

JOSÉ RONALDO VIEIRA DA COSTA

ESTUDO DA HISTOARQUITETURA DAS CÉLULAS QUE
COMPÕEM O ÓRGÃO DO ESMALTE DE MOLARES DE
CAMUNDONGO.

Trabalho apresentado à
Faculdade de Odontolo-
gia de Piracicaba da U
niversidade Estadual de
Campinas para obtenção
do Grau de Mestre em
Histologia.

Aos meus pais,
que me ensinaram
que "viver é lutar pelos ideais verdadeiros".

À minha esposa,
Ana Maria,
pela dedicação e carinho em
todos os momentos.

E à nossa filha Rosane

Ofereço este trabalho.

Ao Professor Dr. Antônio Carlos Ferraz Corrêa,
orientador deste trabalho, pela segurança com
que nos conduziu na execução desta pesquisa ,
pelos valiosos ensinamentos à minha carreira u
niversitária, pela sincera amizade, o meu pro-
fundo agradecimento.

Aos Doutores

Armando Alves Borges Jr. e
Anthelmo Veríssimo Bueno

grandes incentivadores de
minha carreira e ingresso
no magistério.

AGRADEÇO

- Ao Prof. Dr. José Merzel, pelo apoio e sugestões apresentadas no decorrer deste trabalho;
- Ao Prof. Dr. Guilherme Blumen, pelo incentivo e sugestões durante a realização deste trabalho;
- Ao Prof. Dr. Cássio Odnei Garcia Munhoz, pelas sugestões durante a realização da parte experimental deste trabalho;
- Ao Prof. Dr. Andrés José Tumang, pelo incentivo durante o curso de Pós-Graduação;
- A Profa. Darcy Oliveira Tosello, pela colaboração prestada na confecção dos cortes histológicos;
- Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Nêder, DD. Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela oportunidade que nos ofereceu para a realização deste trabalho, bem como à Universidade Estadual de Campinas através de seu Magnífico Reitor Doutor Plínio Alves de Moraes, pelo incentivo dispensado aos que se dedicam ao ensino e à pesquisa;
- Ao Prof. Dr. Hélio de Souza, DD. Diretor da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, de maneira especial, pelo grande incentivo, pelos afastamentos concedidos e pela amizade e solidariedade de sempre.
- A Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas e ao Plano Institucional de Capacitação de Docentes (PICD), agradeço os recursos para a realização deste trabalho.

- Ao Prof. Dr. Vinicius Vieira Vignoli pelas sugestões durante a realização deste trabalho;
- Ao Prof. Dr. José Renan Vieira da Costa pelo auxílio nas ilustrações que compõem este trabalho;
- A Profa. Doutora Ana Maria Duarte Dias Costa pelo apoio e incentivo durante a realização deste trabalho.
- A Profa. e Acadêmica de Direito Srta. Ângela Aparecida Reis, pela revisão do vernáculo e trabalhos datilográficos.
- A cada um, dentre todos os meus caros amigos do Departamento de Biologia e Patologia Buco-Dental, professores, colegas e funcionários, pelo saudável ambiente de Trabalho e gratificante amizade.

ÍNDICE

I	-	INTRODUÇÃO	1
II	-	MATERIAL E MÉTODOS	6
III	-	RESULTADOS	8
IV	-	DISCUSSÃO	17
V	-	CONCLUSÕES	20
VI	-	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
VII	-	ILUSTRAÇÕES	29

I- INTRODUÇÃO

O órgão do esmalte, componente do germe dental, derivado do ectoderma é o tecido que possui entre outras, células responsáveis pela formação do esmalte dentário; desempenha também um importante papel no desenvolvimento da(s) raiz(es), na formação da bainha radicular de HERTWIG, cujas células, por ação indutora promovem a diferenciação dos odontoblastos e consequentemente a formação da dentina radicular. Na etapa que precede a formação dos tecidos duros, dentina e esmalte, o órgão do esmalte é constituído por quatro camadas, distintas, de células, que no sentido centrífugo são: epitélio interno, estrato intermediário, retículo estrelado e epitélio externo (BHASKAR, 1978). O epitélio interno nesta época do desenvolvimento, conforme descrições de WASSERMANN (1944), COHN (1957), HUNT (1959), BLUMEN (1970) e WARSHAWSKY & SMITH (1974) é formado por uma camada simples de células colunares, com núcleos alongados dispostos em vários níveis de altura, o que lhe confere o aspecto típico de epitélio pseudo-estratificado.

A vascularização do órgão do esmalte foi estudada por alguns pesquisadores como ADDISON & APPLETON (1922), KINGERY (1924), JUMP (1938), BERNICK (1960) e GLASSTONE (1962) este "in vitro", e todos observaram que o órgão do esmalte é invadido por capilares sanguíneos vindos do saco dental pouco antes de ter início a formação do esmalte.

A formação da pré-dentina pelos odontoblastos, parece desempenhar um importante papel no ciclo vital do epitélio interno, pois a sua presença além de inverter a fonte de nutrição destas células, parece ser necessária também para que tenha início a diferenciação destas em ameloblastos, - células responsáveis pela formação do esmalte dentário - (HUGGINS, MCCARROL e DAHLBERG, 1934; GLASSTONE, 1936 e 1938; HAHN, 1941; WASSERMANN, 1944; MARSLAND, 1951; BHASKAR, 1978). Apesar de que, as informações necessárias para sua diferenciação seja recebida precocemente durante a interação celular ectoderma-mesênquima, ou seja antes da diferenciação dos odonto-

blastos.

Para MARSLAND (1951) são as seguintes as alterações que ocorrem no órgão do esmalte, assinalando morfologicamente o início da amelogenese: a polarização do epitélio interno, o aparecimento dos processos de TOMES e barras terminais nos ameloblastos e alterações histoestruturais no estrato intermédio.

GAUNT (1956), COHN (1957), PINDBORG & WEINMANN (1959) e WARSHAWSKY E SMITH (1974) notaram que as células do estrato intermédio apresentam forma cubóide quando situadas adjacentes aos ameloblastos formadores de esmalte. JOHNSON & BEVELANDER (1956 e 1957), HUNT & PAYNTER (1963) e DIAB, STALLARD e ZANDER (1966) observaram que as células do estrato intermédio tornam a diferenciar-se depois do término da formação do esmalte para formar um epitélio escamoso estratificado, semelhante ao epitélio bucal. Quando isto acontece, o retículo estrelado e o epitélio externo parecem estar ausentes, não se notando mais a sua presença. O estrato intermédio torna-se então a camada mais externa do órgão do esmalte, unindo-se com o epitélio bucal, antes do dente emergir na cavidade bucal.

MAHN (1890) e GAUNT (1956) estudando molares de camundongo e ADDISON & APPLETON (1921) molares de rato, observaram que a coroa destes dentes apresentam áreas destituídas de esmalte em alguns locais das cúspides e descreveram a histoarquitetura dos ameloblastos não formadores de esmalte, situados sobre tais áreas. MARSLAND (1952) observou em molares de rato, que as células não formadoras da camada ameloblástica adquiriam forma semelhante à daquelas da camada espinhosa do epitélio bucal, pouco antes da erupção do dente. LEFKOWITZ, BODECKER e MARDFIN (1953) notaram em ratos e posteriormente GAUNT (1956) e COHN (1957) em camundongos, que as células do estrato intermédio apresentam forma achatada quando situadas adjacentes aos ameloblastos não formadores de esmalte.

WASSERMANN (1944), MARSLAND (1951), PINDBORG & WEINMANN (1959) e WARSHAWSKY & SMITH (1974) observaram que ao término da formação do esmalte, os ameloblastos sofrem novas alterações em sua histoarquitetura: diminuem de altura, desaparecem os processos de TOMES, as barras terminais e a delimitação entre estes e o estrato intermédio. Paralelamente aparecem vacúolos em seu citoplasma e surgem glóbulos arredondados na sua porção infra-nuclear e no estrato intermédio. Além disto, PINDBORG & WEINMANN (1959) e WARSHAWSKY & SMITH (1974) notaram que surge uma borda estriada na extremidade distal dos ameloblastos e que desaparece quando os ameloblastos reduzem ainda mais de tamanho, tornando-se cubóides.

