apresentar-me ao Curso de Pós –Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental da Fop-Unicamp.

À **Professora Ana Lúcia Nicoletti da Rocha** pela atenciosa revisão de vernáculo.

Aos meus queridos alunos do curso de Medicina, **André Larrubia** e **Renata Razera**, pela amizade, carinho e incentivo.

À minha querida afilhada **Rosana** pelo carinho e interesse em me auxiliar na digitação.

AGRADECIMENTOS

Ao **Doutor Pedro Paulo Barros**, Professor da disciplina de Fisiologia do Centro de Ciências da Vida da PUC-Campinas, pelo permanente estímulo e especial amizade.

À **Doutora Maria José Moura**, Professora da disciplina de Fisiologia do Centro de Ciências da Vida da PUC-Campinas, pela sincera e fraterna amizade e por ceder as dependências do biotério de seu laboratório na fase experimental deste trabalho.

À **Doutora Marie Sumitani**, Professora da disciplina de Fisiologia do Centro de Ciências da Vida da PUC-Campinas, pelo carinho e pela grande ajuda ao assumir o trabalho burocrático junto à 1ª série do curso de Medicina neste ano.

Ao meu querido ex-aluno **Armando José Venturi Guilherme** pelo incentivo e auxílio no registro fotográfico das mandíbulas.

Ao meu querido aluno **Ricardo de Lima Navarro** pelo fornecimento do software e pelas orientações importantes sobre a utilização do Corel Draw 10.

Às Biólogas **Ângela C. Ito e Maria da Glória R. B. Bárbaro**, Monitoras de Histologia em 1998 e 1999, especiais amigas pela inestimável ajuda na fase inicial do meu doutorado.

Aos meus queridos ex- Alunos e Monitores, **Ivan Nicolau Falsetti, Luiz Rogério Heinzl, Carolina C. Machado, Kizzy Zambello, Daniela Santini, Juliana Ravanini, Danielle D. Pádua, Paulo Lázaro, Maisa Momesso de Quintal, Maria Fernanda Festa Morari, Mariana Schweller, Ana Paula e Francisco Cintra**, pelo carinho, ajuda e incentivo permanente.

Aos **meus queridos alunos da turma de Medicina de 1998** pelo carinho permanente e pelo grande incentivo na fase do desenvolvimento dos créditos.

À querida amiga **Reusi Inês** pelo carinho e incentivo permanente.

AGRADECIMENTOS

Ao querido ex-aluno **Roberto N. Basso** pela ajuda no trato dos animais.

Aos **meus queridos alunos da turma de Medicina de 2001** pelo carinho e pelo grande incentivo na fase final do trabalho.

Aos **meus queridos alunos da turma de Odontologia de 2001** pelo carinho e pelo interesse.

Aos **meus queridos alunos da turma de Odontologia de 2002** pelo carinho, pela paciência com a minha “correria” e pelo grande incentivo na fase final do trabalho.

Aos **meus queridos alunos da turma de Medicina de 2002** pelo carinho, pela compreensão nos momentos mais difíceis do 1º semestre e pelo grande incentivo.

Aos **meus queridos sobrinhos e afilhados** por serem minha fonte de inspiração.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental: **Simone, Paula, Paulinha, Raquelzinha e Ruy** pelo carinho e amizade.

Este trabalho foi desenvolvido parcialmente com os recursos dos auxílios à pesquisa concedidos pela FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO - FAPESP (proc. nº 96/07166-4 - Prof. Dr. José Merzel e 97/10727-0 - Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida).

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	4
INTRODUÇÃO.....	6
MATERIAL E MÉTODOS.....	14
RESULTADOS.....	18
DISCUSSÃO.....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

RESUMO

A distribuição das fibras de Sharpey no alvéolo de incisivos inferiores de rato, em diferentes condições funcionais, foi observada ao microscópio eletrônico de varredura, e sua densidade de área determinada pelo método de impacto de pontos.

Em 18 ratos machos adultos o incisivo inferior esquerdo foi seccionado à altura da papila gengival, a cada dois dias, durante 14 dias, mantendo-se o dente desimpedido de oclusão e, portanto, hipofuncional. O incisivo contralateral, por ocluir com os 2 incisivos superiores, é considerado hiperfuncional. Outros 18 ratos, com os incisivos inferiores mantidos em função normal, foram usados como controles normofuncionais.

No 14º dia os animais foram mortos, as hemimandíbulas removidas e os incisivos extraídos. Os ossos foram fixados em Karnovsky, macerados em hipoclorito de sódio para remoção de toda matéria orgânica, pós-fixados em ósmio e preparados (desidratação, secagem ao ponto crítico e metalização com ouro) para observação ao MEV de tal modo que, seis hemimandíbulas de cada grupo tiveram cada uma das três faces relacionadas ao ligamento periodontal – mesial, lingual e distal – expostas em todo o comprimento do alvéolo.

As observações foram feitas em 4 regiões de incisal para basal, correspondendo respectivamente: R1 - ao diastema entre o incisivo inferior e o 1º molar inferior; R2 – ao 1º molar inferior; R3 ao 2º molar inferior e R4 ao 3º molar inferior. Para determinar a densidade de área das inserções foram feitas 5

imagens aleatórias no aumento de 200X, de cada uma das regiões, em cada espécime. As imagens foram superpostas por um retículo, contados os pontos de impacto da malha com as inserções e calculadas as densidades de área. Os dados foram submetidos à análise de variância segundo delineamento e parcelas subdivididas.

As inserções das fibras de Sharpey formam saliências arredondadas ou ovaladas, circundadas por uma bainha mineralizada. Na região 1, nas 3 condições funcionais, as fibras agrupam-se em faixas de direção longitudinal (na face lingual) e inclinada ou transversal (nas faces mesial e distal). Nas regiões 2 a 4, em vez de faixas vemos ilhas de fibras que vão ficando menores e mais esparsas à medida que se aproximam do fundo do alvéolo. O diâmetro das fibras foi variável de 6 a 26 μm . A grande maioria mostrou-se mineralizada na periferia com centro de tamanho variável, não mineralizado. Poucas fibras, particularmente na região 1, apareceram totalmente mineralizadas.

A densidade de área das inserções mostrou: 1) uma significativa e gradual diminuição de R1 para R4 em todas as condições funcionais; 2) uma maior densidade nas faces mesial e distal quando comparadas à lingual; 3) uma diminuição acentuada da densidade, nas 3 faces do alvéolo de dentes na condição hipofuncional, particularmente nas regiões 1 e 2; 4) um discreto aumento da densidade na face mesial dos alvéolos de dentes hiperfuncionais nas regiões 3 e 4.

Estes resultados indicam: 1) um amadurecimento do ligamento, no sentido de sustentação do dente, da extremidade basal em direção à crista alveolar; 2) a influência de forças oclusais na quantidade de fibras de Sharpey e 3) que os dentes hipofuncionais têm sua extração facilitada devido à acentuada diminuição de fibras de Sharpey.

ABSTRACT

There is very little information on the distribution of Sharpey fibers in the socket of the rat incisor. The aim of this study was to determine the quantitative distribution of these fibers and the effects of short-term hypo and hyperfunction on the teeth, using scanning electron microscopy (SEM).

Eighteen adult male rats had their lower incisor cut at the level of the gingival papilla every second day, during 14 days. The unimpeded tooth is considered hypofunctional, while the impeded contralateral incisor is considered hyperfunctional. Other 18 rats, of the same gender and weight, with their incisors in normofunction were used as controls.

On day 14th, the rats were killed, the hemimandibles removed and the incisors extracted. The bones were fixed in Karnovsky and the incisor socket was dissected for exposure of one of the three faces related to the periodontal ligament – mesial, lingual and distal – as to have 6 specimens for each face per functional group. The specimens were rendered anorganic in sodium hypochlorite, post-fixed in osmium tetroxide and prepared (dehydrated in acetone, critical point dried, mounted in stubs and coated with gold) for SEM observation.

The observations were done in 4 regions of the socket related respectively to: R1 – the diastema between the incisor and the 1st MI; R2 – the 1st MI; R3 – the 2rd MI and R4 – the 3rd MI. The area density of Sharpey fibers insertions was determined by point counting using a square lattice test area in 5 random images for each region at the magnification of 200x.

In anorganic bone the Sharpey fibers appear as short, round or oval dome-shaped projections, surrounded by a mineralised sheath. In R1, in the three functional conditions, the fibers form long longitudinal strips in the lingual aspect, and oblique or transversal strips in the mesial and distal aspects. In R2 to R4 the insertion form islands which are gradually smaller in size and number as they get close to the basal end of the socket. The diameter of the fibers varied from 6 to 26 μm and the majority were mineralized at the periphery with an unmineralized core of variable size. A few fibers, mainly in region 1, were entirely mineralized.

The area density of the fibers has shown: 1) a gradual and significant decrease from the most incisal region (R1) towards the most basal one (R4); 2) the relative density of fibers at the mesial and distal faces was higher than at the lingual face; 3) a decrease in density in all faces of the socket of hypofunctional teeth, mainly in the regions R1 and R2; 4) a discrete increase in the density at the mesial face of the socket of hyperfunctional teeth.

These results indicate: 1) the periodontal ligament of the incisor, in the meaning of tooth support, matures from basal to incisal direction of the socket; 2) the amount of Sharpey fibers is influenced by axial forces and 3) the easiness to extract hypofunctional teeth can be explained by the decrease of Sharpey fibers in this condition.

INTRODUÇÃO

Kolliker, em 1867, foi o primeiro a usar o termo “fibras de Sharpey”, conferido em homenagem a William Sharpey (1802-1880), anatomista inglês, responsável pela introdução do microscópio e da histologia prática na educação médica, que em 1856 descreveu feixes de fibras do tecido conjuntivo penetrando na superfície óssea.

As fibras de Sharpey são encontradas em três localizações no organismo de vertebrados: sindesmoses, áreas de ligação entre músculo e osso (tendão, aponeurose ou periósteo) e ligamento periodontal (Jones e Boyde, 1974).

A maioria das fibras colágenas no ligamento periodontal está arranjada em feixes definidos e distintos denominados fibras principais do ligamento. Os feixes estão arranjados em grupos. Todas as fibras principais do ligamento periodontal estão embutidas por uma extremidade em cimento e por outra em osso alveolar.

O diâmetro das fibras de Sharpey, em incisivos de coelho, varia entre 10 e 20 μm (Sloan, 1978). Segundo Jones e Boyde (1974), em relação ao diâmetro médio das fibras de Sharpey na parede alveolar, existe similaridade entre várias espécies e localizações e descrevem fibras com um diâmetro médio de 7,15 μm em humanos e de 6,8 μm em molares de gambá. Kurihara e Enlow (1980a) reportam, no molar superior de rato, fibras com diâmetro entre 5 e 10 μm , constituídas de fibrilas com diâmetro de 55 a 70 nm que apresentam estriação

periódica de 64 nm. Martinez e Johnson (1987), estudando molares de ratos, mostram fibras de Sharpey com diâmetros variando entre 7,81 e 16,24 μm .

No cemento acelular as fibras de Sharpey são totalmente mineralizadas (Selvig, 1965), enquanto no cemento celular e no osso alveolar são geralmente parcialmente mineralizadas (Johnson, 1983). As fibras de Sharpey inseridas no osso alveolar mostram diversos graus de mineralização sendo a periferia das fibras mineralizada e a parte central, de composição indeterminada, não mineralizada (Selvig, 1965; Boyde e Jones, 1968).

