

MARIA DO CARMO PANHOZA TSE

**Contribuição ao estudo dos efeitos da hemidescorticação  
sobre a Tireóide, o desenvolvimento de dentes e mandíbula,  
erupção dental e incorporação de  $^3\text{H}$ -Glicina  
no ligamento periodontal.**

Orientador: Prof. Dr. José Merzel

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

*Est. exemplar  
está corrigido de  
acordo com a  
Resolução CC PG 036/83  
de 22/10/86*

PIRACICABA

1986

Aos meus Pais, *PAULO* e *VITALINA*, pelos ensinamentos que me  
nortearam a vida.

Aos meus irmãos:

*JOÃO ANTONIO*

*PAULO ROBERTO*

*EMILIO LUIZ*

com carinho.

Ao *HERO*, amigo e companheiro e aos  
nossos filhos *HERO LEANDRO*, *MARCOS*  
*LIVIO* e *PAULO RODOLFO* minha grati-  
dão.

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

Ao Professor Doutor *JOSÉ MERZEL*, Professor Titular do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela orientação deste trabalho.

Ao Professor Doutor GILBERTO D' ASSUNÇÃO FERNANDES, pela  
co-orientação deste trabalho.

À Professora Doutora DARCY DE OLIVEIRA TOSELLO, pelo coo-  
peração no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Professor Doutor CARLOS ROBERTO PADOVANI, do Departamen-  
to de Bioestatística do IBBMA - UNESP - BOTUCATU, pe-  
la realização de parte da análise estatística.

À Professora Doutora SONIA VIEIRA, do Departamento de Odon-  
tologia Social da FOP, por parte dos trabalhos esta-  
tísticos.

À Sra. ENILZE DE SOUZA NOGUEIRA VOLPATO, Bibliotecária da  
UNESP - BOTUCATU, pela revisão bibliográfica.

Ao Sr. JOSÉ CARLOS COSTA CARREIRA, da UNESP - BOTUCATU, pe-  
los serviços de impressão.

À Sra. SONIA BRASÍLIA RIBEIRO CICCONE, Secretária do Depar-  
tamento de Morfologia do IBBMA - UNESP - BOTUCATU ,  
pela gentileza com que sempre me atendeu durante a  
confecção da tese.

Ao Sr. SILVIO GARCIA MANOEL, da Seção de Fotografia da  
UNESP - BOTUCATU, pela documentação fotográfica.

Aos Srs. MESSIAS S. DE LIMA e IVO DE PAULA TOLEDO, pela  
cooperação nos trabalhos práticos.

À Sra. ODALÉIA BRASIL MENEGON, da UNESP - BOTUCATU, pela  
colaboração durante a realização da fase experimen-  
tal.

Aos Professores e colegas do Departamento de Morfologia da  
FOP - UNICAMP, pela ajuda recebida durante o Curso  
de Pós-Graduação.

Aos Professores e colegas do Departamento de Morfologia do  
IBBMA - UNESP - BOTUCATU, pelo apoio e incentivo.

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo  
(FAPESP) - Proc. 81/0566 -1 e ao Conselho Nacional  
de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)-  
Proc. 40.3421/81, pelos auxílios financeiros recebid  
dos.

Aos caros colegas do Curso de Pós-Graduação, pela amizade  
e convivência.

## Í N D I C E

INTRODUÇÃO .....	01
MATERIAL E MÉTODOS .....	04
RESULTADOS .....	11
1. Experimento I .....	12
2. Experimento II .....	12
3. Experimento III .....	18
DISCUSSÃO .....	21
RESUMO .....	29
SUMMARY .....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	35
APÊNDICE .....	39

I - INTRODUÇÃO

## I - INTRODUÇÃO

A influência de alguns hormônios sobre os processos de crescimento e erupção dental é bastante conhecida. Neste particular são clássicos os trabalhos de BAUME et alii (1954, I, II, III) que mostraram em ratos os efeitos da tireoidectomia, da hipofisectomia e da reposição do hormônio de crescimento e tiroxina sobre os citados processos. Em relação à erupção dental os autores evidenciaram o efeito bem mais específico da tiroxina, que quando falta provoca um considerável retardo no processo. DOMM & WELLBAND (1958 e 1961) mostraram uma ação sinérgica da tireóide e da adrenal. A ablação de uma ou de outra glândula resultou numa diminuição da taxa de erupção de incisivos de ratos, diminuição que foi maior quando as duas glândulas foram removidas e em qualquer dos casos somente a administração de cortisona aumentou a taxa a níveis maiores que os controles.

A hemidescorticação é um procedimento em que um hemisfério cerebral é aspirado, envolvendo a remoção de todo o neo e o arquicortex, inclusive o complexo amigdalóide, os núcleos septais e o bulbo olfatório, e que tem sido usado como modelo para estudos da regulação neuroendócrina (ANTUNES-RODRIGUES et alii, 1985). A cirurgia provoca uma alteração do eixo hipotálamo - hipófise - tornando-o mais ou menos sensível a estímulos que promovem a liberação de hormônios hipofisários. COVIAN et alii, (1959) mostraram o efeito da hemidescorticação sobre várias glândulas endócrinas e tecidos entre os quais a tireóide que diminui de peso e a adrenal que diminui nos machos e aumenta nas fêmeas. NONAKA (1978) verificou que em condições basais, o eixo hipotálamo - hipófise - tireóide nos animais hemidescorticados não difere dos controles, mas se mostrou menos sensível aos mecanismos de liberação do hormônio estimulante da tireóide (TSH) quando os animais foram submetidos ao frio ou a dieta pobre em iodo. BOAVENTURA (1981) mostrou que a hemidescorticação provocou um retardo na velocidade de erupção de incisivos de ratos e que voltou ao normal após a administração do fator liberador do hormônio tireotrófico (TRH).

Está suficientemente comprovado que a erupção dental está associada ao ligamento peridontal (LP) e que in-

depende do crescimento do dente, pois em incisivos decrescimento contínuo a erupção continua normalmente após a ressecção de sua porção apical ou embrionária (BERKOVITZ & THOMAS, 1969). O mecanismo de erupção é ainda objeto de controvérsia particularmente no que se refere à força geradora do movimento (MOXHAM & BERKOVITZ, 1982) porém no conjunto do processo que parece ser multifatorial, tanto os fibroblastos como as fibras colágenas tem, ao que tudo indica, um papel importante (BEERTSEN et alii, 1974; ZAJICEK, 1974; MICHAELI, et alii, 1979; MOXHAM & BERKOVITZ, 1982 e 1983; BELLOWS et alii, 1983).

O metabolismo do colágeno no LP é dos mais ativos no organismo, superior a de outros tecidos como osso alveolar, cemento, gengiva e pele, segundo indicam os vários estudos de incorporação da  $^3\text{H}$ -prolina ou  $^3\text{H}$ -glicina através de radioautografia (CARNEIRO & FAVA DE MORAES, 1965; SKOUGAARD et alii, 1970) ou de métodos bioquímicos (ORLOWSKI, 1976; SODEK et alii, 1977; SODEK, 1977) que mostraram que tanto a biossíntese como a renovação são respectivamente mais intensa e mais rápida. BEERTSEN (1973) e BEERTSEN & EVERTS (1977) observaram que a síntese e renovação do colágeno ocorrem em todo o LP e é mais intensa na zona apical do incisivo e também nas regiões relacionadas com o dente, ao passo que a região junto ao osso alveolar apresenta uma atividade mais moderada. Tanto ORLOWSKI (1976) como SODEK et alii (1977) verificaram também um elevado metabolismo de outras proteínas que não o colágeno no LP.