O órgão do esmalte, como já foi dito anteriormente, desempenha um papel importante no desenvolvimento da(s) raiz(es) formando a bainha radicular de HERTWIG cujas células induzem a diferenciação dos odontoblastos e conseqüentemente a formação da dentina radicular (BHASKAR, 1978). Para PAYNTER & PUDY (1958) a bainha radicular de HERTWIG consta de duas partes: (a) a bainha propriamente dita, que circunda o ápice da dentina radicular como se fosse um estreito colar e (b) o diafragma radicular, que fecha parcialmente o ápice da raiz. Conforme SICHER (1942 b) e GAUNT, OSBORN e TEN CATE (1971), o diafragma radicular é a primeira porção da bainha radicular a se formar. A bainha foi descrita em dentes humanos por ROSE (1891) e DIAMOND & APPLEBAUM (1942) e em molares de rato por VON BRUNN (1891), PAYNTER & PUDY (1958) e SICHER (1942 b) como sendo uma estrutura tubular formada por duas camadas de células do órgão do esmalte: o epitélio interno e o epitélio externo. Em incisivos de rato (ADDISON & APPLETON, 1915; SICHER, 1942 a; DIAB & STALLARD, 1965; SHIBATA & STERN, 1967), pré-molares de gato (GRANT & BERNICK, 1971) e molares de marmota (BERNICK & LEVY, 1966) a bainha radicular de HERTWIG é constituída por três camadas de células do órgão do esmalte: epitélio interno, estrato intermédio e epitélio externo.

O desenvolvimento do órgão do esmalte tem sido estudado em várias espécies de animais e diferentes grupos den-

tais. Porém , pouca atenção foi dada em relação às alterações que ocorrem nas células do órgão de esmalte dos molares dos camundongos. Em vista disto, o propósito deste trabalho é o estudo da histoarquitetura das células componentes do órgão do esmalte do primeiro molar do camundongo, desde o nascimento (zero dias) até 18 dias de vida, quando ocorre a erupção clínica do dente.

II- MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

Camundongos (*Mus Musculus*) de zero (ao nascimento) a 18 dias de idade anestesiados com éter etílico, foram decapitados e cuidadosamente dissecados para remoção de suas maxilas; após a remoção, foram separadas em hemimaxilas, lavadas em soro fisiológico e imersas em glutaraldeído a 6% em solução tampão fosfato, pH 7,2. Imediatamente após, com o auxílio de uma lupa estereoscópica, os espécimes foram reduzidos, após o que permaneceram na solução fixadora durante 4 horas. Em seguida, foram lavados na mesma solução de tampão fosfato durante 15 minutos, com trocas a cada 5 minutos de intervalo. Descalcificadas em EDTA (WARSHAWSKY & MOORE, 1967) por um período de tempo que variou de 4 a 20 dias, dependendo da idade do animal e após, lavadas em tampão fosfato pH 7,2 por 15 minutos, com trocas também a cada intervalo de 5 minutos.

A seguir foi feita uma segunda redução e imediatamente após as peças foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1% por 2 horas (MILLONIG, 1961), lavadas em tampão fosfato, desidratadas em acetona em concentrações crescentes e incluídas em Epon (LUFT, 1961) no sentido longitudinal e direção mesio-distal do dente (região do 1º Molar). Com o ultra-microtomo Porter Blum MT 2 obteve-se cortes de 1 μ m de espessura, utilizando-se navalhas de vidro confeccionadas no aparelho LKB-7.800 B.

Os cortes, corados com uma solução de Azur II+ Azul de metileno em partes iguais, foram examinados e fotografados para documentação no fotomicroscópio II da Carl Zeiss.

III-RESULTADOS

Camundongo com zero (0) dias

O germe dental do primeiro molar superior se acha no estágio de campânula. O órgão do esmalte, um dos componentes do germe, apresenta-se contínuo com o epitélio oral por meio da lâmina dental e exhibe quatro camadas celulares típicas, que no sentido centrífugo são: epitélio interno, estrato intermédio, retículo estrelado e epitélio externo.

Epitélio interno: apresenta uma única camada de células colunares, separadas da papila dental, por uma membrana basal; seus núcleos com nucléolos bem proeminentes são alongados e dispostos em vários níveis de altura o que lhe confere o aspecto típico de epitélio pseudo-estratificado. Figuras de mitose são observadas em toda a extensão desta camada (Figura 1).

Estrato intermédio: exhibe duas ou três fileiras de células de formato cuboide ou achatado, com núcleos ovóides ou fusiformes, acompanhando o formato das células (Figura 1). Figuras de mitose também são observadas ao longo destas camadas. As células mostram-se unidas entre si, bem como as do retículo estrelado e com as do epitélio interno, por meio de pontes citoplasmáticas (Figura 1).

Retículo estrelado: apresenta células de forma estrelada, com longos prolongamentos citoplasmáticos sem orientação definida, núcleos alongados com nucléolos proeminentes. As células deixam espaços entre si e algumas estão unidas através de pontes citoplasmáticas com as do epitélio externo e outras com as do estrato intermédio (Figura 2). Capilares sanguíneos e eritrócitos extravazados de seu interior, são vistos espalhados entre suas células. A presença de retículo estrelado não é notada na região cervical do órgão do esmalte.

Epitélio externo: mostra uma única camada de células de forma cuboide, separadas do saco dental por uma membrana basal. Seus núcleos são ovóides com nucléolos proeminentes. A continuidade da camada do epitélio externo é inter-

rompida em alguns locais, dando passagem a capilares sanguíneos provenientes do saco dental e que atingem o interior do retículo estrelado. Na curvatura cervical do órgão do esmalte os epitélios externo e interno são contínuos e estão justapostos; as células do epitélio externo apresentam a forma cuboide (Figura 3) e as do epitélio interno colunar.

Camundongo com 1 dia de vida

Observa-se alterações na morfologia das células do órgão do esmalte situadas no alto das cúspides, onde surgiu uma delimitação entre as células do epitélio interno e as do estrato intermédio; estas células do estrato intermédio exibem agora somente a forma cuboide com núcleos arredondados (Figura 4). Ainda nesta mesma região, os odontoblastos depositaram uma camada de pré-dentina na superfície da membrana basal, membrana esta que separa as células do epitélio interno das do tecido pulpar.

A região cervical do órgão do esmalte não apresentou alterações morfológicas.

Camundongo com 2 dias de vida

Nesta idade, a lâmina dental já se rompeu, separando o órgão do esmalte do epitélio bucal.

Uma maior quantidade de vasos sanguíneos está presente no interior do retículo estrelado.

Na região do alto das cúspides, já notamos os ameloblastos, derivados do epitélio interno e que estão produzindo matriz de esmalte. Estas células têm a forma colunar alta, núcleos colocados na porção basal e nucléolos proeminentes. Projetando-se do ápice da célula, nota-se uma extensão citoplasmática, o Processo de TOMES, que parece incrusta

do no interior da matriz de esmalte recentemente formada. Nas extremidades apicais dos ameloblastos, entre as paredes laterais das células e os seus Processos (de TOMES), nota-se a existência de barras terminais (Figura 5). Nesta região o estrato intermédio exhibe uma só fileira de células de forma cuboide com núcleos arredondados (Figura 6).

A região cervical apresenta a mesma morfologia das idades anteriores.

Camundongo com 3 dias de vida

Não mais se observa a presença de eritrócitos estavasados entre as células do retículo estrelado.

Em alguns locais das cúspides nota-se não estar havendo formação de esmalte e a dentina permanece em contacto com a camada ameloblástica adjacente (Figura 7). Nestas regiões, os ameloblastos possuem o núcleo colocado centralmente, não apresentam Processos de TOMES e são mais baixos que os ameloblastos ativos e que estão formando esmalte nas outras regiões da coroa. O estrato intermédio adjacente a estes ameloblastos não formadores apresenta células de forma achatada (Figura 8).

A região cervical do órgão do esmalte não apresentou modificações.

Camundongos com 4 e 5 dias de vida

O retículo estrelado está presente em toda a extensão da coroa. Com excessão das regiões destituídas de esmalte, os ameloblastos estão formando matriz de esmalte em quase toda a extensão coronária e o estrato intermédio exhibe uma só fileira de células de forma cuboide com núcleos arredondados.

Na região cervical, está formado o diafragma radicular, estreitando a ampla abertura cervical do germe dental,

situando-se num plano horizontal e exibindo três camadas de células do órgão do esmalte (Figura 9):

Camada interna: formada pelas células do epitélio interno, de forma colunar baixa, núcleos alongados e colocados em vários níveis de altura; os nucléolos são proeminentes. Separando esta camada da polpa existe uma membrana basal e ao longo desta camada observam-se figuras de mitose.

Camada média: formada pelas células do estrato intermédio, de forma achatada, núcleos fusiformes e nucléolos proeminentes. Observam-se também figuras de mitose.

Camada externa: formada pelas células do epitélio externo, de forma cuboide, núcleos ovóides e nucléolos proeminentes. Figuras de mitose estão presentes.

Uma membrana basal separa esta camada do saco dental. Os epitélios externo e interno são contínuos e estão justapostos na extremidade livre do diafragma radicular.

Camundongo com 6 dias de vida

O retículo estrelado está reduzido e vasos sanguíneos de maior calibre estão presentes no seu interior. O epitélio externo apresenta a forma achatada com núcleos fusiformes. Os ameloblastos exibem a mesma morfologia descrita anteriormente.