Shackleford, em 1973, demonstrou que os espaços ou centros não mineralizados observados nas fibras de Sharpey, em microscopia eletrônica de varredura, são criados pela técnica pois em microscopia eletrônica de transmissão os espaços são preenchidos por fibras colágenas não mineralizadas, observações que, em parte, estão de acordo com Kuroiwa *et al* (1994), que em osso alveolar de molares superiores e inferiores de ratos, descrevem a presença de áreas eletrondensas nas fibras de Sharpey e inferem que são compostas por colágeno não mineralizado na fibra ou por um componente afibrilar, de composição desconhecida. Johnson e Low (1982), num estudo em microscopia eletrônica de alta voltagem em osso alveolar descalcificado, questionam a interpretação de Shackleford (1973) e descrevem que glicosaminoglicanas podem estar ocupando a porção central das fibras de Sharpey. A referida porção central não mineralizada fornece flexibilidade às fibras de Sharpey, absorvendo e dissipando as forças produzidas durante a oclusão (Shackleford, 1973).

Tung *et al* (1985), usando imunohistoquímica para localização de colágeno tipo I e III em molares erupcionados e não erupcionados de porcos, sugerem que a parte central das fibras de Sharpey seja constituída de colágeno tipo I envolvido por bainha de colágeno tipo III, que previne a mineralização desta porção. Estes achados estão de acordo com Wang *et al* (1980), que utilizando imunohistoquímica para localização de colágeno tipo III em molares de porcos, descrevem a parte central das fibras de Sharpey formada de fibrilas de colágeno tipo I envolvidas por uma camada de colágeno tipo III, tanto no osso alveolar como no cimento; descrevem ainda que o colágeno tipo III pode aparecer como envoltório ou constituindo uma fibrila inteira.

Circundando as fibras de Sharpey, Selvig em 1965 descreve uma bainha envoltória de fibrilas colágenas altamente mineralizadas quando comparadas com as fibras intrínsecas da matriz óssea. Em espécimes desmineralizados as bainhas apresentam maior densidade de colágeno que as fibras intrínsecas da matriz óssea e menor densidade em relação às fibras de Sharpey (Johnson e Low, 1982).

Kuroiwa *et al* (1994) descrevem que as fibras de Sharpey têm uma direção aproximadamente perpendicular aos feixes de fibras intrínsecas da matriz óssea, e estes últimos estão arrançados de maneira a circundar as fibras de Sharpey, que por sua vez penetram no tecido ósseo de forma retilínea ou sofrem ramificação na intimidade óssea, permitindo resistência às forças de tensão.

Jones e Boyde (1972) mostram, em dentes humanos, que parte das fibras de Sharpey inserem-se obliquamente na superfície do cimento,

apresentando a porção central côncava com superfície plana e a periferia saliente ou elevada em relação à superfície do cimento. Descrevem também que os minerais se associam às fibrilas individualmente e que a mineralização ocorre ao longo da fibrila facilitando a resistência às forças axiais.

Os movimentos fisiológicos do dente requerem uma extensiva remodelação óssea para a manutenção do osso alveolar da mandíbula e da maxila. Associada à reconstrução alveolar está a remodelação das fibras do ligamento e sua ligação com o osso alveolar. Áreas de reabsorção e áreas de deposição óssea sobre áreas previamente reabsorvidas são observadas na superfície óssea (Johnson, 1987).

A ligação dos dentes no alvéolo envolve progressivamente a incorporação das fibras do ligamento no osso alveolar como fibras de Sharpey (Kurihara e Enlow, 1980a). Nas superfícies de reabsorção, entretanto, os detalhes do mecanismo de re-ligações sucessivas não estão totalmente esclarecidos, assim como a fixação do osso novo sobre a superfície reabsorvida de osso velho na área de reversão (constituída por aposição óssea sobre área previamente reabsorvida) que limita os dois tipos de tecido ósseo (Johnson, 1983).

Johnson (1987), usando microscopia eletrônica de alta voltagem, também descreve a mineralização parcial das fibras colágenas no septo interdental de camundongos e identifica 4 tipos de fibras inserindo-se no osso alveolar: 1) fibras rígidas: estão presentes somente no osso velho e terminam na linha de reversão; 2) fibras arborizadas: estão presentes apenas no osso novo; 3) fibras adesivas: estão localizadas no osso novo e terminam na linha de reversão,

em uma banda de material granular composto de glicosaminoglicanas e 4) fibras contínuas: aquelas que tem componentes no osso novo e no osso velho, conectados entre si, na área de reversão, através de fibrilas não estriadas. Estas fibras contínuas eventualmente atravessam o septo interalveolar e, portanto, podem ser transalveolares.

Kurihara e Enlow (1980b) descrevem três tipos de conexão entre o ligamento periodontal e as superfícies ósseas durante a remodelação provocada pelos movimentos fisiológicos do dente: 1) ligação tipo I (contínua) ocorre nas superfícies de reabsorção e de deposição óssea, de modo ininterrupto; 2) ligação tipo II (intermediária) onde a ligação das fibras colágenas ocorre apenas nas superfícies de reabsorção e 3) ligação tipo III (adesiva) que, segundo estes autores, constitui o principal tipo de conexão, pois através desta ligação as fibras de Sharpey se inserem tanto nas superfícies de reabsorção como naquelas onde ocorre deposição óssea após reabsorção, à semelhança das fibras tipo 4 ou contínuas, descritas por Johnson (1987). Nas ligações adesivas, Kurihara e Enlow (1980b) descrevem que duas camadas ou zonas possibilitam a adesão das fibras do ligamento periodontal à superfície óssea onde a ancoragem foi destruída pelo processo reabsortivo: uma zona clara ou “espaço” constituída por uma rede de material granular, amorfo e eletrondenso e outra zona onde as fibrilas colágenas são contínuas com o estroma fibroso remanescente do ligamento periodontal, porém apresentam-se rompidas e sem estriação.

Garant e Cho (1979), em estudo radioautográfico em camundongos, descrevem que a embebição das fibras periodontais ocorre, coincidentemente,

com a formação das fibras intrínsecas do osso alveolar, e que a deposição óssea ocorre na velocidade de aproximadamente $10\mu/\text{dia}$. Segundo os mesmos autores não foi possível determinar se uma nova fibra de Sharpey é inteiramente depositada ou se novas fibrilas são incorporadas às existentes.

No desenvolvimento do ligamento periodontal, em dentes de crescimento e erupção limitada, as primeiras fibras de Sharpey formam-se no cemento enquanto as fibras na superfície óssea aparecem numa etapa posterior. Do cemento e da parede alveolar as fibras se estendem para a região central do tecido periodontal até se unirem possivelmente de acordo com o descrito por Kurahara e Enlow (1980b). O processo inicia-se próximo à crista alveolar e se estende para apical à medida que a raiz é formada. Gradualmente as fibras principais do ligamento são organizadas, porém sua caracterização típica só aparece quando o dente entra em função (Grant e Bernick, 1972; Moxham e Grant, 1995). Desenvolvimento semelhante foi descrito por Eccles (1964) no incisivo de rato a partir do 1º dia após o nascimento e em molares de rato.

Nos dentes de crescimento e erupção contínua, embora o aspecto das fibras de Sharpey, tanto no cemento como no osso alveolar, seja semelhante àquele observado nos dentes de crescimento e erupção limitada, as fibras colágenas no ligamento não se organizam em feixes, mas sim em lâminas interconectadas e dispostas paralelamente ao longo eixo do dente (Sloan, 1978; Carter e Sloan, 1994). Outra diferença é que a quantidade de fibras de Sharpey no

alvéolo de incisivos de ratos e coelhos é muito maior no terço incisal do que no restante, onde aparecem em grupos formando “ilhas” (Sloan, 1981).

O ligamento periodontal já foi considerado como o responsável pela erupção dental, particularmente em dentes de erupção contínua, (Moxham e Berkovitz, 1995), papel que está reservado somente ao folículo dental associado ao órgão do esmalte (Marks *et al*, 1988; Gorski e Marks, 1992; Merzel *et al*, 2000 a e b). Porém, sua função na sustentação do dente é indiscutível, tanto que para a extração do dente é preciso que o ligamento seja rompido.

O ligamento apresenta alterações quando as forças de oclusão são alteradas. As mais evidentes ocorrem quando o dente é mantido em hipofunção – o que nos incisivos de roedores é feito por remoção periódica da coroa clínica à altura da papila gengival, desimpedindo o dente da oclusão – tais como o aumento de proteínas não colágenas (Van den Bos e Tonino, 1984) e glicosaminoglicanas (Kirkham *et al*, 1993).

Em alvéolos de molares de rato, na região próxima à crista alveolar, foram descritas significativas alterações no número e no grau de mineralização das fibras de Sharpey em condições hipo, hiper e não funcionais dos dentes (Short e Johnson, 1990). Também no cimento de molares de rato sem antagonistas, o número de fibras de Sharpey apresenta-se bastante reduzido (Akiyoshi e Inoue, 1963).

As observações de Sloan (1981) estão limitadas ao anteriormente relatado, pois se trata de um resumo e não encontramos nenhuma descrição quantitativa das fibras de Sharpey em dentes de erupção e crescimento contínuo

onde o órgão odontogênico está constantemente repondo as estruturas dentais e paradentais para compensar o desgaste incisal da coroa clínica. Assim, e ainda, baseados nas observações de Short e Johnson (1990), mencionadas no parágrafo anterior, objetivamos neste estudo determinar, utilizando a microscopia eletrônica de varredura, as densidades de área de inserção das fibras de Sharpey ao longo dos alvéolos de incisivos inferiores de ratos mantidos em diferentes condições funcionais de oclusão.

MATERIAL E MÉTODOS

Trinta e seis ratos Wistar, machos, pesando no início do experimento em média 220 gramas, recebendo água e alimentação sólida *ad libitum*, foram divididos em dois grupos de 18 animais cada. Os animais do primeiro grupo tiveram o incisivo inferior esquerdo seccionado à altura da papila interdental, a cada dois dias, permitindo que o dente erupcionasse de modo desimpedido, portanto em condição hipofuncional. O incisivo inferior direito permaneceu em oclusão ou impedido e em condição hiperfuncional devido ao atrito deste dente com os dois incisivos superiores. O segundo grupo serviu de controle com seus incisivos impedidos, mas em condições normofuncionais de oclusão.

No 14º dia, a partir do início do corte dos incisivos, os animais dos grupos experimental e controle foram mortos sob anestesia com hidrato de cloral a 10% (0,4ml/100g de peso). As mandíbulas foram removidas, divididas em hemimandíbulas, os incisivos extraídos e imersas no fixador de Karnovsky (Karnovsky, 1965) por 4 horas. A seguir as hemimandíbulas foram dissecadas, com um pequeno osteótomo, para exposição das faces do alvéolo do incisivo relacionadas ao ligamento periodontal: lingual, mesial e distal. Para cada condição funcional - normo, hipo e hiperfuncional - foram dissecadas 6 hemimandíbulas para cada face, totalizando 18 hemimandíbulas por condição funcional.

Expostas as faces de estudo, as peças foram maceradas em hipoclorito de sódio durante 2 horas (Boyde e Hobdell, 1969), lavadas em tampão cacodilato

0,05M pH 7,2 e pós-fixadas em solução de tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato 0,05M pH 7,2 durante 1 hora em temperatura ambiente. Seguiu-se a desidratação com acetona em concentrações crescentes e a secagem ao ponto crítico, usando CO₂ líquido (CPD 0lkkkkk~[50 Balzers, Liechtenstein). Após a secagem as hemimandíbulas foram montadas em porta-espécimes (*stubs*) e levadas ao metalizador (Sputter Coater MED 010, Balzers, Liechtenstein) por 120 segundos para uma cobertura de ouro de, aproximadamente, 10 nanômetros sobre as faces expostas do alvéolo (figura 1).