Com exceção dos trabalhos de RIPPIN ( 1976 e 1978 ) que estudou a renovação do colágeno através da incorporação de  $^3\text{H}$ -prolina e radioautografia, no LP de molares de ratos em normo, hiper e hipofunção, mostrando que na região da crista alveolar, nos dentes em hipofunção, a renovação se acelera - não foi encontrado nenhum outro estudo sobre o metabolismo proteico em situações de erupção alterada.

O objetivo do presente trabalho foi o de tentar caracterizar melhor a possível disfunção tireoidiana provocada pela hemidescorticação, estudando os níveis séricos de triiodotironina ( $\text{T}_3$ ) e tiroxina ( $\text{T}_4$ ), o desenvolvimento das mandíbulas e incisivos, a erupção dental, bem como o metabolismo proteico do LP, em erupção dental alterada, através da incorporação de  $^3\text{H}$ -glicina.

II - MATERIAL E MÉTODOS

## II - MATERIAL DE MÉTODOS

Cento e quinze ratos machos (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*), com vinte e cinco dias de idade, provenientes do Biotério Central da UNESP - Campus de Botucatu foram divididos em dois lotes.

O primeiro lote com sessenta animais, pesando em média oitenta e duas gramas, sendo cinquenta animais destinados para hemidescorticação e dez animais para controle, foi usado para o Experimento I.

A técnica da hemidescorticação foi feita aspirando-se as estruturas nervosas, com auxílio de uma bomba de aspiração (COVIAN & HOUSSAY, 1955).

Os animais que serviram para controle, foram operados simuladamente, onde o procedimento cirúrgico foi idêntico ao do grupo experimental com exceção da remoção das estruturas nervosas.

No período pós-operatório, durante cinco dias os animais hemidescorticados receberam diariamente por via intraperitoneal 1 ml/100 g de soro fisiológico e 1 ml/100 g da solução nutritiva de Ringer-Locke. Receberam ainda a dose de 0,1 ml/100 g de Benzetacil em cinco dias alternados. Neste período a alimentação para os dois grupos foi a base de polenta com caldo Knorr, juntamente com água fornecida "ad libitum".

Este tipo de cirurgia apresentou uma alta taxa de mortalidade na primeira semana após a operação, assim, dos cinquenta animais hemidescorticados sobreviveram apenas sete, e foram usados também somente sete animais do grupo controle.

Os animais tanto do grupo controle (C), como do grupo hemidescorticado (HD) foram pesados semanalmente e aos 35 dias após a cirurgia com os animais HD perfeitamente recuperados do trauma cirúrgico foi iniciada a marcação e mensuração dos incisivos superiores, conforme técnica descrita por BAUME et alii (1954 I), modificada por nós. Os ratos foram levemente anestesiados com éter sulfúrico e com o auxílio de um disco de carborundum marcava-se através de um sulco, o incisivo superior direito, na face vestibular à al

tura da papila e media-se com um compasso de ponta seca a distância entre a margem gengival e a marca (distância que foi chamada de "X"). Esta medida foi transferida para uma lâmina coberta com fita durex, por leve pressão das pontas do compasso. Estas medidas foram repetidas 5 vezes. Sob um microscópio, através de uma ocular quadriculada, adequadamente calibrada, era feita a leitura da distância entre as duas marcas.

Uma semana depois, no mesmo horário, fazia-se a medida entre a marca feita na semana anterior e a margem gengival (agora distância  $X_1$ ). Em seguida fazia-se nova marca ao nível da papila, estabelecendo-se a nova distância X. A taxa de erupção semanal foi dada pela diferença entre  $X_1$  e X ( $X_1 - X =$  erupção semanal).

As medidas de  $X_1$  também foram repetidas 5 vezes. Tirava-se uma média das cinco leituras e obtinha-se então a erupção dental do incisivo durante aquela semana. Este procedimento foi repetido durante oito semanas.

Após este período os animais foram sacrificados por decapitação e cerca de 3 ml de sangue, colhido das carótidas, em tubo de ensaio através de um funil, foi centrifugado por vinte e cinco minutos, a 1500-2000 rpm. O soro, separado do plasma foi coletado com auxílio de uma pipeta Pasteur, para dosagem de  $T_3$  (MITSUMA et alii, 1971) e  $T_4$  (CHOPRA, 1972), através da técnica de radioimunoensaio.

Desses mesmos animais as glândulas tireóides direita e esquerda foram removidas e pesadas juntas, em balança de torção.

Após os procedimentos acima, as cabeças de todos foram maceradas em água por duas semanas e os incisivos superiores e inferiores e as hemimandíbulas foram separados, limpos e pesados em balança de torção.

O comprimento dos incisivos foi medido com o auxílio de uma régua, encostando-se uma extremidade do lado convexo do dente no ponto zero da régua fazendo-se uma marca, e com a ajuda da ponta do lápis, girava-se o dente cuidadosamente até a outra extremidade onde se fazia outra marca. Com estes dois pontos, agora em linha reta, fazia-se a leitura de um ponto a outro.

O segundo lote, com cinquenta e cinco animais, pesando em média cinquenta e seis gramas, foi igualmente dividido em dez C e quarenta e cinco HD e serviu para os experimentos II e III.

Os ratos foram hemidescorticados segundo a técnica anterior descrita, procedendo-se da mesma maneira no período pós-operatório.

Dos quarenta e cinco animais HD vinte e oito sobreviveram e dos dez C, sobreviveram nove.

Os animais de ambos os grupos foram pesados em intervalos semanais e, aos 35 dias, iniciaram-se as medidas da erupção dental, dos incisivos superiores, conforme técnica já descrita anteriormente. Este procedimento foi repetido durante doze semanas.

Dos vinte e oito animais hemidescorticados sobreviventes foram sorteados doze animais, os quais mais os nove animais controle receberam por via intraperitoneal, 2,5  $\mu$ Ci/g de peso, de glicina tritiada (A.E. = 12,4 Ci/mmol, Amersham, USA).

Os animais foram sacrificados em intervalos de tempo de vinte minutos (2 C e 3 HD), uma hora (3 C e 3 HD), duas horas (2 C e 3 HD) e quatro horas (2 C e 3 HD) após a administração do composto radioativo.

O sacrifício foi feito sob anestesia com éter, através de perfusão intracardíaca do fixador de KARNOVSKY (1965). (Solução de paraformaldeído a 2% e glutaraldeído a 2,5%, em tampão fosfato 0,2 M, pH 7.2).

As mandíbulas e maxilares foram cuidadosamente dissecadas, separadas em hemimaxilares e em hemimandíbulas e que retornaram à solução fixadora por mais 24 horas a 4°C, sendo em seguida lavadas com uma solução de tampão fosfato 0,1M e descalcificadas em EDTA a 4,13%, pH 7.4 (WARSHAWSKY & MOORE, 1967). As peças de quatro animais, dois C e dois HD, escolhidos ao acaso entre os animais sacrificados uma e quatro horas após a injeção de glicina tritiada, foram descalcificados em solução de ácido fórmico-citrato de sódio, para possibilitarem a digestão pela colagenase.

O grau de desmineralização foi testado a par-

tir do sétimo dia através da flexibilidade das mandíbulas e de pequenos cortes na porção incisal, usando lâminas de barbear novas. A desmineralização foi considerada completa quando o dente não oferecia resistência ao corte.