Na região cervical o diafragma radicular perdeu a sua camada média e formou-se a bainha radicular de HERTWIG (Figura 10), exibindo duas camadas de células do órgão do esmalte e que são contínuas com as do diafragma radicular (Figura 11):

Camada interna: formada pelas células do epitélio interno, de forma colunar baixa, tornando-se cubóides à medi-

da em que vão se aproximando da extremidade do diafragma radicular. Os núcleos são alongados ou ovóides, dependendo da forma da célula, e agora estão colocados em um só nível; os nucléolos são proeminentes. Na região da bainha propriamente dita, esta camada está em contacto com a dentina radicular e na região do diafragma, está separada da polpa por membrana basal. Figuras de mitose são observadas nesta camada.

Camada externa: formada pelas células do epitélio externo, de forma achatada, núcleos fusiformes e nucléolos proeminentes. Esta camada é contínua com a interna na extremidade livre do diafragma radicular e está separada do saco dental por uma membrana basal. Figuras de mitose são observadas ao longo desta camada.

Camundongo com 7 dias de vida

Os ameloblastos terminaram a produção de esmalte na região do alto das cúspides, pois neste local eles estão mais curtos e desapareceram as barras terminais, os Processos de TOMES, bem como a delimitação entre estas células e o estrato intermédio. Vacúolos estão presentes na região supra nuclear destas células, bem como glóbulos arredondados na porção infra-nuclear e no estrato intermédio (Figura 12).

Na região cervical, a bainha radicular de HERTWIG e xibe maior número de células, estando mais alongada.

Camundongo com 8 dias de vida

Os ameloblastos exibem a mesma morfologia descrita no dia anterior em toda a região oclusal da coroa.

Na região cervical, a bainha radicular de HERTWIG está ainda mais alongada que nos dias anteriores e não apresenta alterações nas suas duas camadas.

Camundongo com 9 dias de vida

Nos locais onde terminou a formação do esmalte, os ameloblastos exibem uma aparência estriada nas suas extremidades distais. As células do estrato intermédio adjacentes a estes ameloblastos perderam a sua disposição regular e a forma cuboide, adquirindo agora um aspecto estrelado (Figura 13).

Na região cervical, a bainha radicular de HERTWIG apareceu rompida (Figura 14) e o tecido conjuntivo do saco dental está em contacto com a dentina radicular, já formada. O diafragma radicular não sofreu alterações e exhibe duas camadas de células do órgão do esmalte (Figura 15):

Camada interna: formada pelo epitélio interno, possui células de forma cuboide, núcleos ovóides e nucléolos proeminentes. Figuras de mitose estão presentes.

Camada externa: formada pelo epitélio externo, possui células de forma achatada, núcleos fusiformes e nucléolos proeminentes. Figuras de mitose estão presentes. A camada externa e a interna são contínuas e se justapõem na extremidade livre do diafragma radicular.

Camundongo com 10 dias de vida

A formação do esmalte está ocorrendo somente na região cervical, pois em direção oclusal todos os ameloblastos apresentam as mesmas características descritas no 7º e 9º dias.

Na extremidade apical das raízes, o diafragma radicular não mostra outras alterações em suas camadas.

Camundongo com 11 dias de vida

Nas regiões destituídas de esmalte, os ameloblastos não formadores estão bastante reduzido em altura. O epitélio

externo e o retículo estrelado somente são encontrados na região acima dos ameloblastos não formadores de esmalte (Figura 16).

Na extremidade apical das raízes, o diafragma radicular não apresenta alterações.

Camundongos com 12 e 13 dias de vida

A formação do esmalte terminou em toda a superfície coronária, e os ameloblastos estão exibindo todas as características descritas no 7º e 9º dias.

Ainda na região coronária, não mais se nota a presença de epitélio externo e retículo estrelado na forma como foram vistos anteriormente. Agora a camada celular do estrato intermédio transformou-se adquirindo o aspecto de epitélio escamoso estratificado, circundando toda a coroa, estando separada do saco dental por uma membrana basal. As células desta camada são unidas entre si e com as da camada ameloblástica através de pontes intercelulares. Parece que a camada do estrato intermédio e a camada ameloblástica são as únicas remanescentes do órgão do esmalte na coroa (Figura 17).

Na extremidade apical das raízes, não se nota alterações nas duas camadas do diafragma radicular.

Camundongos com 14 e 15 dias de vida

Os ameloblastos não formadores de esmalte adquiriram um aspecto estrelado, confundindo-se com as células adjacentes do estrato intermédio (Figura 18).

Na extremidade apical das raízes, as células do diafragma radicular estão reduzidas em número.

Camundongos com 16 e 17 dias de vida

Desapareceu a aparência estriada da extremidade dis-

tal dos ameloblastos e estas células estão ainda mais reduzidas em altura, adquirindo o formato cuboide, com núcleos ovóides e nucléolos proeminentes (Figura 19). O estrato intermédio uniu-se com o epitélio bucal na face oclusal do dente, desaparecendo portanto o tecido conjuntivo que aí se interpunha.

Camundongo com 18 dias de vida

A face oclusal do dente fez o seu aparecimento na cavidade oral: as células do estrato intermédio parecem ser contínuas com as da camada espinhosa da gengiva e os ameloblastos permanecem aderidos à superfície do esmalte que ainda não emergiu na cavidade bucal (Figura 20).

Na extremidade apical das raízes, o diafragma radicular permanece inalterado, exibindo as duas camadas de células, reduzidas em número (Figura 21).

IV- DISCUSSÃO

Descrevemos a histoarquitetura das células componentes do órgão do esmalte do primeiro molar superior do camundongo, desde a idade de recém nascido (zero dias) até a idade de 18 dias, quando ocorreu a erupção clínica do dente.

No animal com zero dias, observamos não ter sido ainda iniciada a formação dos tecidos duros da coroa, o órgão do esmalte apresentando as quatro camadas de células descritas por BHASKAR (1978). O epitélio interno exibe o aspecto de epitélio pseudo-estratificado, descrito por WASSERMANN (1944), COHN (1957), HUNT (1959), BLUMEN (1970) e WARSHAWSKY & SMITH (1974). Evidenciou-se também a vascularização no interior do órgão do esmalte, pois constatamos a presença de capilares sanguíneos no retículo estrelado, confirmando os estudos de ADDISON & APPLETON (1922), KINGERY (1924), JUMP (1938), BERNICK (1960) e GLASSTONE (1962).

Com o ulterior desenvolvimento do germe dental, nos^s resultados mostraram que com a formação da pré-dentina no alto das cúspides, tem início a diferenciação do epitélio interno, confirmando as observações de HUGGINS, MCCARROL e DAHLBERG (1934), GLASSTONE (1936 e 1938), HAHN (1941), WASSERMANN (1944), MARSLAND (1951) e BHASKAR (1978). Constatamos também as alterações no órgão do esmalte que assinalam o início da amelogênese, descritas por MARSLAND (1951).

As nossas observações de que o estrato intermédio apresenta forma cuboide quando situado adjacente aos ameloblastos formadores de esmalte, confirmam as descrições de GAUNT (1956), COHN (1957), PINDBORG & WEINMANN (1959) e WARSHAWSKY & SMITH (1974). Discordam porém de MARSLAND (1951), que afirma ter o estrato intermédio a forma achatada, nesta situação.

Com relação às áreas destituídas de esmalte na coroa, MAHN (1890) e ADDISON & APPLETON (1921) observaram que as células do epitélio interno, antes do início da formação da dentina e esmalte, não apresentavam diferenças entre si, mas com a formação destes tecidos, os ameloblastos não formadores de esmalte, situados adjacentes a tais áreas, eram menores e nunca atingiam o mesmo tamanho dos formadores, situados

nas outras partes da coroa. Posteriormente GAUNT (1956), notou que além das descrições feitas pelos pesquisadores acima, os ameloblastos não formadores tinham o núcleo colocado centralmente e não possuíam Processos de TOMES. Todas estas observações confirmam o que constatamos em nossa pesquisa. A transformação dos ameloblastos não formadores em células de aspecto estrelado semelhantes àsquelas da camada espinhosa do epitélio bucal estão de acordo com MARSLAND (1952). Quanto à forma das células do estrato intermédio situadas adjacentes a estes ameloblastos não formadores, nossas observações coincidem com as descritas por LEFKOWITZ, BODECKER e MARDFIN (1953), GAUNT (1956) e COHN (1957) de que estas células têm a forma achatada, nesta situação.

Ao término da formação do esmalte, constatamos as mesmas alterações nos ameloblastos, descritas por WASSERMANN (1944), MARSLAND (1951), PINDBORG & WEINMANN (1959) e WARSHAWSKY & SMITH (1974): os ameloblastos apresentam-se reduzidos de altura, surgem vacúolos em seu citoplasma e desaparecem os Processos de TOMES, as barras terminais e a delimitação entre estas células e o estrato intermédio. Surgem também na porção infra-nuclear dos ameloblastos e no estrato intermédio os glóbulos arredondados. Notamos também a borda estriada mencionada por PINDBORG & WEINMANN (1959) e WARSHAWSKY & SMITH (1974), que surge na extremidade distal dos ameloblastos após o término da formação do esmalte e que desaparece quando estes se tornam ainda mais reduzidos em altura, adquirindo forma cubóide.