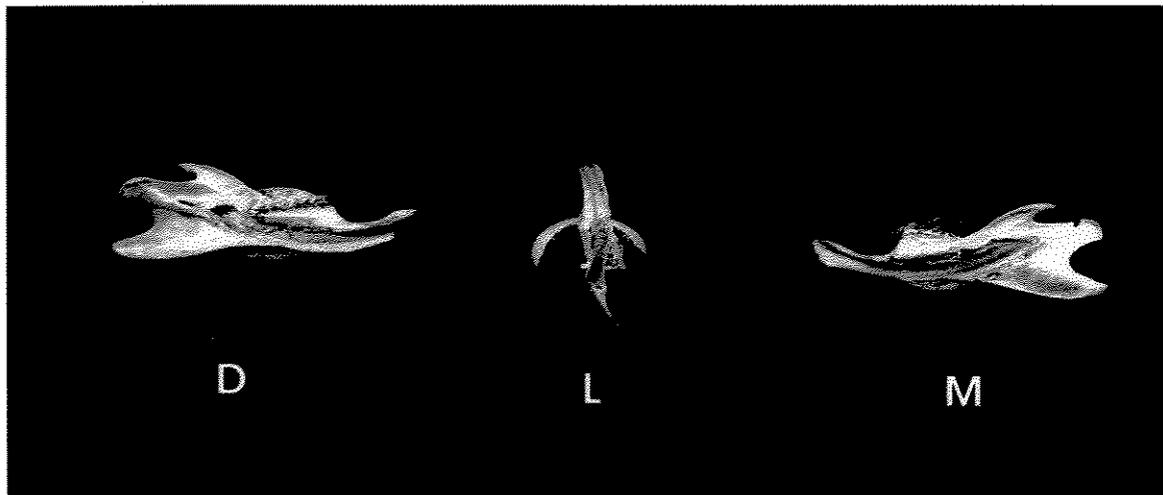


Fig. 1- Fotografia de 3 hemimandíbulas dissecadas e metalizadas mostrando as faces distal (D), lingual (L) e mesial (M) do alvéolo do incisivo. (1,5 X).

As hemimandíbulas foram observadas nos microscópios eletrônicos de varredura DSM940A da Zeiss (Germany) e JSM-5600 LV da JEOL (Tokyo, Japan), operando em uma aceleração de 10 kV. As superfícies ósseas foram observadas em aumentos variados. Para análise quantitativa foram obtidas, de maneira aleatória, 5 imagens no aumento de 200X de cada uma das quatro regiões (R1,

R2, R3 e R4) de cada face dissecada, conforme mostra a figura 2.

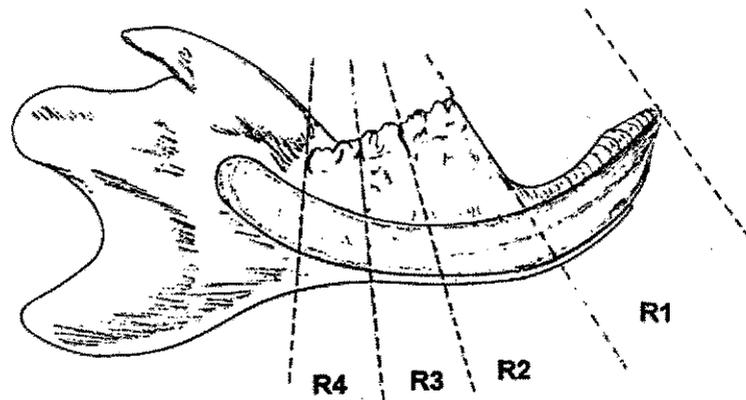


Fig. 2 - Esquema mostrando os limites das 4 regiões (R1, R2, R3 e R4) estudadas do alvéolo do incisivo inferior de rato.

Análise Morfométrica

As densidades de áreas (Aa) das inserções de fibras de Sharpey foram determinadas através do método de impacto de pontos (Weibel, 1966), usando-se o sistema Kontron KS400-2.0 (Kontron Elektronik GmbH, Germany). Cada imagem foi superposta por um sistema teste na forma de um retículo de 48 pontos onde cada ponto equivalia a 0,004748 mm² (figura 3).

A densidade de área (Aa) das inserções de fibras de Sharpey por região foi calculada pela fórmula:

$$Aa = \frac{P}{5 \times 48} \times 0,004748 \text{ mm}^2 / \text{mm}^2$$

onde **p** = número de pontos de impacto com as inserções das fibras de Sharpey em 5 áreas de cada região por face.

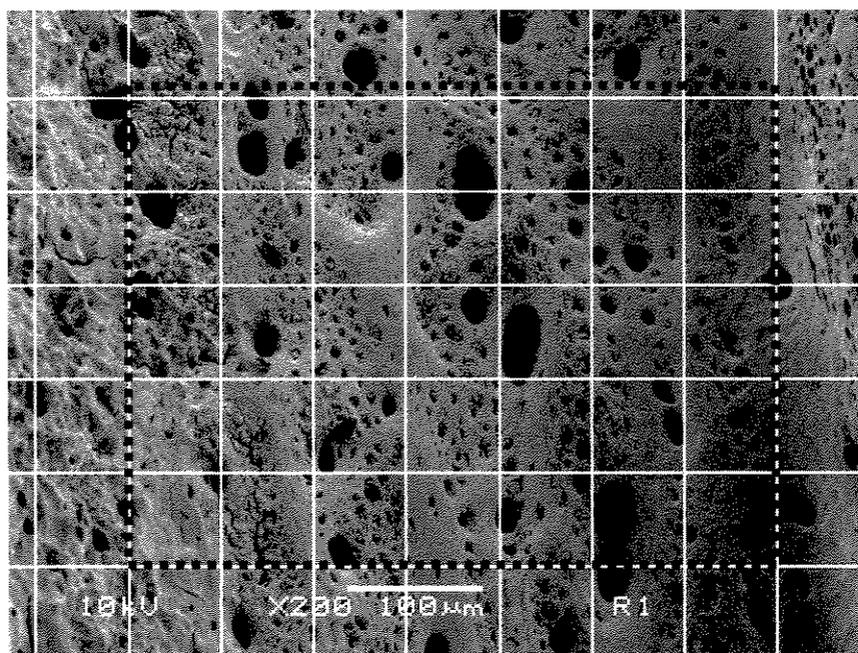


Fig. 3 - Micrografia eletrônica de varredura do alvéolo do incisivo inferior de rato com o retículo utilizado nas análises morfológicas. A área dos 48 pontos quantificados está delimitada pela linha pontilhada.

Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância, usando o sistema SAS, segundo delineamento de parcelas subdivididas com as seguintes parcelas em estudo: estado funcional, faces e regiões.

A comparação das médias das interações foi feita através do teste t, usando o sistema SANEST, aplicado às médias ajustadas por mínimos quadrados, elegendo-se "a priori" o nível de significância de 5% para rejeição da hipótese de nulidade.

RESULTADOS

Pelo método que empregamos – remoção da parte orgânica deixando nua a superfície óssea - observamos que as inserções das fibras de Sharpey se projetam da superfície óssea como elevações ou saliências, arredondadas ou ovaladas, apresentando a periferia mineralizada e a porção central de conteúdo orgânico (fig. 4A) ou inteiramente mineralizadas (fig. 4B). Envolvendo as fibras observamos bainhas envoltórias calcificadas (fig. 4A e 4B).

O diâmetro das fibras variou entre 6 e 26 μm , porém não foram feitas medidas sistemáticas. Aparentemente os maiores diâmetros foram observados nas regiões 1 e 2 e também a frequência de fibras inteiramente mineralizadas foi maior nas regiões mais incisais.

As fibras de Sharpey são encontradas em três das quatro faces do alvéolo do incisivo inferior de rato. Na face labial ou vestibular não há inserção de fibras colágenas no osso (fig. 5).

Na região 1 da face lingual do alvéolo dos incisivos, as fibras de Sharpey apresentaram uma disposição em faixas paralelas ao longo do eixo do alvéolo, enquanto nas faces mesial e distal, estas faixas têm esta orientação bem próximo à crista alveolar, tornando-se, gradualmente, inclinadas, adquirindo uma orientação transversal ao longo eixo do alvéolo (fig. 6). Estas faixas alternam-se com áreas livres de inserção (fig. 7). Nas demais regiões ao longo do alvéolo o padrão de inserção foi na forma de ilhas de fibras que tendem a ficar menores e mais esparsas em direção basal (fig. 8).

Legenda da figura 4:

A - Micrografia eletrônica de varredura da região 2 da face lingual do alvéolo de incisivo inferior de rato, mostrando inserções de fibras de Sharpey parcialmente mineralizadas, que apresentam a periferia mineralizada (seta menor) e a área central não mineralizada (cabeça de seta). A seta maior indica bainha mineralizada circundando uma fibra de Sharpey.

B - Micrografia eletrônica de varredura da região 2 da face mesial do alvéolo de incisivo inferior de rato, mostrando área de inserção de fibras de Sharpey totalmente mineralizadas (setas) e bainhas envolvendo fibras (cabeças de setas).

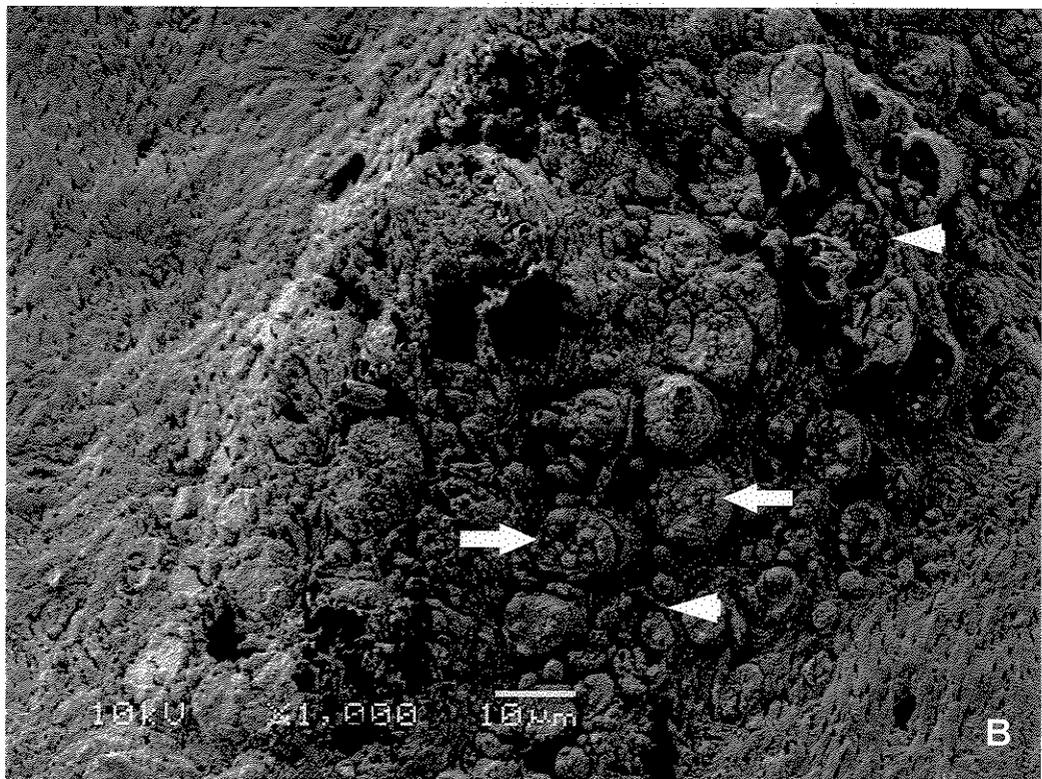
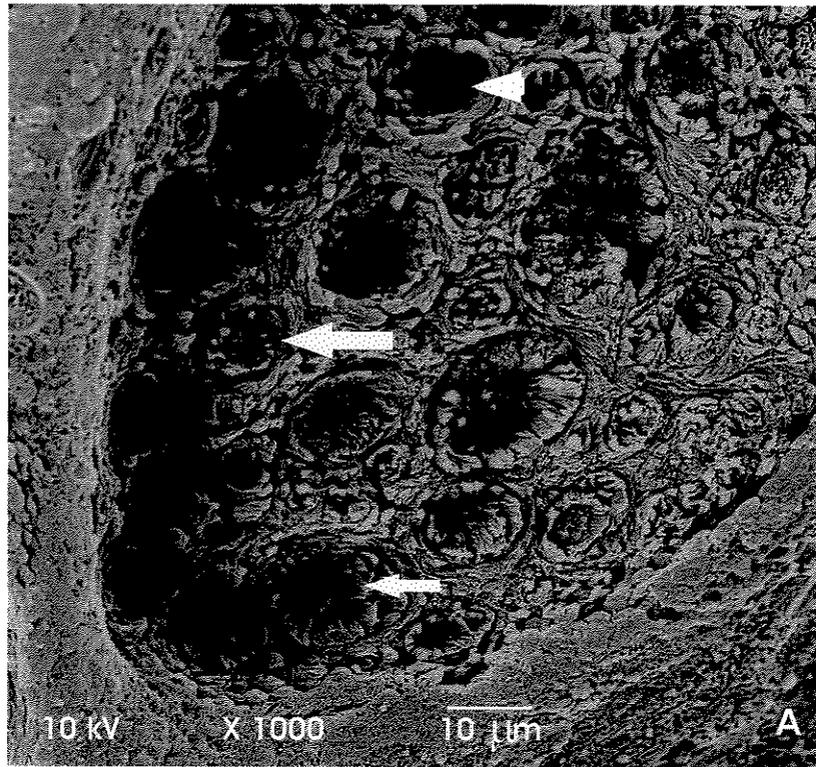