Após a descalcificação, as hemimandíbulas e maxilares contendo os incisivos foram lavadas com tampão fosfato 0,1M a 4°C, durante vinte e quatro horas.

Os hemimaxilares contendo os incisivos superiores foram processados para inclusão em parafina-celoidina, de acordo com o método de PETERFI (ROMEIS, 1928) e constituíram o experimento II.

Cortes de 7 µm de espessura para microscopia óptica, obtidos no sentido longitudinal do incisivo superior foram radioautografados pela técnica do "dipping" (KOPRIWA & LEBLOND, 1962) utilizando emulsão K-5 da Ilford. Foram perdidos os cortes de um animal HD, sacrificado 2 horas após a injeção.

Os cortes do material descalcificado em ácido fórmico-citrato de sódio foram também tratados com solução contendo colagenase a 0,1% (Serva) antes de serem cobertos com emulsão (CARNEIRO & LEBLOND, 1966).

Após trinta dias de exposição, os preparados foram revelados com solução D19B da Kodak durante quatro minutos, fixados com hipossulfito de sódio a 24%, por dez minutos, corados com hematoxilina-eosina e montados em bálsamo.

Para a contagem dos grãos de prata presentes no periodonto, esta estrutura foi dividida em quatro regiões: apical e incisal da face lingual onde o dente apresenta apenas dentina e cimento (regiões AD e ID) apical e incisal da face labial onde o dente apresenta-se revestido de esmalte (regiões AE e IE). Cada uma destas regiões foi subdividida em três sub-regiões: próxima à dentina ou ao esmalte (D), próxima ao osso alveolar (O) intermediária entre as duas anteriores (M). A contagem dos grãos de prata foi feita em cada sub-região das quatro regiões, em cinco áreas de 490 µm<sup>2</sup>, contando-se todos os grãos sobre fibroblastos e substância intercelular com auxílio de uma ocular equipada com retículo quadriculado.

Para o experimento III foram usados as hemimandíbulas dos animais injetados com glicina tritiada.

Sob lupa microscópica e com o auxílio de lâmina de barbear nova, de cada hemimandíbula desmineralizada, foram removidas e desprezadas a porção do osso posterior ao germe do incisivo e sua porção coronal. O restante foi seccionado em cinco segmentos de a, b, c, d e e no sentido incisivo-apical. O limite entre os segmentos e e d foi a face distal do 3º molar, entre o d e c foi o meio do 2º molar, entre o c e o b, foi a face proximal do 1º molar e entre o b e a foi o restante do material, dividido em metades aproximadamente iguais.

Em seguida os segmentos foram pós-fixados em tetróxido de ósmio ( $OsO_4$ ) a 1% em solução de tampão fosfato 0,1M pH 7.4, durante duas horas.

Em seguida, o material foi ligeiramente lavado com tampão fosfato, desidratado em soluções de concentrações crescentes de acetona, infiltrado e incluído em Poly-Bed 812 (LUFT, 1961) de modo a obter cortes longitudinais.

Devido ao grande número de blocos resultantes (420) após a avaliação quantitativa dos radioautogramas do experimento II foram selecionados apenas os blocos dos animais sacrificados uma e quatro horas. Estes blocos foram ainda subdivididos para melhor microtomia em metades lingual e labial e apenas os primeiros foram cortados, na espessura de 1  $\mu m$  em ultramicrotomo "Porter-Blum" MT-2 e montados em lâminas. As lâminas foram radioautografadas pela técnica do "dipping" (KOPRIWA & LEBLOND, 1962), utilizando emulsão K-5 da Ilford e expostas a 4°C.

Após sete semanas de exposição, as lâminas foram reveladas com solução D19B da Kodak, durante quatro minutos, fixadas em hipossulfito de sódio a 24%, por dez minutos, coradas com uma mistura de azul de toluidina e bórax a 1% por vinte minutos e montados com bálsamo.

A contagem dos grãos de prata presentes no ligamento periodontal foi feita em cada sub-região próxima à dentina ou ao esmalte (D), próxima ao osso alveolar (O) intermediária entre as duas anteriores (M), dos cinco segmentos em uma área de 490  $\mu m^2$  contando-se todos os grãos so-

bre fibroblastos e substância intercelular com auxílio de uma ocular equipada com retículo quadriculado, com um aumento de X800 em lente de imersão.

Os diferentes métodos estatísticos utilizados serão indicados no Apêndice.

III - RESULTADOS

### III - RESULTADOS

#### EXPERIMENTO I

Os animais hemidescorticados apresentaram um pós-operatório bastante complicado. Todos os animais nos primeiros dias após a cirurgia, assim que se recuperaram da anestesia, apresentaram prostração acentuada, movimentos descoordenados, perda de peso e uma alta taxa de mortalidade. Em vários experimentos pilotos, não incluídos neste trabalho, a mortalidade sempre superou a taxa de 50% na 1ª semana após a cirurgia. Os animais que sobreviveram à 1ª semana, em torno de 25-30%, recuperaram-se bem, ganhando peso, chegando em alguns lotes a se aproximar ou igualar ao peso médio dos animais controles.

Neste lote de animais, os dados sobre peso corporal, de mandíbulas, de incisivos, de tireóide, comprimento dos incisivos e dosagens de  $T_3$  e  $T_4$  estão resumidos na Tabela 1.

Como se pode constatar, em relação a todas as variáveis com exceção do peso corporal inicial, o grupo hemidescorticado apresentou valores mais baixos do que o controle, embora nem todas as diferenças sejam estatisticamente significantes. Nota-se pois que a operação produziu alterações patentes.

Em relação a erupção dos incisivos superiores, tanto nos animais deste experimento como do experimento II/III, o efeito da hemidescorticação foi bem menos acentuado. Aparentemente, conforme os dados da Tabela 2, em 2 casos a taxa média semanal de erupção nos animais operados foi maior que nos controles e em outros 2 menores, porém estas diferenças não foram estatisticamente significantes ou sua significância foi baixa.

#### EXPERIMENTO II

O objetivo inicial, para esta fase do trabalho, foi o de utilizar apenas os cortes obtidos do material (incisivos superiores) incluído em parafina, onde num único cor

TABELA 1 - Médias do peso corporal, do peso de hemi-mandíbulas, de incisivos e tireóide, do comprimento de incisivos e níveis séricos de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> em ratos, 12 semanas após hemidescorticação.