Notamos que o estrato intermédio muda de forma e prolifera com o término da formação do esmalte, dando origem a um epitélio escamoso estratificado e quando isto ocorre, parecem estar ausentes o epitélio externo e o retículo estrelado, não se notando mais a sua presença. O órgão do esmalte fica então reduzido a duas camadas: o estrato intermédio e a camada ameloblástica. Estas observações são semelhantes às descritas por JOHNSON & BEVELANDER (1956 e 1957). HUNT (1959) ,

HUNT & PAYNTER (1963), e DIAB, STALLARD e ZANDER (1966).

Constatamos que o diafragma radicular foi a primeira estrutura responsável pelo desenvolvimento das raízes a se formar, adquirindo uma posição horizontal e estreitando a ampla abertura cervical do germe dental, o que também foi observado por SICHER (1942 b) e GAUNT, OSBORN e TEN CATE (1971). Observamos que o diafragma radicular neste estágio de desenvolvimento apresenta-se formado por três camadas de células do órgão do esmalte: epitélio interno, estrato intermédio e epitélio externo. Isto coincide com as observações de GRANT & BERNICK (1971), feita neste mesmo estágio de desenvolvimento.

Com o ulterior desenvolvimento do germe dental, desaparece a camada média formada pelo estrato intermédio e a bainha radicular de HERTWIG se forma, apresentando duas camadas de células, que são contínuas com as do diafragma radicular e são formadas pelo epitélio interno e o epitélio externo. Estes resultados assemelham-se aos descritos por ROSE (1891) e DIAMOND & APPLEBAUM (1942) em humanos e VON BRUNN (1891). SICHER (1942 b) e PAYNTER & PUDY (1958) em ratos.

Ainda foi constatado que, com a formação da dentina radicular pelos odontoblastos, a bainha radicular de HERTWIG perde a sua continuidade e sua relação íntima com a superfície da raiz, como descreveu BHASKAR (1978). Como a sequência de sua proliferação e destruição é muito rápida, isto explica o fato dela não poder ser notada como uma camada contínua sobre a superfície da raiz em desenvolvimento.

V- CONCLUSÕES

Observando a hístoarquitetura das células do órgão do esmalte do primeiro molar superior do camundongo, no período compreendido entre as idades de recém-nascido (zero dias) e 18 dias, idade em que o dente emergiu na cavidade bucal, concluímos:

1- Antes da formação do esmalte, o órgão do esmalte é invadido por capilares sanguíneos vindos do saco dental.

2- Com a formação da pré-dentina, o epitélio começa a se diferenciar em ameloblastos.

3- As células do estrato intermédio, situadas adjacentes aos ameloblastos não formadores, apresentam a forma achatada.

4- As células do estrato intermédio, situadas adjacentes aos ameloblastos formadores, possuem a forma cuboide.

5- Após o término da formação do esmalte, o epitélio externo e o retículo estrelado parecem estar ausentes e o órgão do esmalte fica reduzido a duas camadas de células: a camada do estrato intermédio e a camada ameloblástica.

6- O diafragma radicular é a primeira porção da bainha radicular de HERTWIG a se formar.

7- A bainha radicular de HERTWIG é formada por somente duas camadas de células do órgão do esmalte: o epitélio interno e o epitélio externo do órgão do esmalte.

VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDISON, W.H.F.; APPLETON, J.L. The struture and growth of the incisor teeth of the albino rat. J. Morph., 26:43, 1915.
- ADDISON, W.H.F.; APPLETON, J.L. On the development of the ameloblasts of the molars of the albino rat, with especial reference to the enamel-free areas. Anat. Rec., 21:43, 1921.
- ADDISON, W.H.F.; APPLETON, J.L. The vascularity of the enamel-organ in the developing molar of the albino rat. Amer. J. Anat., 31:161, 1922.
- BERNICK, S. Vascular supply to the developing teeth of rats. Anat. Rec., 137:141, 1960.
- BERNICK, S.; LEVY, B.M. Studies on the biology of marmosets. I- Development of bifurcation of multirooted teeth in marmosets (*Callithrix Jacchus*). J. Dent. Res., 47:21, 1969.
- BHASKAR, S.N. Histologia e embriologia oral de Orban. 8ª edição, Porto Alegre. Editora Artes Médicas, Ltda. 1978. Cap. 2.
- BLUMEN, G. Aspectos da formação e maturação da matriz orgânica do esmalte em molares de cobaia, *Cavia porcellus*, L., estudados radioautograficamente. Tese de Doutorado, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1970.
- COHN, S.A. Development of the molar teeth in the albino mouse. Amer. J. Anat., 101:295, 1957.
- DIAB, M.A.; STALLARD, R.E. A study of the relationship between epithelial root sheath and root development. Periodontics, 3:10, 1965.

DIAB, M.A.; STALLARD, R.E.; ZANDER, H.A. The life cycle of the epithelial element of the developing molar. Oral Surg., Oral Med. & Oral Path., 22:241, 1966.

DIAMOND, M.; APPLEBAUM, E. The epithelial sheath: histogenesis and function. J. Dent. Res., 21:403, 1942.

GAUNT, W.A. The development of enamel and dentine on the molars of the mouse, with an account of the enamel-free areas. Acta Anat., 28:111, 1956.

GAUNT, W.A.; OSBORN, J.W.; TEN CATE, A.R. Advanced Dental Histology. Bristol. John Wright & Sons. 1971. Chap. 17.

GLASSTONE, S. The development of tooth germs in vitro. J. Anat., 70:260, 1936.

GLASSTONE, S. A Comparative study of the development in vivo and in vitro of rat and rabbit molars. Proc. Royal Soc., Series B 844, 126:315, 1938. IN: MARSLAND, E.A. A histological investigation of amelogenesis in rats. I- matrix formation. British Dental Journal, 91:251, 1951.

GLASSTONE, S. Vascularization of enamel organ in the rabbit and some rodents. Odont. Tidskr., 70:80, 1962. IN: MILLES, A.E.W. Structural and Chemical Organization of Teeth. New York and London. Academic Press. 1967. Chap.5.

GRANT, D.; BERNICK, S. Morphodifferentiation and structure of HERTWIG's root sheath in the cat. J. Dent. Res., 50:1580, 1971.

HANN, W.E. The capacity of developing tooth germ elements for self-differentiation when transplanted. J. Dent. Res., 20:5, 1941.

- HUGGINS, C.B.; MCCARROL, H.R.; DAHLBERG, A.A. Transplantation of tooth germ elements and the experimental heterotopic formation of dentin and enamel. J. Exper. Med., 60: 199, 1934.
- HUNT, A.M. A description of the molar teeth and investing tissues of normal guinea pigs. J. Dent. Res., 38:216 , 1959.
- HUNT, A.M.; PAYNTER, K.J. The role of cells of the stratum intermedium in the development of the guinea pig molar. Arch. Oral Biol., 8:65, 1963.
- JOHNSON, P.L.; BEVELANDER, G. Stratum intermedium as the primordium of the epithelial attachment. Anat. Rec., 125: 570, 1956.
- JOHNSON, P.L.; BEVELANDER, G. The role of the stratum intermedium in tooth development. Oral Surg., Oral Med., & Oral Path., 10:437, 1957.
- JUMP, E.B. Vascularity of the human enamel organ. J. Dent. Res., 17:505, 1938.
- KINGERY, H.M. The blood supply of the enamel organ in developing molar teeth of mammals. Amer. J. Anat., 33:175 , 1924.
- LEFKOWITZ, W.; BODECKER, C.F.; MARDFIN, D.F. Odontogenesis of the rat molar. J. Dent. Res., 32:749, 1953.
- LUFT, J. H. Improvement in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Citol., 9:409, 1961.
- MAHN, R. Morph. Jb., 16:652, 1890. IN: GAUNT, W.A. The

development of enamel and dentine on the molars of the mouse, with an account of the enamel-free areas. Acta Anat., 28:111, 1956.

MARSLAND, E.A. A histological investigation of amelogenesis in rats. I- Matrix formation. British Dental Journal., 91:251, 1951

MARSLAND, E.A. A histological investigation of amelogenesis in rats. II- Maturation. British Dental Journal, 92:109, 1951

MILLONING, G. Advantages of a phosphate buffer for osmium tetroxide solutions in fixation. J. Appl. Phys., 32:1637, 1961

PAYNTER, K.J.; PUDY, G. A study of the structure, chemical nature, and development of cementum of the rat. Anat. Rec., 131:233, 1958.

PINDBORG, J.J.; WEINMANN, J.P. Morphologic and functional correlations in the enamel organ of the rat incisor during amelogenesis. Acta Anat., 36:367, 1959.