Fig. 4

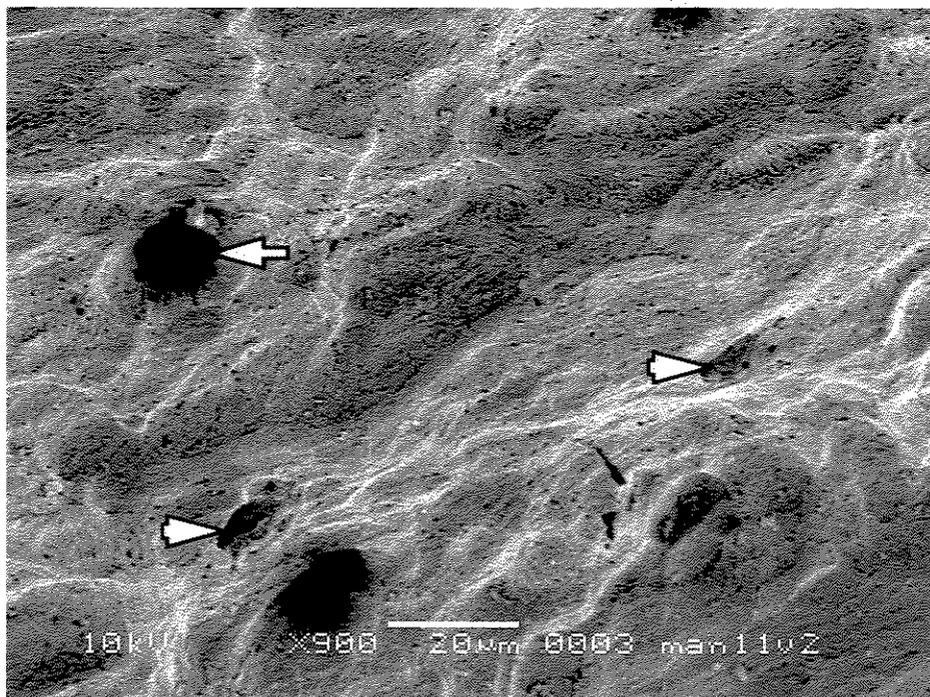
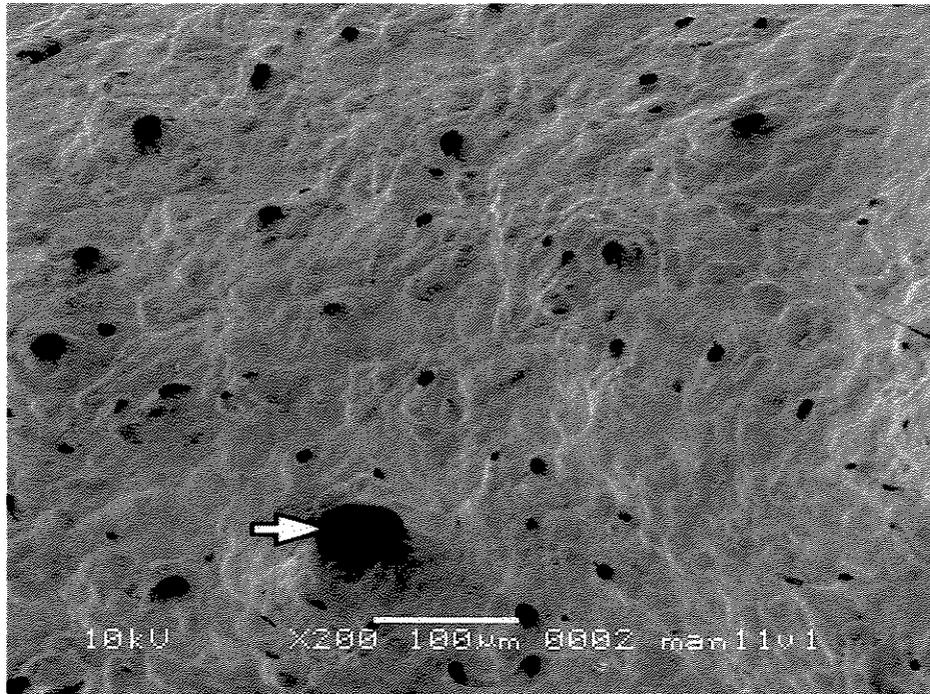


Fig. 5 - Micrografias eletrônicas de varredura da região 1 da face labial do alvéolo de incisivo inferior de rato, mostrando superfície óssea lisa desprovida de inserções de fibras de Sharpey. Setas indicam forames e cabeças de seta indicam lacunas rasas de reabsorção óssea.

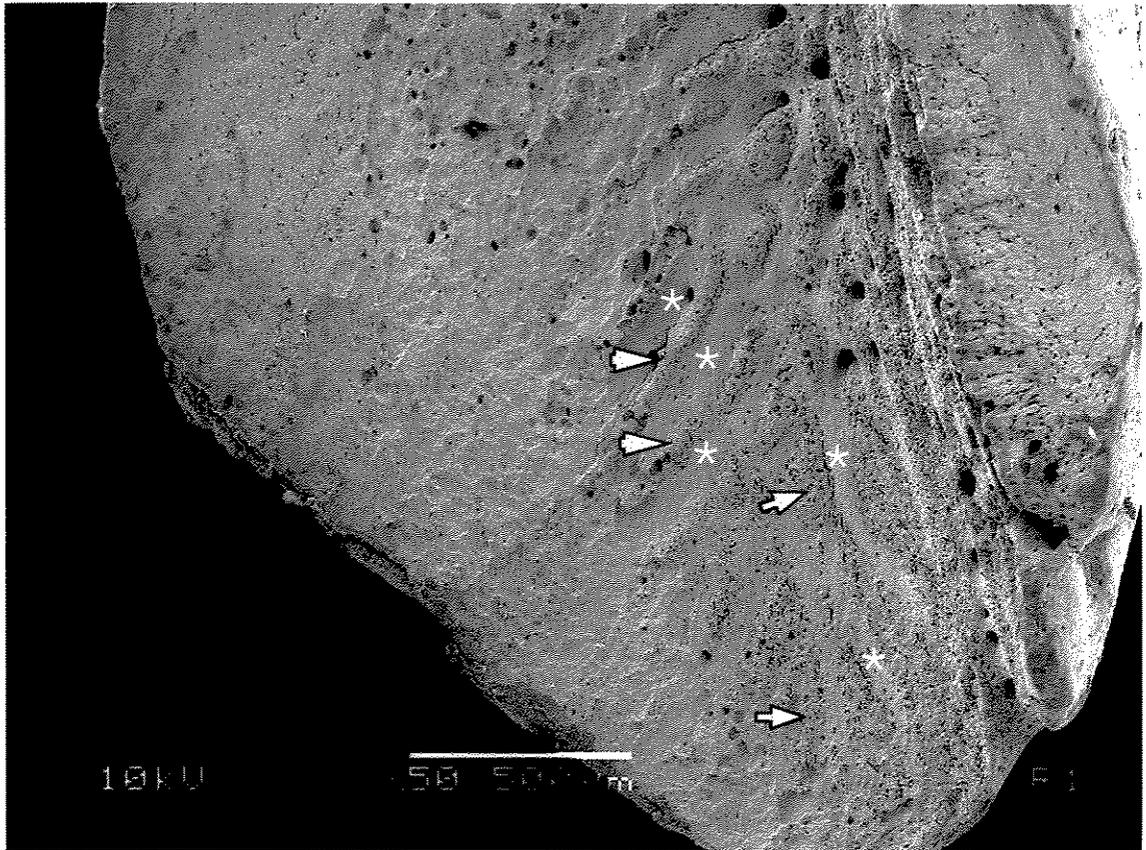


Fig. 6 - Micrografia eletrônica de varredura da região 1 da face mesial do alvéolo de incisivo inferior de rato mostrando as inserções de fibras de Sharpey em faixas paralelas alternadas com faixas desprovidas de inserções (*), dispostas no sentido longitudinal, na região mais incisal (setas) e, gradativamente inclinadas, quase transversais ao longo eixo do alvéolo (cabeças de setas).

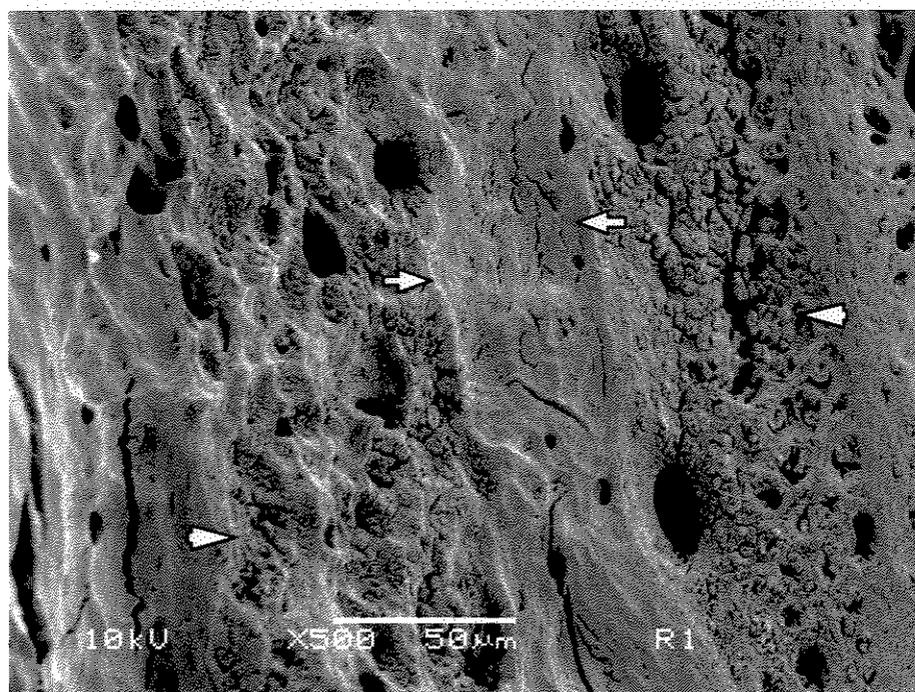
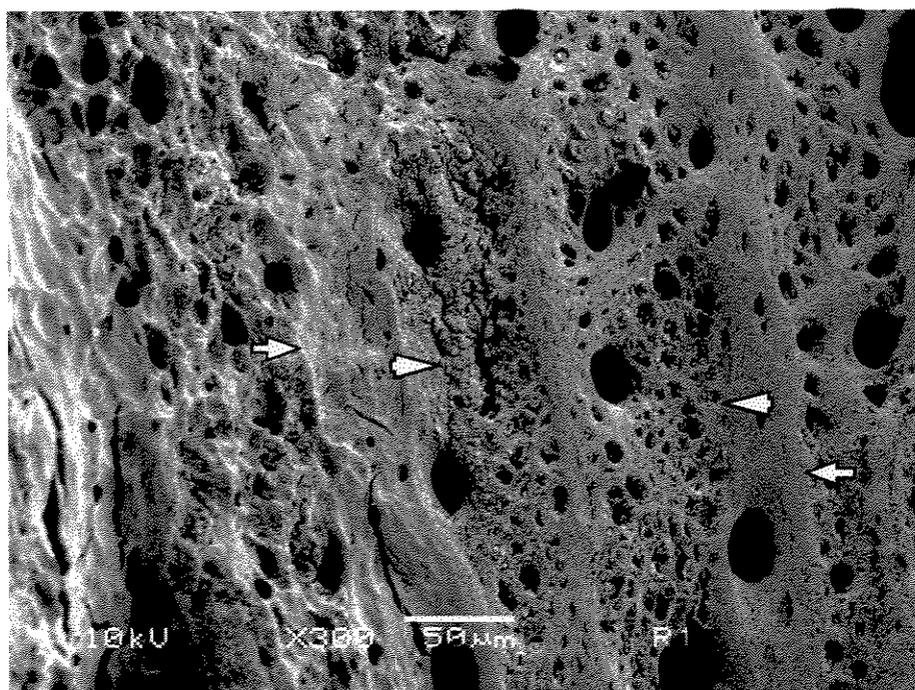