	G R U P O		p <
	HEMIDESCORTICADO	CONTROLE	
Peso corporal inicial (g)	82,43 ± 1,78	82,96 ± 1,94	ns
Peso corporal final (g)	357,57 ± 13,08	418,50 ± 11,63	0,01
Peso da hemi-mandíbula esq. (mg)	344,07 ± 13,38	376,18 ± 7,27	0,10
Peso da hemi-mandíbula dir. (mg)	351,20 ± 10,23	377,23 ± 7,70	0,10
Peso do inc. sup. esq. (mg)	87,34 ± 2,21	95,11 ± 1,52	0,01
Peso do inc. sup. dir. (mg)	90,57 ± 2,66	95,91 ± 1,38	0,10
Peso do inc. inf. esq. (mg)	83,31 ± 1,90	92,97 ± 1,75	0,01
Peso do inc. inf. dir. (mg)	85,28 ± 2,60	94,85 ± 0,99	0,01
Comprimento do inc. sup. esq. (mm)	21,92 ± 0,42	23,21 ± 0,15	0,02
Comprimento do inc. sup. dir. (mm)	22,84 ± 0,23	23,36 ± 0,30	ns
Comprimento do inc. inf. esq. (mm)	29,57 ± 0,30	30,64 ± 0,32	0,05
Comprimento do inc. inf. dir. (mm)	29,14 ± 0,64	30,57 ± 0,17	0,10
Peso da tireóide (mg)	24,67 ± 1,14 (n=6)	29,88 ± 0,91 (n=6)	0,01
Nível sérico de T <sub>3</sub> (ng/100 ml)	60,54 ± 5,57 (n=4)	68,12 ± 6,66 (n=6)	ns
Nível sérico de T <sub>4</sub> (ug/100 ml)	3,57 ± 0,22	4,02 ± 0,21	ns

± s $\bar{x}$  erro padrão da média

A não ser quando indicado n=7 nos dois grupos

Os dados correspondentes a cada animal estão nas tabelas 1A e 6 A e a estatística nas Tabelas 9A a 14 A do apêndice.

TABELA 2 - Taxa média semanal (em mm) de erupção dos incisivos superiores de ratos hemidescorticados e controles.

	G R U P O		p <
	HEMIDESCORTICADO	CONTROLE	
EXPERIMENTO I			
Incisivo sup. esq.	2,86 $\pm$ 0,09 (7)	3,02 $\pm$ 0,06 (7)	0,10
Incisivo sup. dir.	2,96 $\pm$ 0,07 (7)	2,99 $\pm$ 0,05 (7)	ns
EXPERIMENTO II/III			
Incisivo sup. esq.	2,32 $\pm$ 0,02 (28)	2,27 $\pm$ 0,06 (9)	ns
Incisivo sup. dir.	2,36 $\pm$ 0,02 (28)	2,18 $\pm$ 0,12 (9)	ns

$\pm s_{\bar{x}}$  Erro padrão da média

Entre parêntesis está indicado o número de animais. Os animais do Experimento I foram medidos durante 8 semanas e os do Experimento II/III durante 12 semanas.

Os valores individuais estão nas tabelas 7A e 8A e a estatística encontra-se nas tabelas 15A e 16A do apêndice.

te se poderia abranger todas as regiões do dente.

Contudo, a análise da reação radioautográfica ficou bastante prejudicada por um quimiografismo, provavelmente, devido ao método de inclusão utilizado (parafina-celoidina), uma vez que, (pela experiência do laboratório), esta foi a única modificação introduzida na rotina. Com isto várias regiões ou até cortes inteiros ficaram impossibilitados de ser avaliados qualitativa ou quantitativamente.

Nos cortes ou regiões em que uma avaliação precária foi possível verificou-se que nos intervalos de 20 minutos após a injeção da  $^3\text{H}$ -glicina, a reação no periodonto ocorreu apenas sobre fibroblastos. Nos intervalos seguintes, 1, 2 e 4 horas, os grãos de prata se situaram também sobre a substância intercelular.

Foi feito também a contagem de grãos por unidade de área das citadas regiões, abrangendo em cada unidade tanto as células como a substância intercelular e os resultados estão na tabela 17A do apêndice. A análise estatística destes dados, apesar de sua precariedade, permitiu verificar em primeiro lugar não ter havido diferenças de concentrações de grãos de prata por unidade de área nos diversos intervalos de tempo usados. Isto possibilitou analisar em conjunto os dados dos diversos tempos, exprimindo cada um a atividade de síntese no periodonto estudado, e obtendo-se, assim, um maior número de repetições, e disso resultou a Tabela 3. Destes dados a única constatação clara foi a incorporação de  $^3\text{H}$ -glicina no ligamento periodontal e no periodonto da face lingual dos incisivos, um pouco maior no grupo hemidescorticado.

Neste experimento ainda, cortes de 4 animais, 2 tratados e 2 controles foram submetidos a ação da colagenase para se verificar qual a parte do material marcado correspondia ao colágeno. Devido ao mesmo quimiografismo, só se pode analisar quantitativamente os cortes de um único animal do grupo controle, cujos dados estão na Tabela 4.

Estes dados mostraram que a única redução ocorreu na face lingual do periodonto, correspondente ao ligamento periodontal, indicando que a parte do amino-ácido marcado foi utilizado na biossíntese do colágeno.

TABELA 3 - Concentração de grãos de prata nas várias regiões e sub-regiões de incisivos superiores de ratos hemidescorticados (HD) e controles (C), 20 minutos a 4 horas após a injeção de <sup>3</sup>H-glicina (Experimento II)

GRUPOS	REGIÃO Sub-Região	I N C I S I V O   S U P E R I O R   D I R E I T O					
		L A B I A L / A P I C A L			L A B I A L / I N C I S A L		
		D	M	O	D	M	O
HD n=11		20,3 ± 1,97	18,8 ± 2,15	16,7 ± 1,67	14,8 ± 1,95	12,7 ± 1,49	11,8 ± 1,22
C n=9		16,7 ± 1,66	15,5 ± 1,52	13,7 ± 1,45	16,5 ± 1,45	16,5 ± 1,37	13,8 ± 1,28
		I N C I S I V O   S U P E R I O R   E S Q U E R D O					
HD n=11		20,2 ± 1,59	19,2 ± 1,37	15,8 ± 1,15	17,3 ± 1,89	16,4 ± 2,03	15,1 ± 1,77
C n=9		26,3 ± 3,40	19,4 ± 0,58	15,9 ± 0,85	19,4 ± 2,40	19,0 ± 1,02	17,8 ± 1,72
		I N C I S I V O   S U P E R I O R   D I R E I T O					
		L I N G U A L / A P I C A L			L I N G U A L / I N C I S A L		
HD n=11		17,3 ± 1,58	20,9 ± 2,09	18,3 ± 0,90	16,5 ± 1,27	14,8 ± 0,82	15,6 ± 1,23
C n=9		16,8 ± 1,83	15,1 ± 1,53	13,6 ± 0,82	13,8 ± 0,97	15,1 ± 1,14	14,5 ± 1,17
		I N C I S I V O   S U P E R I O R   E S Q U E R D O					
HD n=11		14,4 ± 1,98	16,2 ± 2,22	15,9 ± 2,38	15,7 ± 1,16	18,2 ± 1,30	17,9 ± 1,57
C n=9		14,0 ± 3,26	11,6 ± 1,95	10,7 ± 1,98	15,0 ± 3,06	15,3 ± 2,92	14,3 ± 1,98

D - sub-região próxima ao dente; O - sub-região próxima ao osso alveolar; M - sub-região intermediária entre as duas anteriores

Cada valor representa a média por 490  $\mu\text{m}^2$

Os valores individuais e a estatística estão respectivamente nas Tabelas 17A e 18A do apêndice.

TABELA 4 - Concentração de grãos de prata por área no período de incisivo superior de rato submetido em cortes a ação da collagenase e controles antes da radioautografia.

	LINGUAL		LABIAL	
	APICAL	INCISAL	APICAL	INCISAL
INATIVA	15,4 ± 0,80	17,5 ± 1,71	12,7 ± 1,60	18,2 ± 1,73
BRANCO (água destilada)	12,3 ± 0,98	18,6 ± 1,27	15,1 ± 0,93	13,6 ± 1,96
COLAGENASE	9,3 ± 0,96 (27,8%)	12,9 ± 0,70 (28,6%)	15,3 ± 1,24 (-10%)	15,1 ± 1,47 (5,1%)

Cada valor representa a média ±  $s_{\bar{x}}$  da contagem de 15 áreas (490  $\mu\text{m}^2$ ) por região do incisivo superior esquerdo de um animal controle sacrificado 4 horas após a injeção de  $^3\text{H}$ -glicina. Os valores entre parêntesis correspondem à porcentagem de redução em relação à média dos valores da collagenase, inativa e o branco.