ROSE, C. Archives F. Mikr. Anat., 38:470, 1891. IN: DIAMOND, M.; APPLEBAUM, E. The epithelial sheath: histogenesis and function. J. Dent. Res., 21:403, 1942.

SICHER, H. Tooth eruption: the axial movement of continuously growing teeth. J. Dent. Res., 21:201, 1942.

SICHER, H. Tooth eruption: axial movement of teeth with limited growth. J. Dent. Res., 21:395, 1942.

VON BRUNN, A. Archives F. Mikr. Anat., 38:142, 1891. IN: DIAMOND, M.; APPLEBAUM, E. The epithelial sheath: histogenesis and function. J. Dent. Res., 21:403, 1942.

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

WARSHAWSKY, H.; SMITH, C.E. Morphological classification of rat incisor ameloblasts. Anat. Rec., 179:423, 1974.

WASSERMANN, F. Analysis of the enamel formation in the continuously growing teeth of normal and vitamin C deficient guinea pigs. J. Dent. Res., 23:463, 1944.

VII- ILUSTRAÇÕES

ra 1 - Camundongo com zero dias - Observa-se as figuras de mitose no epitélio interno (E I), a forma cuboide ou achatada das células do estrato intermédio (S I), as pontes citoplasmáticas unindo as células do estrato intermédio (S I), retículo estrelado (S R) e epitélio interno (E I).

Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

ra 2 - Camundongo com zero dias - Observa-se as pontes citoplasmáticas unindo as células do retículo estrelado (S R) entre si, com as do epitélio externo (E E) e estrato intermédio (S I).

Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

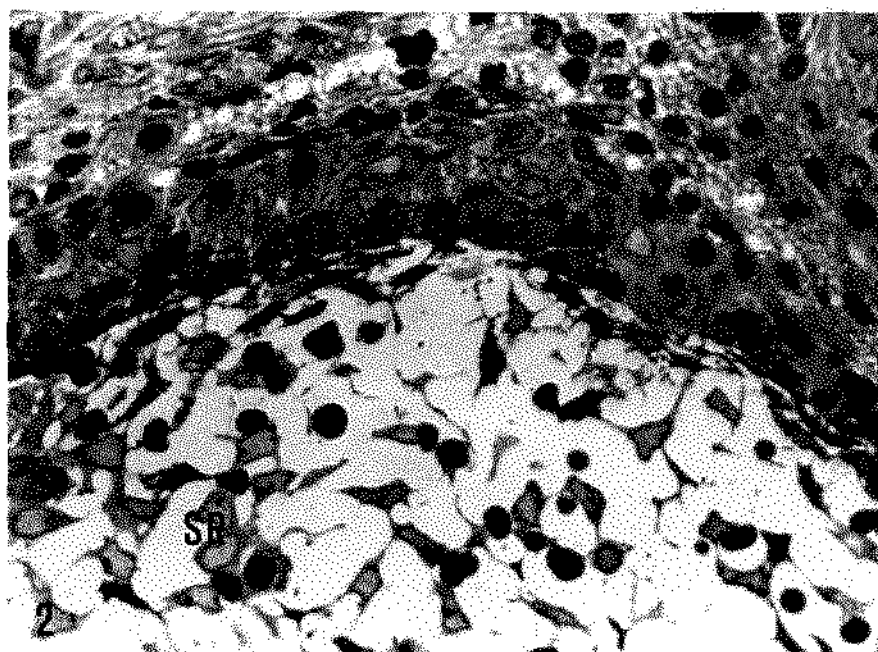
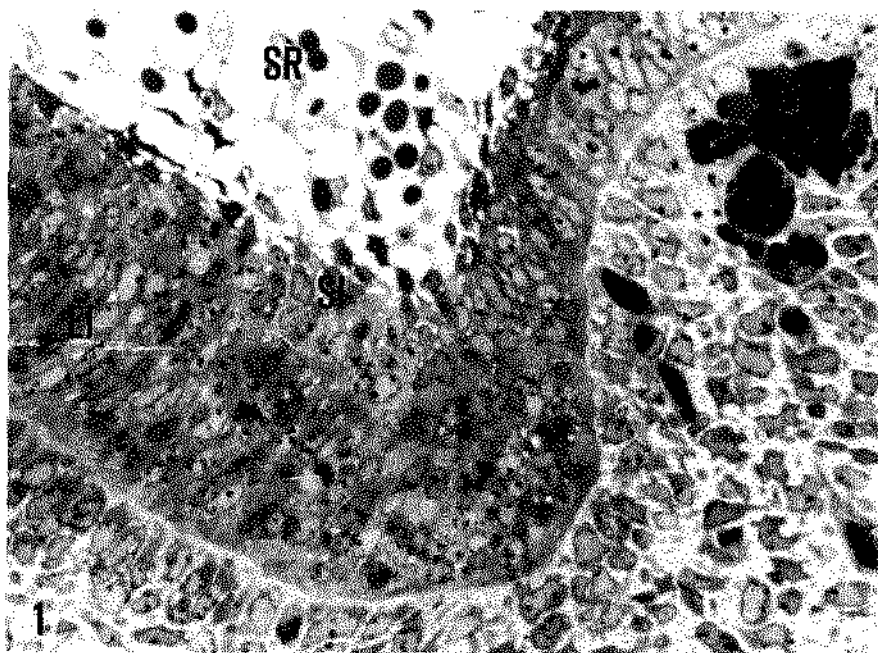


Figura 3 - Camundongo com zero dias - nota-se o epitélio ex
terno (E E) constituído de células cubóides na re
gião da curvatura cervical.

Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

Figura 4 - Camundongo com 1 dia de vida - observa-se que o
estrato intermédio (S I) exhibe células de forma-
to cubóide com núcleos arredondados.

Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

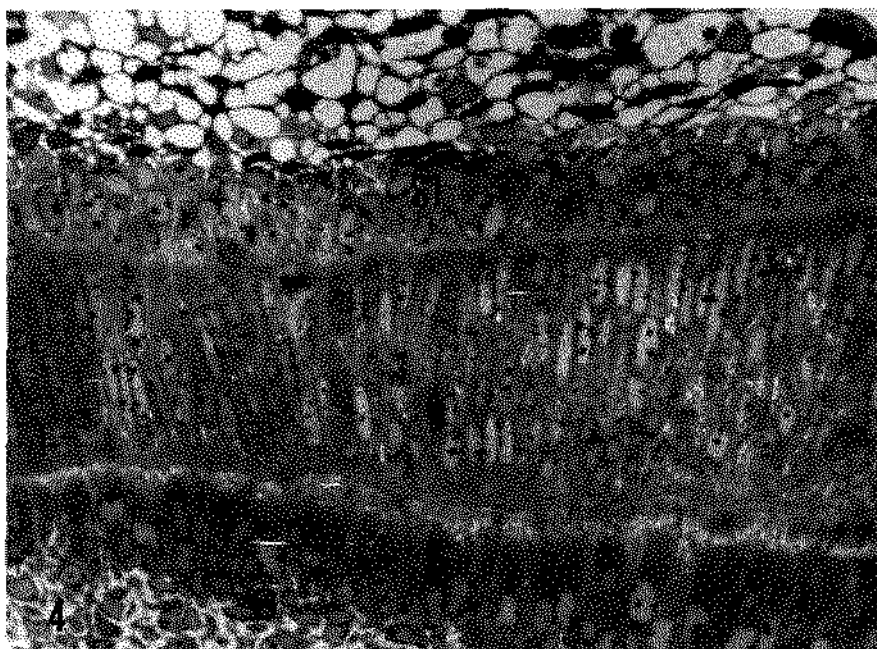
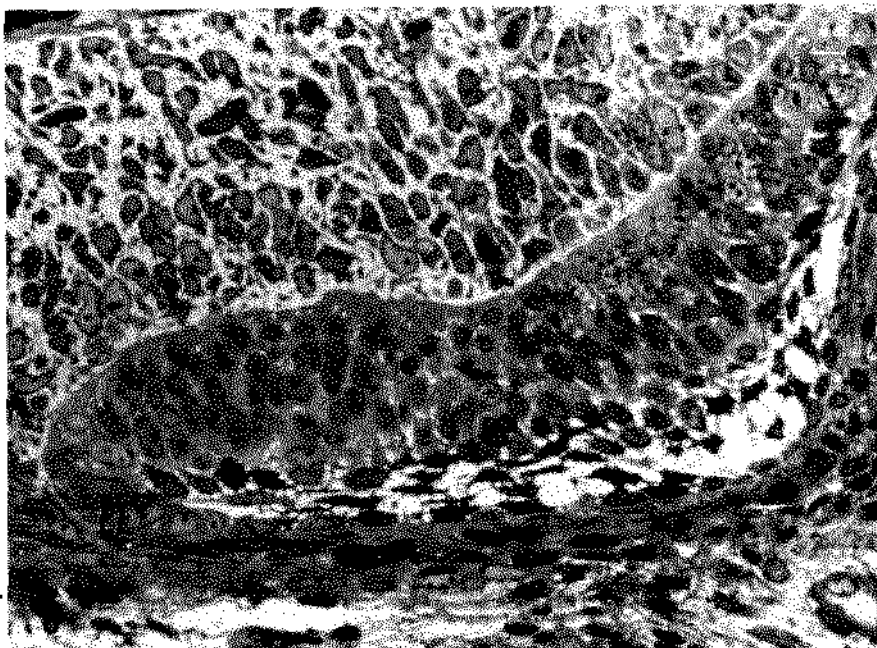