Fig. 7 - Micrografias eletrônicas de varredura da região 1 da face mesial do alvéolo de incisivo inferior de rato, mostrando as inserções das fibras de Sharpey em faixas (cabeças de setas) alternadas por áreas desprovidas de inserções (setas).

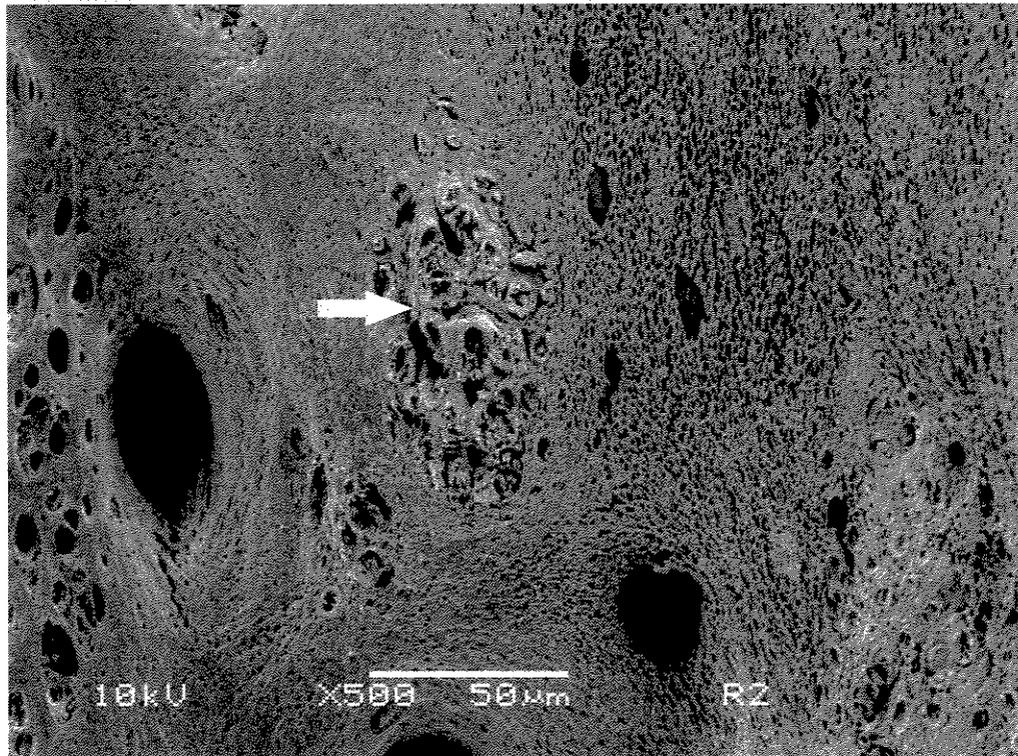
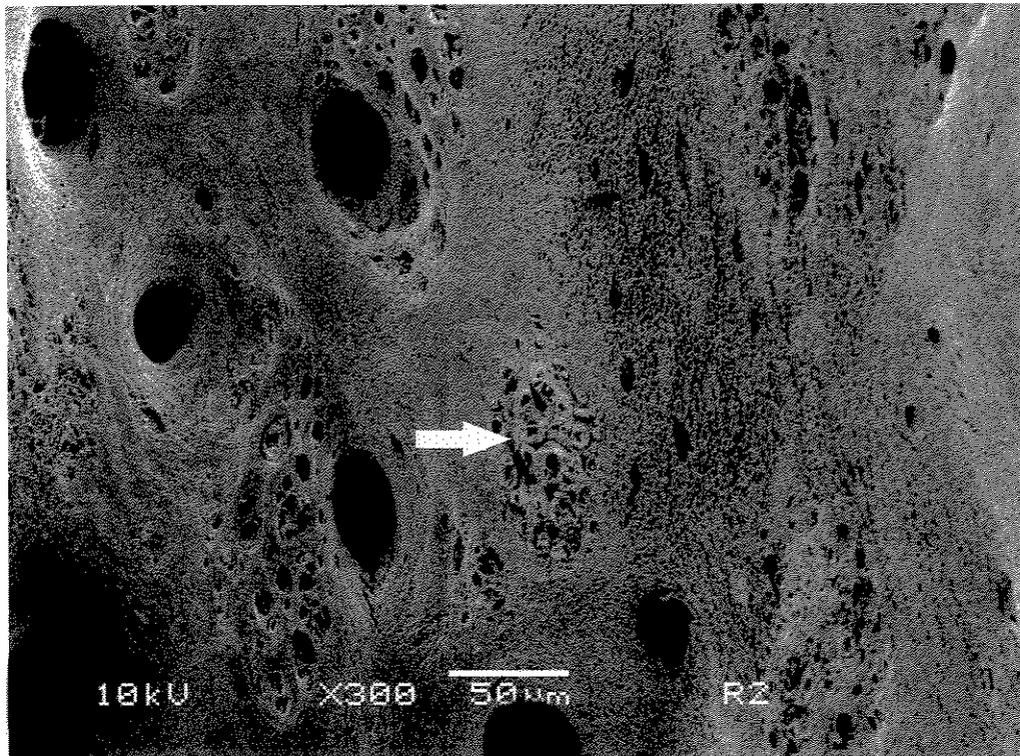


Fig. 8 - Micrografias eletrônicas de varredura da região 2 da face mesial do alvéolo de incisivo inferior de rato, mostrando inserções de fibras de Sharpey formando ilhas na superfície óssea (setas).

Áreas de reabsorção foram observadas principalmente na região 1 das três faces em todas as condições funcionais estudadas (figura 9).

A tabela 1 mostra as densidades de área (Aa) médias das inserções de fibras de Sharpey no alvéolo do incisivo inferior de rato nas diferentes regiões das três faces e nas condições funcionais estudadas.

Nas três condições funcionais as maiores densidades de área de inserção de fibras foram observadas na região 1 das três faces com significativa diminuição de incisal para basal (da região 1 para a 4) como mostram os gráficos da figura 10 e a figura 13.

Entre as diferentes faces do alvéolo relacionadas ao ligamento periodontal (fig.11) a face lingual apresentou densidade de inserções menor do que as faces mesial e distal na região 1 nas três condições funcionais. Nesta região nas condições normo e hiperfuncional, não houve diferença entre as faces mesial e distal, enquanto na condição hipofuncional a densidade na mesial foi maior que na distal (fig.11-C). Na região 2, nas condições normo e hiperfuncionais, a diferença de densidade entre as faces foi semelhante a observada na região 1, enquanto na condição hipofuncional a densidade na face mesial foi maior que na lingual e, nesta, maior que na distal. Na região 3, na condição normofuncional, houve diferença discreta de densidade de inserções da mesial para a distal e, desta para a lingual. Na região 4 não houve diferença significativa de densidades entre faces na condição normofuncional; na condição hiperfuncional, a densidade de inserções na face lingual só foi menor que na face mesial e, na condição hipofuncional, a densidade na face lingual foi maior que nas outras duas.

Entre condições funcionais as densidades de inserções de fibras nos alvéolos de dentes hipofuncionais, nas três faces das regiões 1 e 2, foram significativamente menores (Fig.12 e 14), não havendo diferenças entre as condições normo e hiperfuncionais. Na região 3, nas faces mesial e distal, a densidade de inserções foi decrescente da condição hiperfuncional para a normofuncional e desta para a hipofuncional, enquanto na face lingual a densidade, na condição hipofuncional, só foi menor que a hiperfuncional. Na região 4 não houve diferença de densidades entre as condições funcionais na face lingual; enquanto nas faces mesial e distal a densidade foi decrescente à semelhança do descrito para a região 3.

Parte destas diferenças de densidade de área de inserções de fibras de Sharpey nas paredes do alvéolo do incisivo de rato estão ilustradas nas figuras 13 e 14.

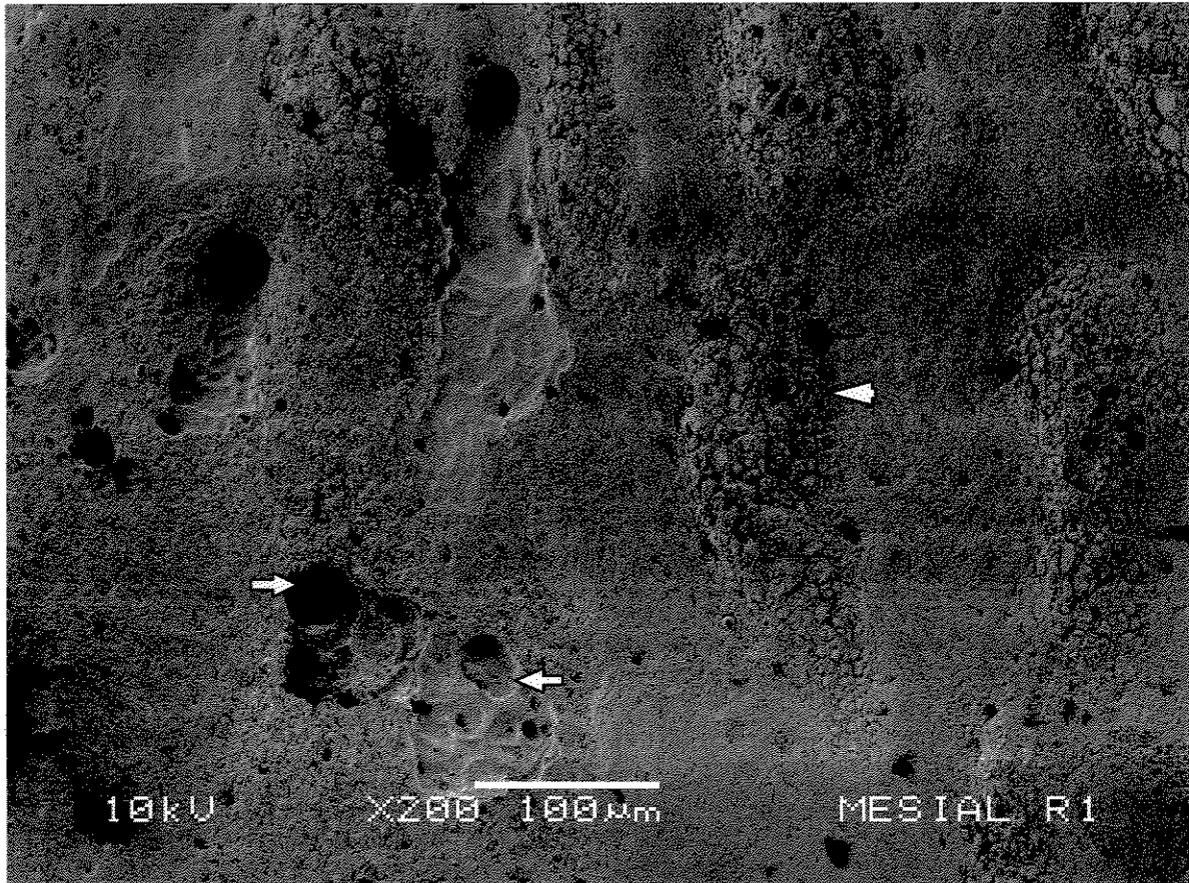


Fig. 9 - Micrografia eletrônica de varredura da região 1 da face mesial do alvéolo de incisivo inferior de rato, mostrando áreas de reabsorção (setas) na superfície óssea e faixas de fibras de Sharpey (cabeça de seta).