### EXPERIMENTO III

O material incluído em resina epoxi, hemi-mandíbulas contendo os incisivos inferiores, para possibilitar cortes semi-finos teve que ser sub-dividido; assim cada hemi-mandíbula foi dividida em 10 partes resultando um total de 420 blocos. Com os resultados do experimento II, indicando que por unidade de área de periodonto não havia diferença de reação radioautográfica entre os tempos utilizados, pôde-se reduzir o número de espécimes a serem cortados. Limitou-se, neste experimento, a analisar o periodonto da superfície lingual dos dentes correspondentes ao ligamento periodontal dos animais sacrificados nos tempos 1 e 4 horas após a injeção de  $^3\text{H}$ -glicina, num total de 110 blocos.

A qualidade das radioautografias desse experimento pode ser considerada muito boa (Fig. 1,2,3 e 4). A avaliação quantitativa foi feita de maneira semelhante ao experimento anterior e os dados completos estão na tabela 19A do apêndice. Da mesma maneira, a análise estatística revelou não haver diferença significativa entre as concentrações de grãos de prata nos dois tempos estudados e assim os tempos foram reunidos, o que possibilitou um maior número de repetições, e os dados estão resumidos na tabela 5. Confirmando os resultados do experimento anterior evidenciou-se que a biossíntese de proteínas é significativamente maior nos animais HD e que de modo geral ela é maior também no segmento apical.

TABELA 5 - Concentração de grãos de Ag nos vários segmentos e regiões do ligamento periodontal de incisivos de ratos hemidescorticados (HD) e controles (C) 1 e 4 horas após a injeção de <sup>3</sup>H-glicina.

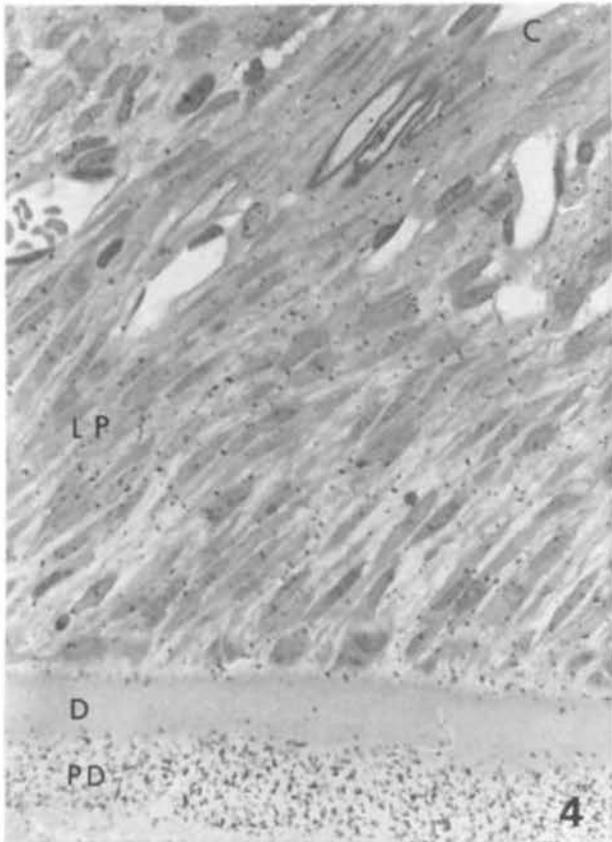
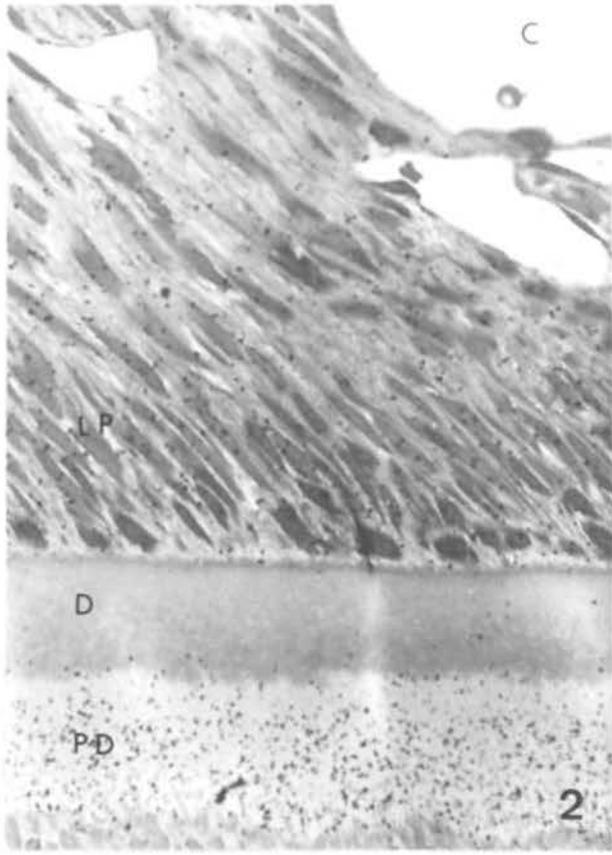
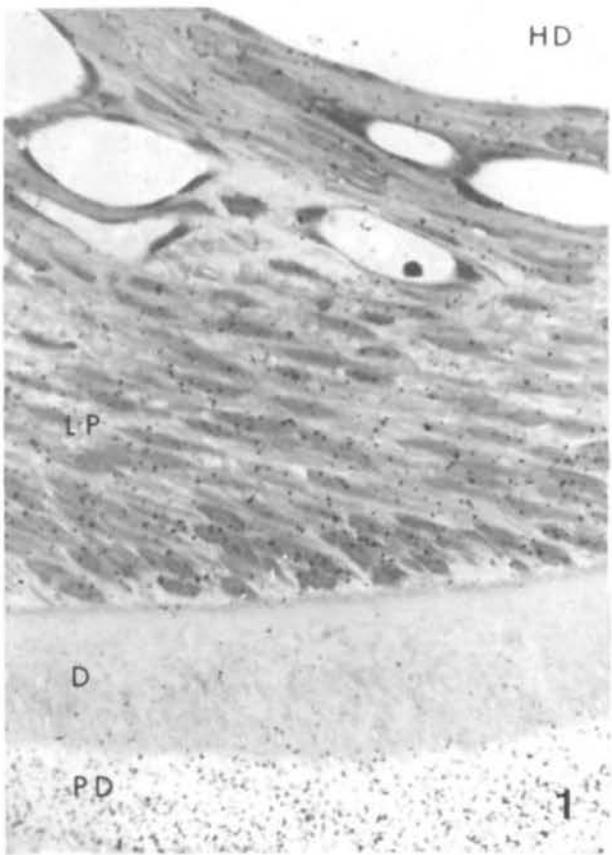
		I N C I S I V O I N F E R I O R D I R E I T O						
GRUPO	REGIÕES	SEGMENTOS					MÉDIA DO DENTE	
		a	b	c	d	e		
HD n=6	D	7,65 ± 0,56	11,38 ± 0,78	12,40 ± 0,90	13,58 ± 1,12	16,33 ± 1,92	12,25 ± 1,32**	
	M	8,90 ± 0,76	11,75 ± 0,43	11,55 ± 0,98	18,20 ± 3,77	14,42 ± 2,09		
	O	7,30 ± 0,72	10,50 ± 0,50	12,15 ± 1,75	13,66 ± 2,12	14,04 ± 1,85		
	Média	7,95 ± 0,49	11,21 ± 0,37	12,03 ± 0,25	15,14 ± 1,53*	14,93 ± 0,71*		
C n=5	D	5,69 ± 0,96	7,56 ± 1,67	8,00 ± 3,26	9,15 ± 2,00	10,45 ± 1,54	8,15 ± 0,71	
	M	6,63 ± 1,59	8,19 ± 1,94	8,13 ± 2,89	10,60 ± 1,79	10,65 ± 1,58		
	O	6,44 ± 1,68	6,56 ± 1,16	6,38 ± 2,13	9,25 ± 1,75	8,65 ± 1,17		
	Média	6,25 ± 0,29	7,44 ± 0,47	7,50 ± 0,57	9,66 ± 0,47	9,92 ± 0,63*		
		I N C I S I V O I N F E R I O R E S Q U E R D O						
HD n=6	D	9,30 ± 0,97	10,42 ± 0,72	9,96 ± 0,43	11,88 ± 1,58	14,75 ± 1,69	10,96 ± 0,86**	
	M	8,75 ± 1,13	10,25 ± 1,07	10,71 ± 0,63	11,46 ± 1,59	14,38 ± 0,75		
	O	8,90 ± 0,81	9,75 ± 0,37	10,21 ± 1,02	10,63 ± 0,99	13,08 ± 1,05		
	Média	8,98 ± 0,16	10,14 ± 0,20	10,29 ± 0,22	11,32 ± 0,37	14,07 ± 0,51*		
C n=5	D	7,06 ± 1,78	7,65 ± 1,49	8,56 ± 2,26	8,25 ± 2,64	9,75 ± 2,31	8,42 ± 0,34	
	M	8,94 ± 2,66	9,30 ± 1,26	9,00 ± 2,69	9,69 ± 2,41	11,15 ± 2,16		
	O	7,81 ± 2,16	6,95 ± 0,92	6,94 ± 1,70	6,75 ± 1,45	8,40 ± 1,55		
	Média	7,94 ± 0,55	7,97 ± 0,70	8,17 ± 0,62	8,23 ± 0,85	9,77 ± 0,80		