Figura 5- Camundongo com 2 dias de vida - nota-se as barras terminais (Seta) entre as paredes laterais dos ameloblastos (A) e os seus Processos de TOMES. Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

Figura 6- Camundongo com 2 dias de vida - O estrato intermédio (S I) apresenta uma fileira de células de forma cuboide. Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

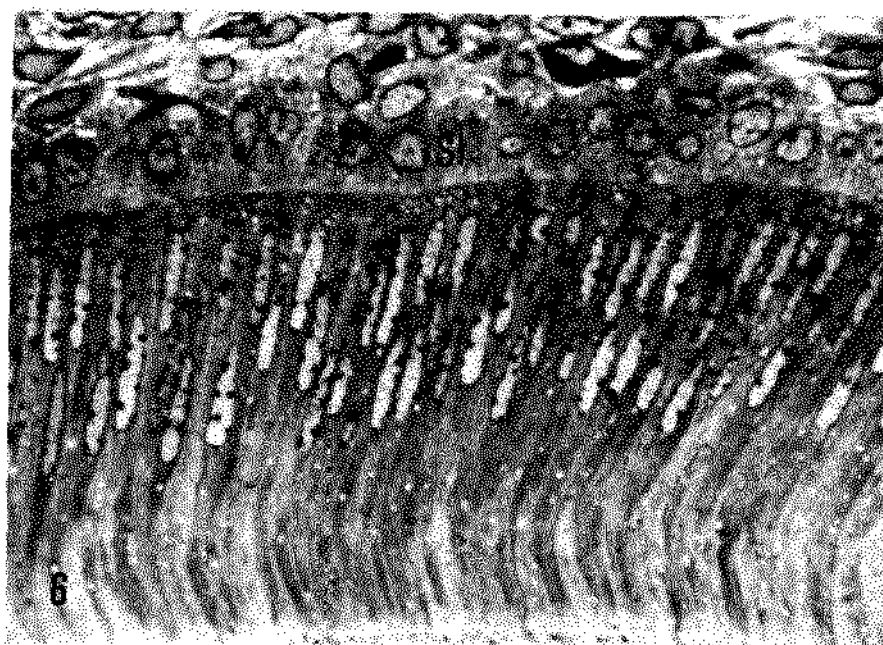
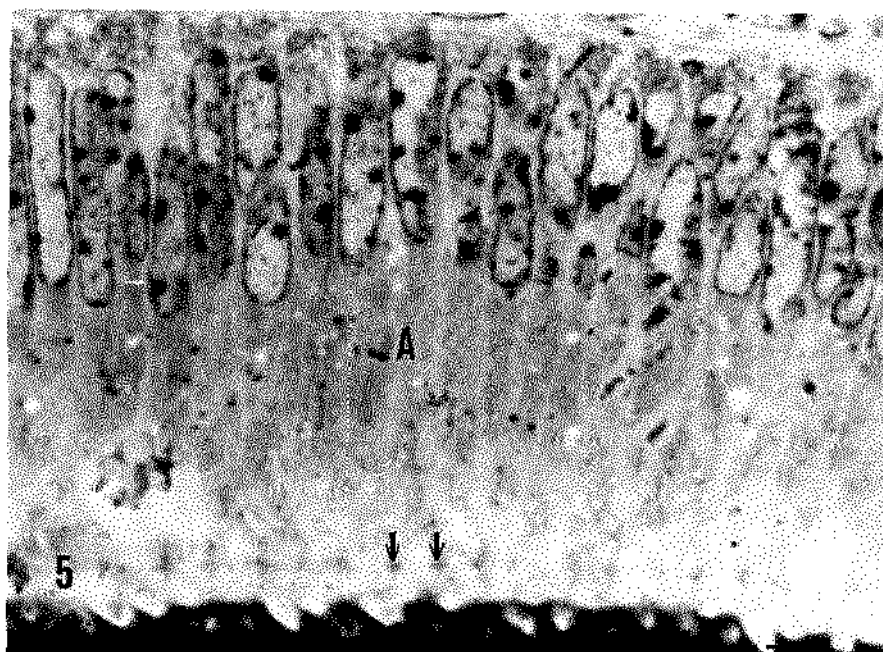


Figura 7- Camundongo com 3 dias de vida - observa-se que não há formação de esmalte e os ameloblastos não formadores (A) estão em contacto com a dentina.
Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

Figura 8- Camundongo com 3 dias de vida - o estrato intermédio (S I) adjacente aos ameloblastos não formadores (A) apresenta células de forma achatada.
Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

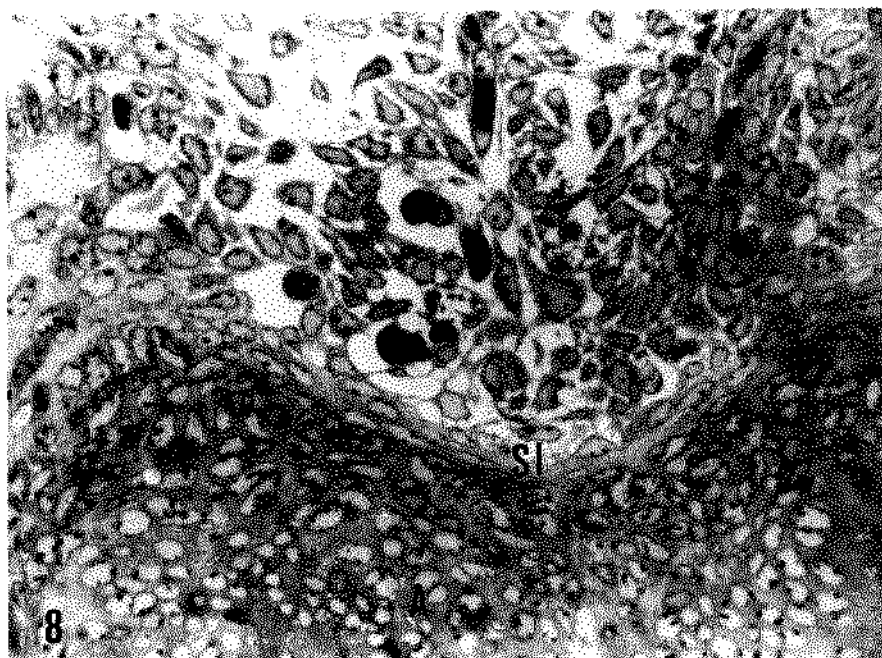
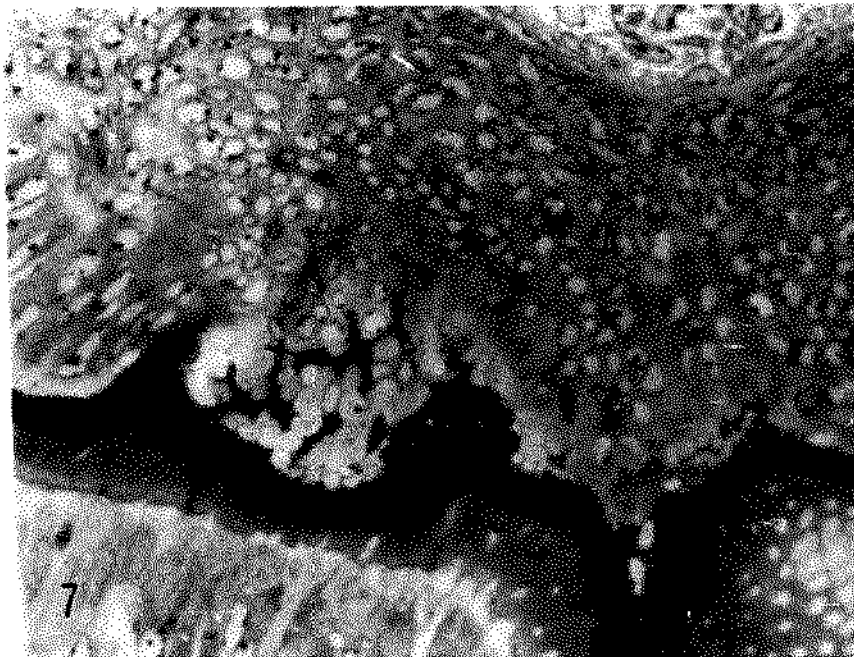