Tabela 1 - Densidades de área (Aa em $\text{mm}^2/\text{mm}^2 \times 10^{-3} \pm$ desvio padrão) das inserções das fibras de Sharpey nas quatro regiões das faces mesial, distal e lingual do alvéolo de incisivos inferiores de ratos em condições de oclusão normofuncional, hiperfuncional e hipofuncional.

GRUPO	FACE	REGIÃO			
		1	2	3	4
NORMOFUNCIONAL	LINGUAL	2,870 ± 0,121	0,894 ± 0,052	0,251 ± 0,024	0,043 ± 0,008
	MESIAL	3,269 ± 0,061	1,036 ± 0,020	0,449 ± 0,024	0,046 ± 0,010
	DISTAL	3,206 ± 0,061	0,976 ± 0,030	0,363 ± 0,020	0,036 ± 0,010
HIPERFUNCIONAL	LINGUAL	2,916 ± 0,086	0,917 ± 0,053	0,277 ± 0,013	0,046 ± 0,010
	MESIAL	3,351 ± 0,067	1,072 ± 0,091	0,541 ± 0,027	0,063 ± 0,008
	DISTAL	3,236 ± 0,068	1,013 ± 0,048	0,501 ± 0,027	0,056 ± 0,008
HIPOFUNCIONAL	LINGUAL	2,263 ± 0,126	0,755 ± 0,052	0,221 ± 0,015	0,040 ± 0,000
	MESIAL	2,599 ± 0,128	0,838 ± 0,037	0,261 ± 0,019	0,026 ± 0,010
	DISTAL	2,382 ± 0,037	0,617 ± 0,023	0,224 ± 0,010	0,020 ± 0,000

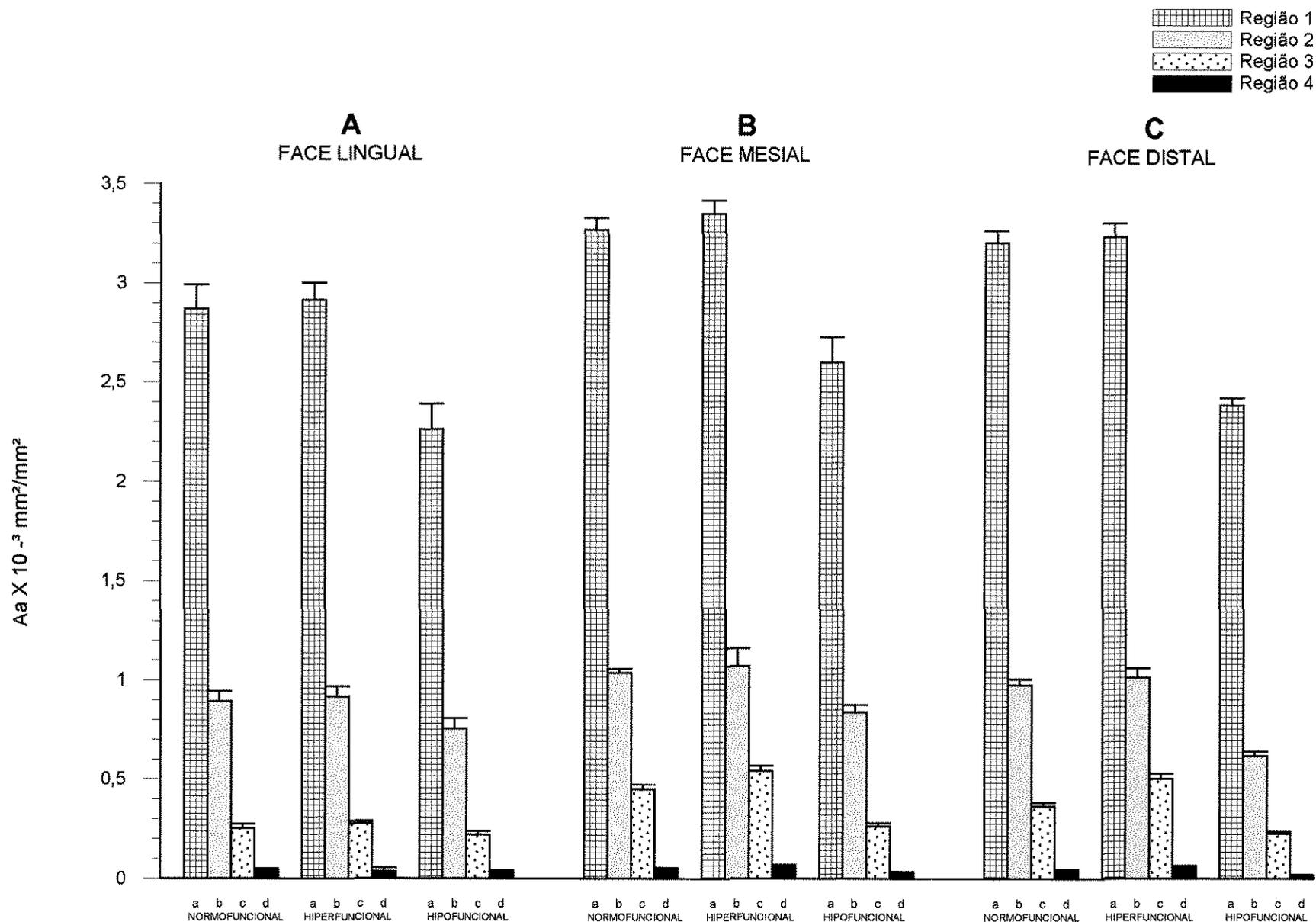


Figura 10 - Comparação entre as densidades de área de inserção das fibras de Sharpey nas 4 regiões dos alvéolos de incisivos inferiores de ratos, por condição funcional (normal, hiperfuncional e hipofuncional), nas três faces (lingual, mesial e distal). Em cada grupo de barras letras diferentes indicam diferença significativa, ($p < 0,05$).

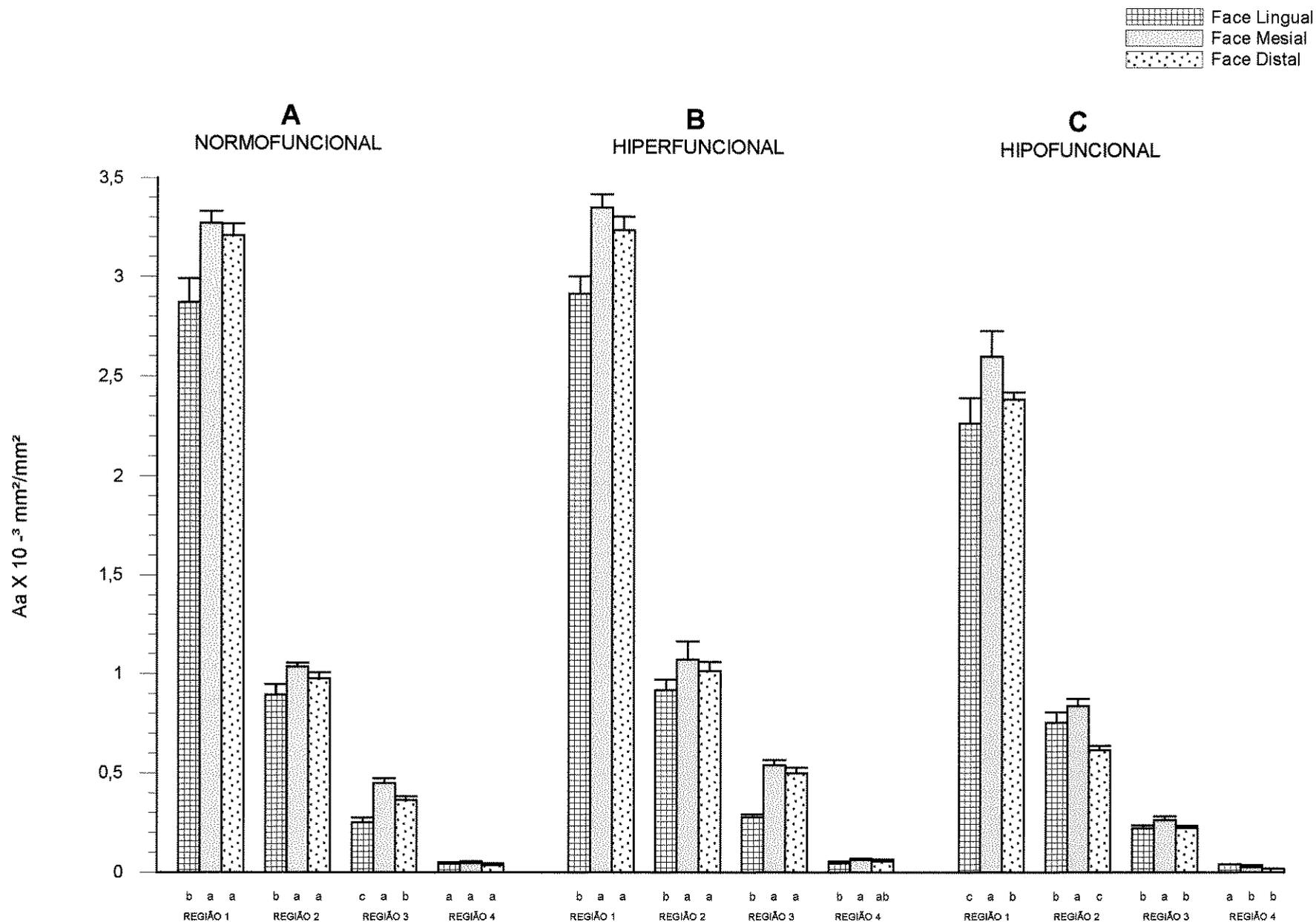


Figura 11 - Comparação entre as densidades de área de inserção das fibras de Sharpey nas três faces (mesial, distal e lingual) dos alvéolos de incisivos de rato, nas quatro regiões, em cada condição de erupção (normal, hiperfuncional e hipofuncional). Em cada grupo de barras letras diferentes indicam diferença significativa, ($p < 0,05$).