Cada valor representa a concentração média por 490 µm<sup>2</sup>. Os valores individuais estão na tabela 19 A e a estatística nas tabelas 20A a 22A do apêndice.

D - Região próxima ao dente, O - região próxima ao osso alveolar, M - região intermediária entre as 2 anteriores.

\* - Valores estatisticamente diferentes em relação aos segmentos anteriores ( p < 0,05).

\*\* - Médias significativamente maiores que a dos controles e também diferentes entre si ( p < 0,05).



PRANCHA 1

FIGURAS 1 - 4

Radioautogramas da região apical de incisivos inferiores de ratos hemidescorticados (figs. 1 e 3) e controles (figs. 2 e 4) sacrificados 1 hora (figs. 1 e 2) e 4 horas (figs. 3 e 4) após a administração de  $^3\text{H}$ -glicina. Note-se que a reação radioativa (concentração de grãos de prata) é mais intensa nos animais hemidescorticados, tanto no ligamento periodontal (LP) como na pré-dentina (PD). D - dentina. Azul de toluidina, 560X.

IV - D I S C U S S Ã O

#### IV - DISCUSSÃO

Os resultados em relação a peso corpóreo, de dentes, de mandíbula e tireóide, bem como comprimento de dentes mostraram que os animais submetidos a hemidescorticação apresentaram um desenvolvimento menor em relação aos animais controles. Todas as variáveis analisadas ( Tabelas 1 e 2) mostraram valores mais baixos para o grupo hemidescorticado, embora algumas não tenham significância estatística, muito provavelmente pelo número reduzido de animais utilizados. A diminuição do peso da tireóide em ratos hemidescortificados está de acordo com as observações de COVIAN et alii (1959).

Do mesmo modo, os níveis séricos de  $T_3$  e  $T_4$  mostraram-se diminuídos nos animais hemidescortificados, embora sem significância estatística. FERNANDES et alii (1986) , porém, em outro experimento com uma amostra pouco maior (10HD e 9C), encontraram uma diferença significativa entre os níveis de  $T_4$  de HD ( $3,43 \pm 0,09 \mu\text{g/dl}$ ) e C ( $4,10 \pm 0,143 \mu\text{g/dl}$ ) enquanto que a diferença entre  $T_3$  continuou não significativa. Estes dados, juntamente com os que mostraram um menor crescimento, indicam que os animais hemidescortificados apresentam um hipotireoidismo pelo menos discreto. O comportamento das concentrações de  $T_3$  e  $T_4$  no soro está de acordo com os dados de LARSEN (1972) mostrando, em humanos, que no hipotireoidismo a diminuição de  $T_4$  é mais marcante que  $T_3$ , esta, mantendo-se as vezes, dentro dos limites normais.

Contudo, NONAKA (1978) só encontrou função tireoideana alterada quando os ratos hemidescortificados foram expostos ao frio ou à dieta pobre em iodo, permanecendo , porém, inalterada quando os animais foram mantidos em condições basais. O modo de avaliar a função tireoideana - de terminação do consumo de  $O_2$ , da iodoproteinemia e captação tireoideana de  $^{131}\text{I}$  - e a idade em que foi feita a hemidescorticação - ratos recém-nascidos - no trabalho de NONAKA (1978) foram diferentes dos aqui usados. Só no aspecto da histologia das tireóides os resultados foram comparáveis; NONAKA (1978) encontrou uma diminuição do volume folicular

e MUNHOZ et alii (1986), usando as tireóides de animais dos experimentos II e III, encontraram uma diminuição da área folicular, embora, neste último a diminuição maior fosse devida a área de colóide enquanto no primeiro o menor volume fosse mais devido à diminuição do volume das células foliculares. Por outro lado, o menor desenvolvimento dos incisivos (peso e comprimento) verificado nos animais hemidescorticados está de acordo com os resultados de BAUME et alii (1954 I) que em ratos tireoidectomizados também encontraram uma diminuição de espessura e de comprimento dos incisivos superiores, e comprimento e largura dos molares superiores.

Os mesmos BAUME et alii (1954 I, II e III), trabalhando com os animais tireoidectomizados e/ou hipofisectomizados demonstraram uma nítida influência dos hormônios tireoídeos na erupção, cuja falta determinava uma diminuição de 45 % na erupção de incisivos de ratos. Os dados sobre a erupção de incisivos superiores, aqui apresentados, porém, não mostraram diferenças significantes entre os animais hemidescorticados e controles. Como se vê na Tabela 2 em apenas um caso houve uma diminuição da taxa de erupção para o grupo tratado, de baixa significância estatística. Em alguns experimentos preliminares, cujos dados não foram publicados, os resultados também não foram nítidos, parecendo ora uma aceleração da taxa de erupção e sempre com nenhuma significância estatística, devido a grande variabilidade das medidas do mesmo animal ao longo do experimento. Tais resultados não corroboram portanto os de BOAVENTURA (1981), obtidos no mesmo laboratório, mostrando que os animais hemidescorticados apresentaram uma taxa de erupção dos incisivos superiores significativamente menor que dos controles, taxa esta que voltou a valores normais após a administração de TRH, evidenciando assim o provável distúrbio do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide provocado pela hemidescorticação.