Figura 9- Camundongos com 4 e 5 dias de vida- o diafragma ra
dicular formou-se e exhibe 3 camadas de células do
ôrgão do esmalte: epitêlio interno (E I), estrato
intermédio (S I) e epitêlio externo (E E).
Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

Figura 10- Camundongo com 6 dias de vida - observa-se a bainha
radicular de HERTWIG, com duas camadas de células
do ôrgão do esmalte: o epitêlio interno e o epitê-
lio externo que são contínuas com as do diafragma
radicular.
Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

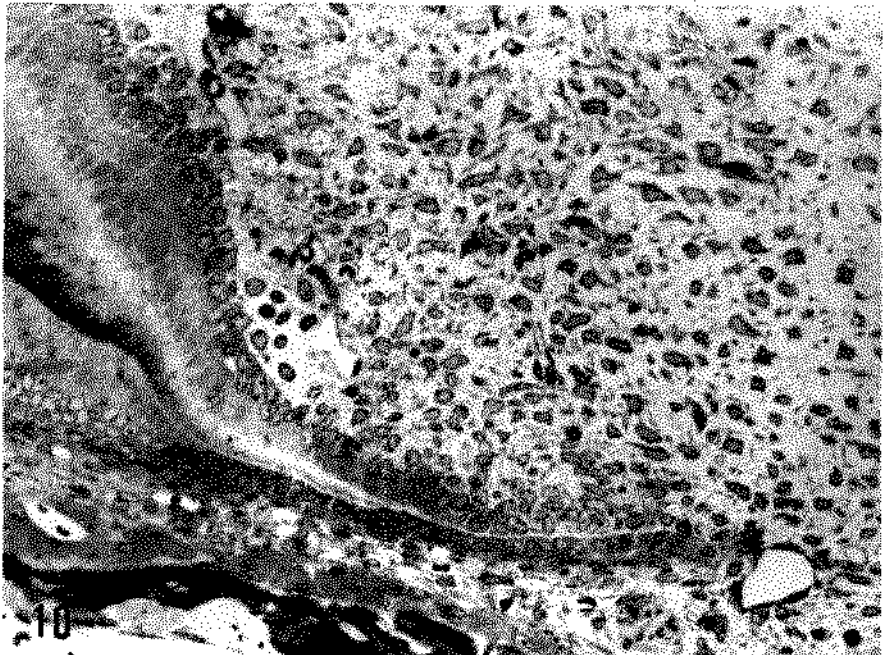


Figura 11- Camundongo com 6 dias de vida - nota-se o diafragma radicular.

Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

Figura 12- Camundongo com 7 dias de vida - os ameloblastos (A) terminaram a produção de esmalte no alto das cúspides. Observa-se a presença de grânulos arredondados (Seta) na porção infra nuclear dos ameloblastos (A) e estrato intermédio (S I).

Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

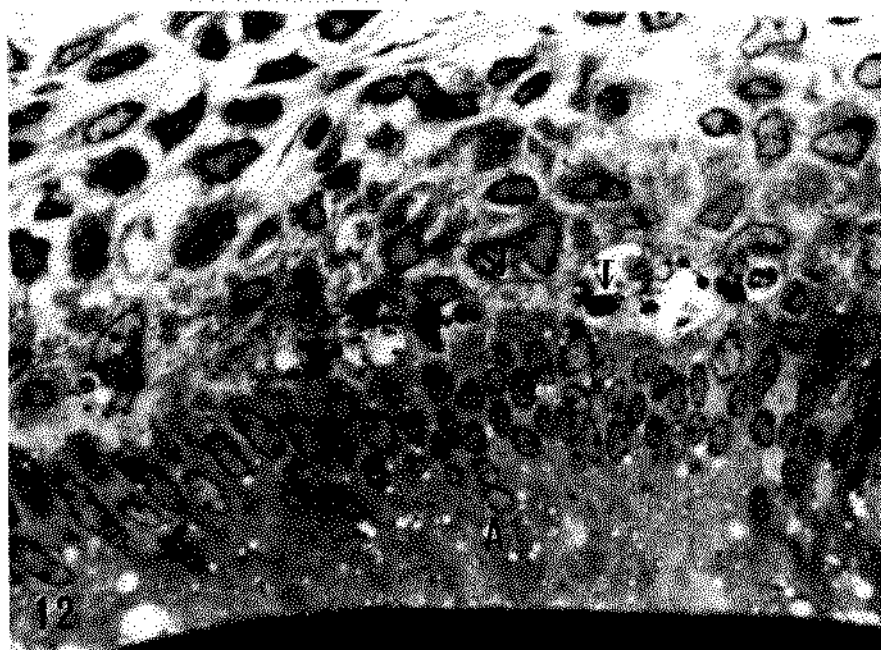
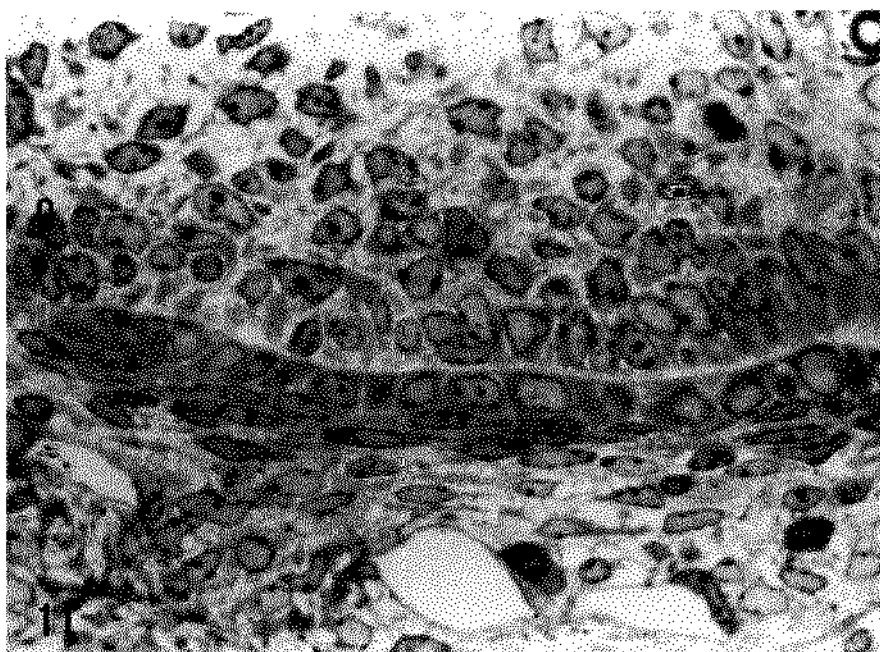


Figura 13- Camundongo com 9 dias de vida- Observa-se que as células do estrato intermédio (S I) se apresentam de forma estrelada.

Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

Figura 14- Camundongo com 9 dias de vida - a bainha radicular de HERTWIG está rompida.

Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

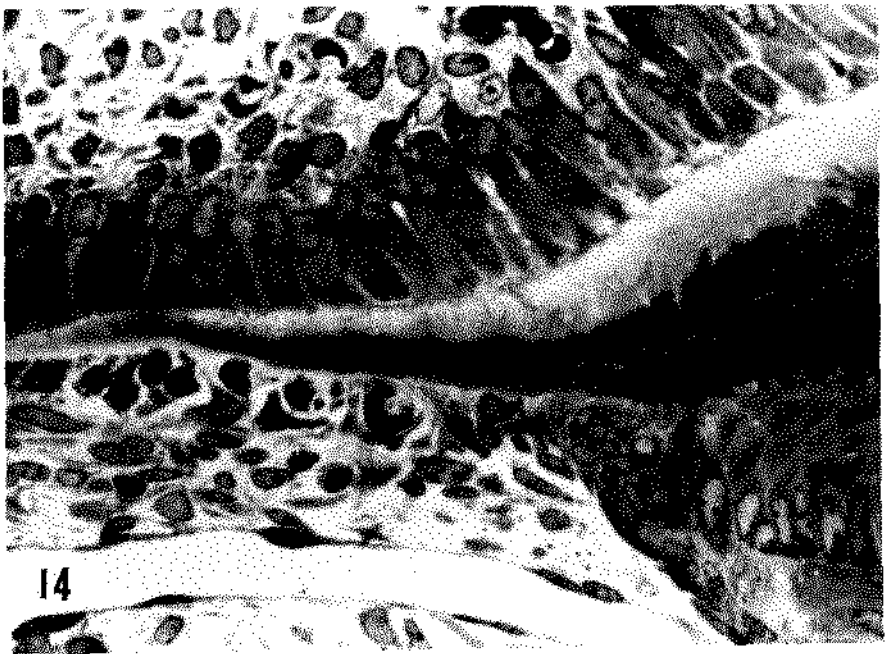
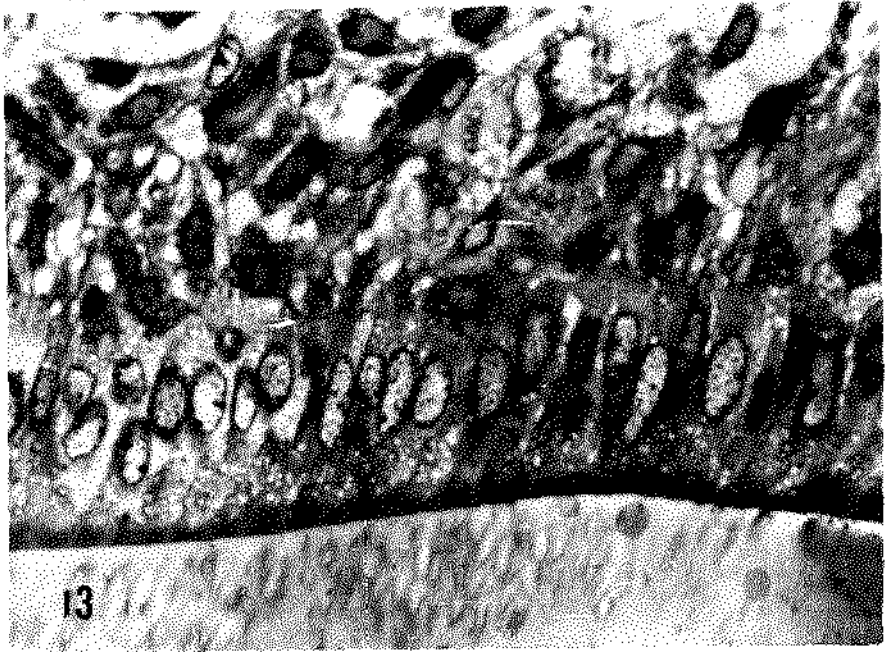