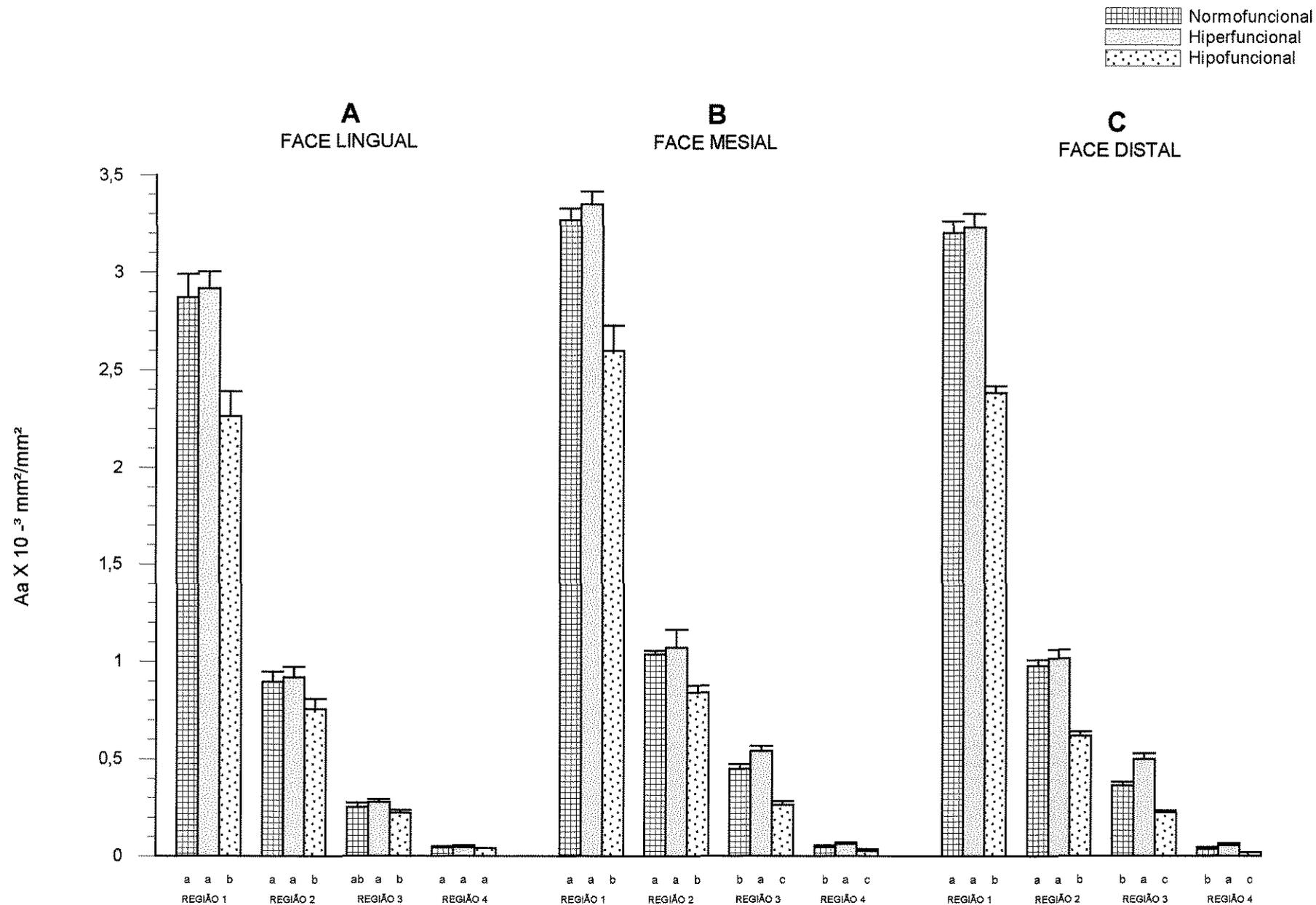


Figura 12 - Comparação entre as densidades de área de inserção das fibras de Sharpey nas três condições de erupção (normal, hiperfuncional e hipofuncional), nas quatro regiões, em cada face (mesial, distal e lingual) do alvéolo de incisivo inferior de rato. Em cada grupo de barras letras diferentes indicam diferença significativa, ($p < 0,05$).

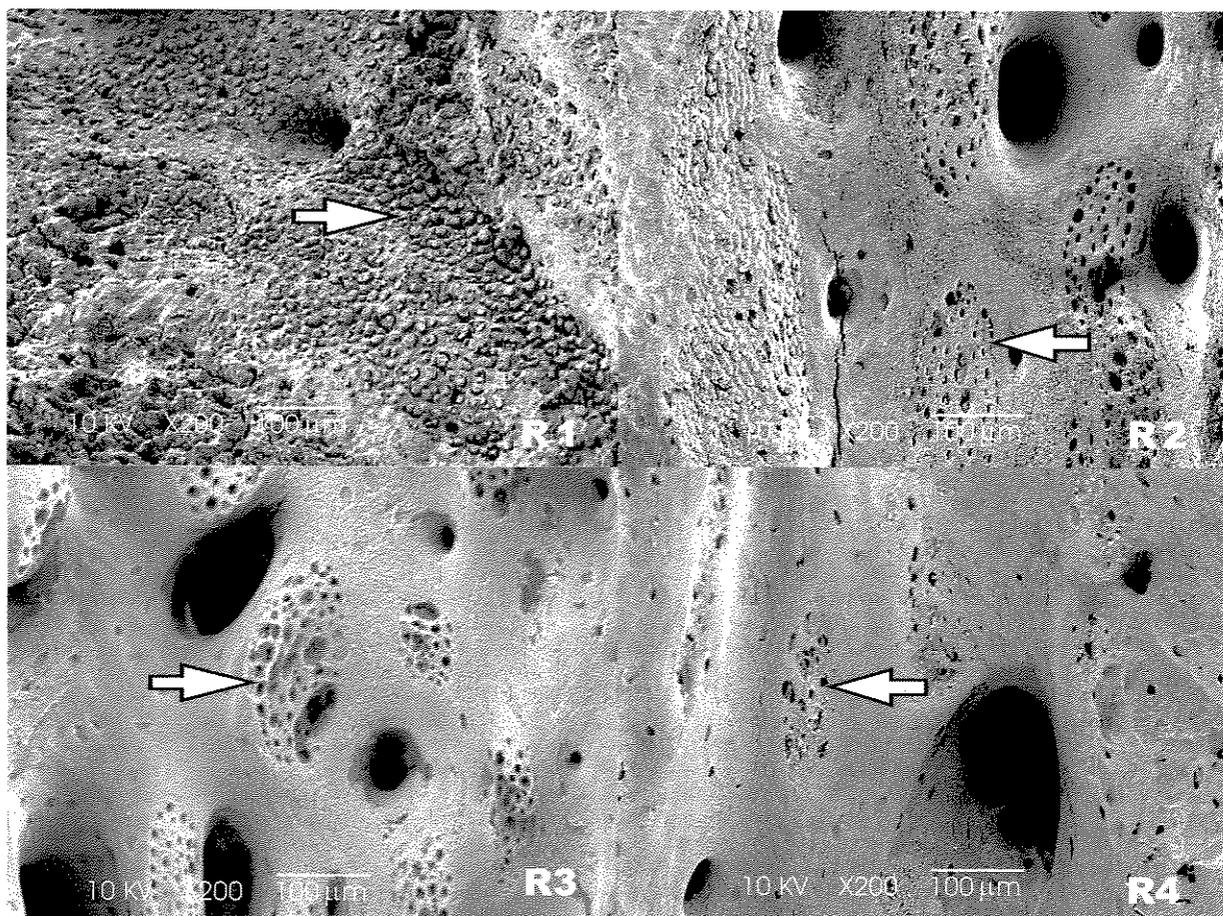


Fig. 13 - Micrografias eletrônicas de varredura das quatro regiões (R1, R2, R3 e R4) da face mesial do alvéolo de incisivo inferior de rato em condição normal de erupção notando-se a redução de fibras de Sharpey (setas) da região 1 (incisal) em direção à região 4 (basal).

Legenda da figura 14:

Fig. 14 - Micrografias eletrônicas de varredura da região 1 da face mesial do alvéolo de incisivo inferior de rato nas três condições funcionais estudadas (A= Normofuncional, B= Hiperfuncional e C= Hipofuncional), notando-se no alvéolo hipofuncional áreas maiores livres de inserção (setas) de fibras de Sharpey.

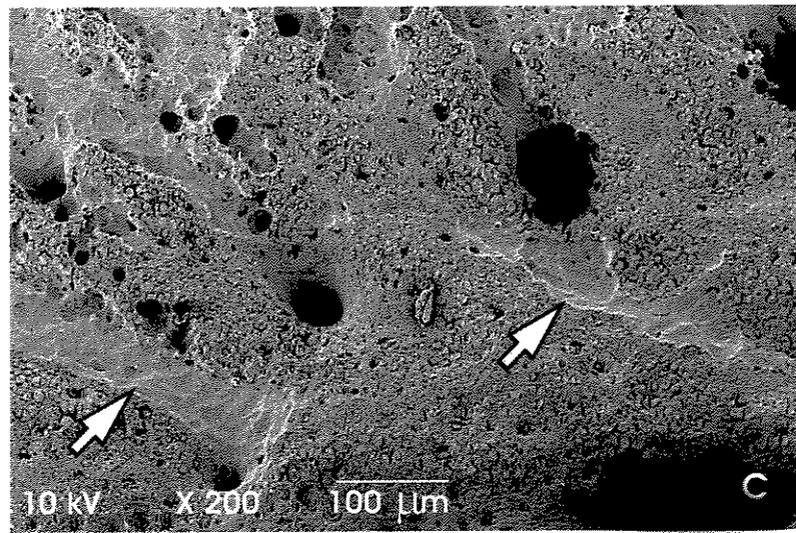
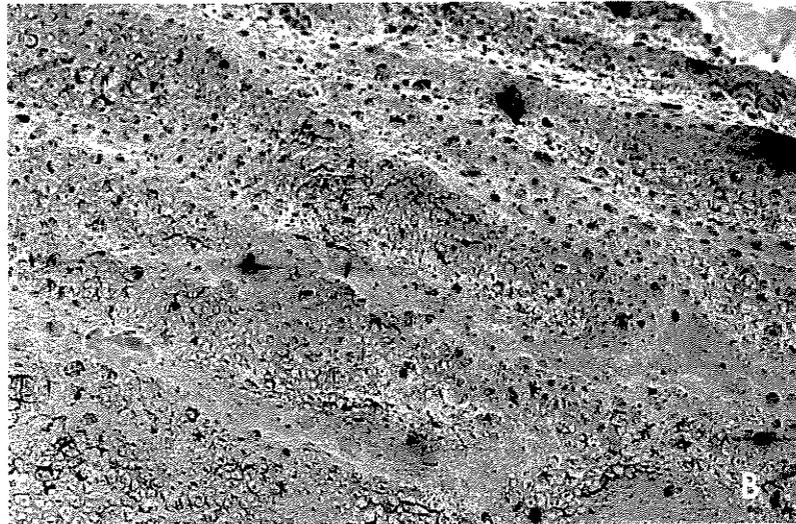


Fig. 14

DISCUSSÃO

O aspecto morfológico das inserções das fibras de Sharpey observadas à microscopia eletrônica de varredura, aqui descritas e ilustradas, coincide com o descrito na literatura (Boyde e Jones, 1968; Shackleford, 1973; Jones e Boyde, 1974; Sloan, 1978; Johnson, 1983; Martinez e Johnson, 1987; Short e Johnson, 1990; Carter e Sloan, 1994; Kuroiwa *et al*, 1994). Contudo, destes autores, somente Martinez e Johnson (1987) descreveram, na parede alveolar, fibras completamente mineralizadas como as indicadas na fig. 4B e que foram mais freqüentes nas regiões mais incisais.

A distribuição quantitativa das inserções de fibras de Sharpey, expressa em densidade por área, confirma as observações de Sloan (1981) de que esta densidade é maior nos segmentos incisais e menor nos segmentos basais onde se apresenta em grupos formando ilhas. Os nossos resultados mostraram, ainda que a densidade diminui, de modo gradativo e estatisticamente significante, da crista alveolar em direção à extremidade basal, nas 3 faces do ligamento e nas 3 condições funcionais. Além das diferenças observadas entre as faces, onde a densidade de inserções foi menor na face lingual das regiões mais incisais, o resultado que chamou mais atenção foi a diminuição da densidade de fibras nas condições hipofuncionais nas 3 faces na região 1 e 2 e na face mesial e distal também na região 3 e 4.