Isto ensejou a FERNANDES et alii (1986) a repetir o experimento, mantendo os animais em gaiolas individuais - do mesmo modo que foi feito por BOAVENTURA (1981), mas não no caso dos experimentos aqui relatados - e também em condições controladas de temperatura e luminosidade, observando um retardo significativo na erupção dos animais hemidescorticados, confirmando assim os resultados de BOAVENTURA (1981).

A condição de manutenção dos animais, particularmente o de estarem ou não em gaiolas individuais, sugere uma possível explicação para a variabilidade dos resultados de erupção encontrados. Os animais em gaiolas coletivas, particularmente se machos, que brigam entre si, estão possivelmente em estado de "stress" contínuo ou episódico. PAVARINI et alii (1975) mostraram a aceleração do irrompimento de molares de ratos devido ao stress. CHIBA et alii (1981) citam a possível aceleração da erupção devida ao stress provocado pelo manuseio dos animais, anestesia e injeção. DOMM & WELLBAND (1961) mostraram que tanto a tireoidectomia como a adrenalectomia produzem um retardo na erupção (19 e 33%, respectivamente), retardo este maior em ratos que sofreram a ablação das duas glândulas (53%) e que a cortisona administrada em qualquer dos casos (tireoidectomia, adrenalectomia ou tireoidectomia + adrenalectomia) reverteu as taxas para níveis maiores que o normal. Outros trabalhos na literatura comprovam que a cortisona acelera a taxa de erupção (MOXHAM & BERKOVITZ, 1983; CHIBA & OHSIMA, 1985). Assim, é possível que em condições de stress, que provoca um aumento da liberação de ACTH e conseqüente aumento de secreção de glicocorticóides, que estes compensem os retardos na taxa de erupção provocados, no caso, por um hipotireoidismo, ou acelerem o movimento nos animais normais. Por outro lado, os animais hemidescorticados que tem o eixo hipotalâmico - hipófise alterado, influenciando no mecanismo da liberação dos hormônios tróficos (ANTUNES-RODRIGUES et alii, 1985), além do hipotireoidismo, podem apresentar alterações da adrenal, particularmente na secreção dos glicocorticóides que dependem do ACTH e este de estímulos hipotalâmicos (GUYTON, 1977). Não encontramos dados na literatura a respeito, mas COVIAN et alii (1959) verificaram que as adranais de ratos hemidescorticados diminuem de peso nos machos e aumentam nas fêmeas.

Nessa mesma linha de raciocínio, o "stress" também poderia alterar os hábitos mastigatórios e portanto no atrito e desgaste dos dentes e isto se refletiria nas medidas da erupção "impedida" tais como foram feitas neste trabalho. Para estudar o movimento eruptivo puro, deve-se medir a taxa de erupção "desimpedida", ou seja, do dente sem antagonista, que atualmente é a mais usada em estudos experimentais. Além disso há uma diferença acentuada entre as

duas taxas - 0,4 mm/dia na "impedida" e 1,0 mm/dia na "desimpedida" - em ratos normais (NESS, 1964) e, portanto, pequenas variações nas medidas tem uma influência bem maior no caso de erupção "impedida".

Os resultados obtidos em relação à biossíntese de proteínas no ligamento periodontal dos incisivos de ratos foram claros em indicar que o grupo hemidescorticado se comportou de modo diferente que o controle.

Preliminarmente, embora só tendo utilizado tempos curtos após a administração de  $^3\text{H}$ -glicina, os resultados de modo geral são comparáveis aos encontrados na literatura. A reação radioautográfica aos 20 minutos após a injeção foi maior ao nível dos fibroblastos do que no meio extracelular, situação que se inverteu nos intervalos seguintes. O pico da reação ocorreu em torno de 4 horas após a injeção conforme também os dados de CARNEIRO & FAVA DE MORAES, 1965. A reação foi sempre mais intensa na extremidade apical do dente, confirmando os dados de BEERTSEN & EVERTS (1977). Contudo, estes últimos autores, usando  $^3\text{H}$ -prolina mostraram que a atividade biossintética foi maior no ligamento periodontal junto ao dente comparado com a parte desta estrutura junto ao osso alveolar. Os nossos dados, porém, não puderam confirmar tal fato.

A concentração de grãos de prata nas radioautografias tanto no material incluído em parafina (Experimento II) como em resina epoxi (Experimento III) mostrou que a atividade de biossíntese de proteínas no ligamento periodontal dos incisivos foi significativamente maior nos animais hemidescorticados. Quanto, porém do material marcado corresponde ao colágeno?

Glicina e Prolina são os amino-ácidos mais abundantes no colágeno. ORLOWSKI (1976) mostrou que a maior fração do material marcado com  $^3\text{H}$ -prolina no ligamento periodontal de incisivos, foi incorporada em proteínas não colágenas. SODEK et alii (1977) e SODEK (1977), ao contrário, encontraram com o mesmo amino-ácido uma incorporação bem maior em colágeno (cerca de 90% in vivo). Porém, uma fração importante do amino-ácido se incorporou a outras proteínas, uma de baixa atividade metabólica (taxa de renovação) e outra de intensa atividade (SODEK, 1977). Este mesmo autor

considerou que a prolina não seria o melhor amino-ácido para estudar a atividade metabólica destas outras proteínas, pois sua proporção nelas é, relativamente ao colágeno, bastante baixa. A glicina neste particular não é tão "específica" em relação ao colágeno. É possível pois que uma parte importante do amino-ácido marcado em nosso material não tenha sido incorporado ao colágeno.

O uso da colagenase, indicado como uma técnica viável para demonstração de colágeno através da radioautografia por CARNEIRO & LEBLOND (1966), foi no entanto criticado por SODEK (1977). Os nossos resultados relativos à colagenase, embora tenham que ser tomados com muita cautela devido à precariedade dos radioautogramas, mostraram que apenas cerca de 30% da glicina marcada foi extraída pela colagenase no ligamento periodontal e praticamente nada foi removido no tecido periodontal da face labial do incisivo, indicando que possivelmente uma grande parte do precursor não foi utilizada na síntese do colágeno mas sim na de outras proteínas do tecido conjuntivo. É possível, pois, que o aumento da incorporação do precursor radioativo tenha sido devido não só ao colágeno, mas, principalmente de outra(s) proteína(s) que compõe a substância intercelular do tecido conjuntivo do ligamento e do tecido periodontal da face labial dos incisivos, provavelmente componentes dos mucopolissacarídeos da substância fundamental.

Esta interpretação é compatível com o provável quadro de hipotireoidismo provocado pela hemidescorticação. Com efeito, uma das manifestações do hipotireoidismo é o mixedema resultante de um aumento dos mucopolissacarídeos da substância fundamental do tecido conjuntivo particularmente do ácido hialurônico (SCHILLER et alii, 1962; KIVIRIKKO et alii, 1964; KNORRING, 1967; FINK et alii, 1967; KOHN, 1978) e que estruturalmente estão associados a proteínas (proteoglicans). Segundo KOHN (1978) o acúmulo de ácido hialurônico no hipotireoidismo se dá principalmente pela diminuição de sua degradação. FINK et alii (1967) mostraram que no hipotireoidismo há também uma diminuição da excreção de hidroxiprolina, devida também a uma diminuição da degradação e portanto acúmulo do colágeno tecidual.