Figura 15- Camundongo com 9 dias de vida - nota-se que o diafragma radicular apresenta duas camadas de células, não sofrendo alterações com o rompimento da bainha radicular de HERTWIG.
Coloração Azul II + Azul de Metileno. Aumento

Figura 16- Camundongo com 11 dias de vida - o retículo es-
treçado (S R) é encontrado somente acima dos ame-
loblastos (A) não formadores de esmalte.
Coloração Azul II + Azul de Metileno. Aumento

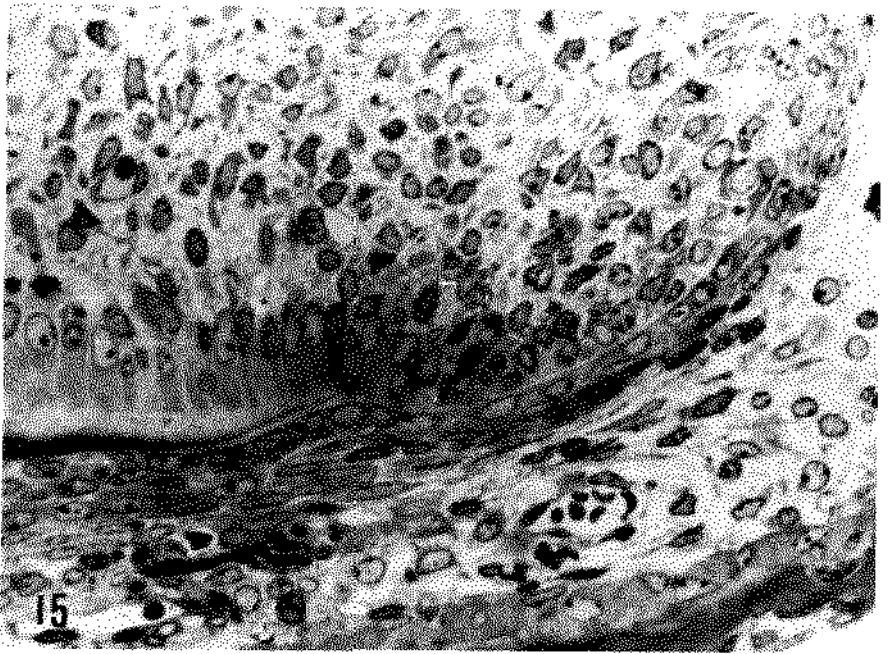


Figura 17- Camundongos com 12 e 13 dias de vida - nesta idade parece que somente o estrato intermédio (S I) e os ameloblastos (A) são os únicos remanescentes do órgão do esmalte, na coroa. Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

Figura 18- Camundongos com 14 e 15 dias de vida - observa-se que os ameloblastos (A) não formadores de esmalte confundem-se com as células do estrato intermédio (S I). Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

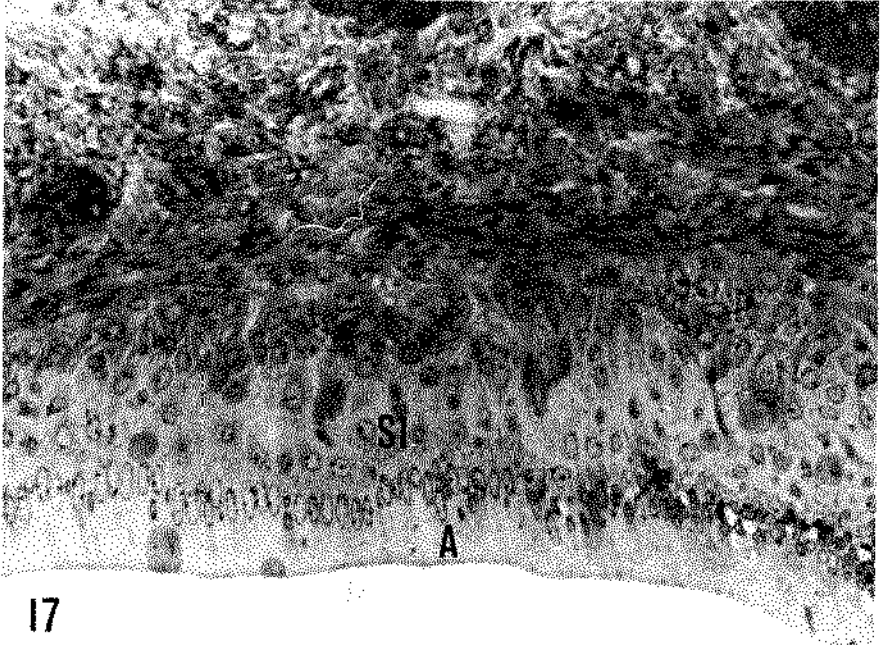


Figura 19- Camundongos com 16 e 17 dias de vida - Os ameloblastos (A) adquiriram forma cuboide.
Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

Figura 20- Camundongo com 18 dias de vida - Os ameloblastos (A) permanecem aderidos à superfície do esmalte que ainda não emergiu na cavidade bucal.
Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

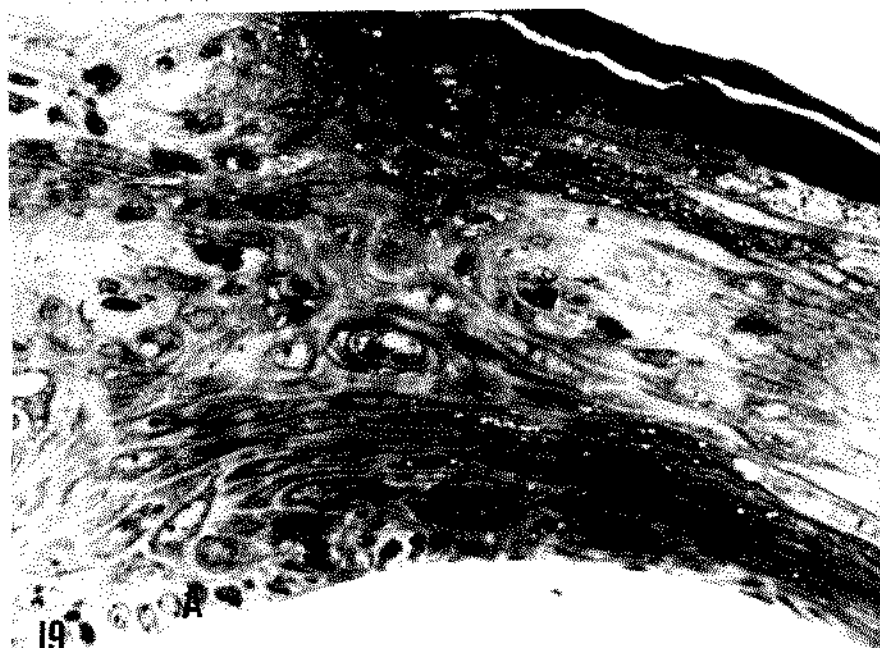


Figura 21- Camundongo com 18 dias de vida - O diafragma ra
dicular está reduzido em nº de células, mas con-
tínua exibindo as suas duas camadas celulares.
Coloração Azur II + Azul de Metileno. Aumento