Esta diminuição de fibras de Sharpey nos dentes hipofuncionais, pode ser comparada com os resultados de Short e Johnson (1990). Os autores

extraíram num grupo de ratos o 1º molar superior direito ficando os contralaterais em hiperfunção; o 1º molar inferior direito foi considerado não funcional e o 2º molar inferior direito (que oclui parcialmente com o 1º molar superior) em hipofunção. Noutro grupo extraíram o 2º e o 3º molares superiores direitos ficando os contralaterais em hiperfunção, o 1º molar inferior direito hiperfuncional e o 2º molar inferior direito, hipofuncional. Os dentes não funcionais tiveram a densidade de fibras, na região próxima da crista, significativamente reduzida em relação aos normofuncionais, enquanto os hipofuncionais foram semelhantes aos normofuncionais e também os hipofuncionais do 1º grupo (extração do 1º molar superior) tiveram uma densidade maior que o hipofuncional do 2º grupo (extração do 2º e 3º molares superiores). Os resultados destes autores para o que denominam dentes não funcionais são semelhantes (particularmente comparando-se a região próxima à crista alveolar) aos que obtivemos nos incisivos desimpedidos ou hipofuncionais e os 2º molares hipofuncionais do 1º grupo, no mesmo trabalho, tiveram densidade de fibras maior que os normofuncionais, embora sem significância estatística, resultado que observamos em relação aos incisivos hiperfuncionais.

Considerar não funcionais dentes que não ocluem com antagonista não parece ser justificado. Por exemplo, na dentição de cães os caninos não ocluem, mas são obviamente funcionais. No caso de dentição humana, dentes sem antagonistas, podem participar no ato de mastigação de alimentos estando assim sujeitos a forças oclusivas, provavelmente de menor intensidade e, portanto, hipofuncionais em relação aos dentes que normalmente ocluem. Já os

contralaterais de dentes ausentes são geralmente sujeitos a uma carga adicional, constatado pelo maior desgaste, no caso por exemplo da dentição humana, ou no caso de incisivos de roedores que mantêm, devido aos movimentos mastigatórios, o desgaste normal dos dois incisivos superiores (Steigman *et al*, 1989), o que pôde ser observado também neste e em outros estudos que já realizamos (Silva, 1997).

Não temos por ora condições de contrastar as observações de Short e Johnson (1990) em relação ao diâmetro e grau de mineralização das fibras de Sharpey. Segundo estes autores o diâmetro das fibras aumenta significativamente nos dentes não funcionais e diminui nos hiperfuncionais em relação aos controles normofuncionais. As fibras em dentes hipo e não funcionais apresentam-se menos mineralizadas que os hiperfuncionais ou controles. Neste particular, as observações de nosso material parecem indicar que o diâmetro das fibras varia mais nas regiões incisais, tendendo o diâmetro a ser menor e mais homogêneo nas regiões basais. O mesmo aparentemente ocorreu com o grau de mineralização, maior nas regiões mais incisais e menor nas mais basais. Também nos pareceu que o grau de mineralização diminui nos alvéolos de incisivos hipofuncionais.

A diminuição de inserções de fibras de Sharpey, além do aumento de material amorfo da matriz extracelular do ligamento (Van den Bos e Tonino, 1984; Kirkham *et al*, 1993), explicariam a perda de suporte dos incisivos desimpedidos que podem ser extraídos com maior facilidade (Kinoshita *et al*, 1982; Chiba e Komatsu, 1988). Esta relação das fibras de Sharpey com a função de suporte e,

portanto, na dependência de forças axiais que atuam nos dentes também pode ser percebida nas alterações observadas nos dentes hiperfuncionais. Embora discreto, houve um aumento significativo de densidade de inserções em relação aos hipo e normofuncionais nas faces mesial e distal das regiões 3 e 4.

Em resumo, o gradiente de densidade de inserções de fibras de Sharpey de basal para incisal nos alvéolos de incisivos de ratos sugere que o ligamento amadurece no sentido incisal atingindo o máximo de função de suporte próximo a crista alveolar. Indica também que a alteração das forças oclusais altera significativamente a quantidade de fibras, particularmente quando o dente se torna hipofuncional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akyoshi, M., Inoue, M., 1963. On the functional structure of cementum. Bull. Tokyo Med. Dent. Univ. 10, 41-59.
- Boyde, A., Hobdell, M.H., 1969. Scanning electron microscopy of primary membrane bone. Z. Zellforsch. 93, 98-108.
- Boyde, A., Jones, S.J., 1968. Scanning electron microscopy of cementum and Sharpey fibre bone. Z. Zellforsch. 92, 536-548.
- Carter, D.H., Sloan, P., 1994. The fibrous architecture of the rat periodontal ligament in cryosections examined by scanning electron microscopy. Archs. Oral Biol. 39(11), 949-953.
- Chiba, M., Komatsu, K., 1988. *In vitro* estimation of the resisting force of tooth eruption and the zone of shear in the rat incisor periodontal ligament. In: Davidovitch, Z. (Ed.), The Biological Mechanisms of Tooth Eruption and Root Resorption. EBESCO Media, Birmingham, pp.193-205.
- Eccles, J.D., 1964. The development of the periodontal membrane in the rat incisor. Archs. Oral Biol. 9, 127-133.
- Garant, P.R., Cho, M.I., 1979. Autoradiographic evidence of the coordination of the genesis of Sharpey's fibers with new bone formation in the periodontium of the mouse. J. Periodont. Res. 14, 107-114
- Gorski, J.P., Marks Jr., S.C., 1992. Current concepts of biology of tooth eruption. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 3, 185-206.

- Grant, D., Bernick, S., 1972. Formation of the periodontal ligament. *J. Periodontol.* 43, 17-25.
- Jones, S.J., Boyde, A., 1972. A study of human root cementum surfaces as prepared for and examined in the scanning electron microscope. *Z. Zellforsch.* 130, 318-337.
- Jones, S.J., Boyde, A., 1974. The organization and gross mineralization patterns of collagen fibres in Sharpey fibre bone. *Cell Tissue Res.* 148, 83-96.
- Johnson, R.B., 1983. A new look at the mineralized and unmineralized components of intrasosseous fibers of the interdental bone of mouse. *Anat. Rec.* 206, 1-9.
- Johnson, R.B., 1987. A classification of Sharpey's fibers within the alveolar bone of the mouse: a high-voltage electron microscope study. *Anat. Rec.* 217, 339-347.
- Johnson, R.B., Low, F.N., 1982. Development of intrasosseous fibers of the mouse periodontium: A high-voltage electron microscopic study. *Am. J. Anat.* 163, 327-335.
- Karnovsky, M.J., 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 27, 137A-138A.
- Kinoshita, Y., Tonooka, K., Chiba, M., 1982. The effect of hypofunction on the mechanical properties of the periodontium in the rat mandibular first molar. *Archs. Oral Biol.* 27, 881-885.

- Kirkham, J.; Robinson, C.; Phull, J.K.; Shore, R.C.; Moxham, B.J.; Berkovitz, B.K.B., 1993. The effect of rate of eruption on periodontal ligament glycosylaminoglycan content and enamel formation in the rat incisor. *Cell Tissue Res.* 274, 413-419.
- Kolliker, A., 1867. *Handbuch der gewebelehre des menschen*, J. Aufl. Wilhelm Engelmann, Leipzig. In: Quigley, M.B., 1970. Perforating (Sharpey's) Fibers of The Periodontal Ligament and Bone. *Ala. J. Med. Sci.* 7, 336-342.
- Kurihara, S., Enlow, D.H., 1980a. An electron microscopic study of attachments between periodontal fibers and bone during alveolar remodeling. *Am. J. Orthod.* 77(5), 516-531.
- Kurihara, S., Enlow, D.H., 1980b. A histochemical and electron microscopic study of an adhesive type of collagen attachment on resorptive surface of alveolar bone. *Am. J. Orthod.* 77(5), 532-546.
- Kuroiwa, M., Chihara, K., Higashi, S., 1994. Electron microscopic studies on Sharpey's fibers in the alveolar bone of rat molars. *Acta Anat. Nippon.* 69, 776-782.
- Marks Jr, S.C., Gorski, J.P., Cahill, D.R., Wise, G.E., 1988. Tooth eruption – A synthesis of experimental observations. In: Davidovitch, Z. (Ed.), *The Biological Mechanisms of Tooth Eruption and Root Resorption*, EBESCO Media, Birmingham, pp.161-169.
- Martinez, R.H., Johnson, R.B., 1987. Effects of orthodontic forces on the morphology and diameter of Sharpey fibers of the alveolar bone of the rat. *Anat. Rec.* 219,10-20.

- Merzel, J., Novaes, P.D., Furlan, S., 2000a. A histological study of root-resected and root-transected rat incisors when eruption ceases, shortly before they are exfoliated from the socket. *Archs. Oral Biol.* 45, 315-322.
- Merzel, J., Novaes, P.D., Furlan, S., 2000b. The effects of local trauma to the enamel-related periodontal tissues in the eruption of the rat incisor. *Archs. Oral Biol.* 45, 323-333.
- Moxham, B.J., Berkovitz, B.K.B., 1995. The periodontal ligament and physiological tooth movements. In: Berkovitz, B.K.B., Moxham, B.J., Newman, H.N. (Ed.), *The Periodontal Ligament in Health and Disease*. Mosby-Wolfe, London, pp.183-214.
- Moxham, B.J., Grant, D.A., 1995. Development of the periodontal ligament. In: Berkovitz, B.K.B., Moxham, B.J., Newman, H.N. (Ed.), *The Periodontal Ligament in Health and Disease* Mosby-Wolfe, London, pp.1161-181.
- SAS Institute Inc., SAS/Stat, 1989 User's guide, version 6, 4th edition, 1, pp. 943.
- Selvig, K.A., 1965 The fine structure of human cementum. *Acta Odontol. Scand.* 42, 423-441.
- Shackleford, J.M., 1973. Ultrastructural and microradiographic characteristics of Sharpey' fibers in dog alveolar bone. *Ala. J. Med. Sci.*, 10, 11-20.
- Short, E., Johnson, R.B., 1990. Effects of tooth function on adjacent alveolar bone and Sharpey's fibers of the rat periodontal. *Anat. Rec.* 227, 391-396.

- Silva, M.A.J., 1997 Estudo morfométrico dos compartimentos de várias regiões do ligamento periodontal de incisivos de ratos em condições de erupção alterada pelo desimpedimento e pela vimblastina. Tese de Mestrado, FOP – UNICAMP, Piracicaba.
- Sloan, P., 1978. Scanning electron microscopy of the collagen fibre architecture of the rabbit incisor periodontium. *Archs. Oral Biol.* 23, 567-572.
- Sloan, P., 1981. Some comparative observations on the distribution and form of alveolar Sharpey fibres in rat, rabbit, macaque and man. *J. Dent. Res.* 60(B), 1193.
- Steigman, S.; Michaeli, Y.; Yitzhaki, M., Weinreb, M., 1989. A three-dimensional evaluation of the effects of functional occlusal forces on the morphology of dental and periodontal tissues of the rat incisor. *J. Dent. Res.* 68 (8), 1269-1274.
- Tung, P.S., Domenicucci, C., Wasi, S. and Sodek, J., 1985. Specific immunohistochemical localization of osteonectin and collagen types I and III in fetal and adult porcine dental tissues. *J. Histochem. Cytochem.* 33 (6), 531-540.
- Van den Bos, T., Tonino, G.J.M., 1984. Composition and metabolism of the extracellular matrix in the periodontal ligament of impeded and unimpeded rat incisors. *Archs. Oral Biol.* 29, 893-897.
- Wang, H.W., Nanda, V., Rao, L.G., Melcher, A.H., Heersche, J.N.M., Sodek, J., 1980. Specific immunohistochemical localization of type III collagen in porcine periodontal tissues using the peroxidase-antiperoxidase method. *J. Histochem. Cytochem.* 28, 1215-1223.

WEIBEL, E.R., Kistler, G.S., Scherle W.F., 1966. Practical stereological methods for morphometric cytology. *J. Cell Biol.* 30, 23-38.