Como este aumento de proteínas na substância

intercelular do ligamento estaria influenciando a erupção nos animais hemidescorticados?

O mecanismo de erupção dental ainda não está perfeitamente estabelecido. Segundo MOXHAM & BERKOVITZ (1982, 1983) os mecanismos aventados, todos dependentes do ligamento periodontal, são: a contração do colágeno, a contração ou migração dos fibroblastos e a pressão hidrostática dos fluídos (sangue e líquido intersticial), ao redor e sob o dente.

Estes mecanismos estão relacionados ao processo gerador da força de erupção. Em relação a cada um deles há uma série de evidências a favor e contra (MOXHAM & BERKOVITZ, 1982). Esta força, contudo, depende de outros fatores como sua translação em movimento eruptivo e da renovação e remodelação do colágeno. Daí estes autores proporem o conceito multifatorial para explicar a erupção que dependeria de 4 processos:

- a) geração de força capaz de extrair o dente;
- b) translação desta força em movimento através dos tecidos periodontais;
- c) processo que permita a erupção ser sustentada, ou seja, ser o dente mantido numa nova posição até passar para a seguinte. Daí se postular a existência de um plexo intermediário por alguns autores, nunca conclusivamente evidenciada, ou de uma zona de cisalhamento, ainda não identificada;
- d) um processo de renovação e remodelagem do sistema permitindo a manutenção de sua integridade.

Qualquer alteração num destes sistemas pode modificar a taxa de erupção do dente. Assim uma diminuição de erupção pode ser atribuível tanto a diminuição da força eruptiva e/ou aumento da resistência dos tecidos ao movimento, e/ou falta de suporte do dente, e/ou alteração das características de remodelagem dos tecidos periodontais.

O aumento de proteínas na substância intercelular dos tecidos periodontais, particularmente da substância fundamental, como a verificada nos animais hemidescorticados, tem como consequência o aumento de viscosidade desta substância que pode resultar numa resistência maior ao movi

mento eruptivo e/ou alterar o balanço da pressão dos fluídos ao redor do dente provocando assim uma diminuição da taxa de erupção. Explicação semelhante é apresentada por ADATIA & BERKOVITZ (1981), quando discutem os efeitos da colchicina no retardo da erupção.

Em resumo, os resultados do presente trabalho sugerem que a hemidescorticação, alterando o eixo hipotálamo-hipofisário, produziu um discreto hipotireoidismo que se revelou pelo hipodesenvolvimento dos animais experimentais, diminuição do nível sérico de  $T_4$  e pelo mixedema. Este último, evidenciado por um maior acúmulo de proteínas na substância intercelular do ligamento periodontal - colágeno e/ou proteínas associadas ao ácido hialurônico - resultando num provável aumento da resistência deste ligamento e, como consequência, numa eventual diminuição da taxa de erupção.

V - R E S U M O

## V - RESUMO

Resultados anteriores mostraram que a hemidescorticação produziu um retardo na taxa de erupção de incisivos de ratos. Com o objetivo de estudar o metabolismo proteico no ligamento periodontal (LP), 12 ratos jovens hemidescorticados (HD) e 9 controles (C) receberam uma dose única de 2,5  $\mu$ Ci de  $^3$ H-glicina e sacrificados 20 minutos, 1, 2 e 4 horas após. Em outro grupo de animais (7HD e 7C) determinou-se a evolução do peso corporal, de mandíbulas, incisivos e tireóide, bem como o comprimento dos dentes e, através de radioimunoensaio, os níveis séricos de  $T_3$  e  $T_4$ .

Os resultados mostraram que os animais HD tiveram um desenvolvimento menor quanto ao peso do corpo e dos órgãos e comprimento dos incisivos. Os níveis séricos particularmente  $T_4$  se mostraram diminuídos o que indica que estes animais apresentaram pelo menos um discreto hipotireoidismo por alteração do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide provocado pela HD. A concentração de  $^3$ H-glicina no LP, definida através de radioautografia mostrou que foi maior nos animais HD indicando um acúmulo de material proteico, 30% do qual parece ser colágeno e o restante de proteínas ligadas a mucopolissacarídeos (ácido hialurônico) da substância fundamental. Este aumento de material proteico no LP parece corresponder ao mixedema provocado pelo hipotireoidismo e pode explicar, por alteração da resistência do LP, o retardo na erupção dental. A ausência de retardo na erupção em alguns experimentos com animais HD, é discutido à luz de uma eventual alteração do modelo, devida ao "stress" frequente quando os animais são mantidos em gaiolas coletivas.

VI - S U M M A R Y

## VI - SUMMARY

Previous results have shown that hemidecortication yields a retarded eruption rate of rats incisors. To study the protein metabolism of the periodontal ligament (PL) in such a condition, 12 hemidecorticated (HD) and 9 control young male rats received a single dose of 2.5  $\mu$ Ci of  $^3\text{H}$ -glycine and were sacrificed 20 min., 1, 2 and 4 h after the injection. In another group of rats, being 7 experimental and 7 control, the influence of hemidecortication on body weight, weight of hemimandibles, incisors and thyroid glands, as well as the length of incisors and the serum levels of  $\text{T}_3$  and  $\text{T}_4$  was determined.

Hemidecorticated animals showed a lower development of body weight and organs and the incisor length. These data and the decrease in the  $\text{T}_4$  levels indicated that hemidecortication causes a discreet hypothyroidism probably by a disturbance of the hypothalamus-hypophysis axis.

The silver grain concentration in the PL, as revealed by radioautography after  $^3\text{H}$ -glycine injection, was higher in hemidecorticated rats indicating an accumulation of proteins, 30% of which seems to be collagen and 70 % probably linked to glycosaminoglicans of the ground substance. This increase in protein concentration could be explained by the myxedema, one of the effects of hypothyroidism, which in turns could explain the retarded eruption rate due to the higher viscosity of the PL. The absence of a retarded eruption rate in some experiments with HD animals was interpreted as caused by stress when the animals were kept in collective cages. Such stress would induce the liberation of more glucocorticoids which are known to promote an increase in the rate of tooth eruption.

VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADATIA, A.K. & BERKOVITZ, B.K.B. The effects of cyclophosphamide on eruption of the continuously growing mandibular incisor of the rat. Arch. oral Biol., 26:607-13, 1981.
- ANTUNES-RODRIGUES; J.; MOREIRA, A.C.; BREDAN-DE-CASTRO, J.C.; FAVARETTO, A.L.V.; FERNANDES, G.A.; NONAKA, K.O.; REIS, A.M.; ROSA, A.M.M. Regulation of gonadotrophin function in hemidecorticate rats. Braz. J. med. biol. Res., 18 : 107-17, 1985.
- BAUME, L.J.; BECKS, H.; EVANS, H.M. Hormonal control of tooth eruption. I. The effect of thyroidectomy on the upper rat incisor and the response to growth hormone, thyroxin, or the combination of both. J. dent. Res., 33: 80-90, 1954.
- BAUME, L.J.; BECKS, H.; RAY, J.C.; EVANS, H.M. Hormonal control of tooth eruption. II. The effects of hypophysectomy on the upper rat incisor following progressively longer intervals. J. dent. Res., 33: 91-103, 1954.
- BAUME, K.J.; BECKS, H.; EVANS, H.M. Hormonal control of tooth eruption. III. The response of the incisors of hypophysectomized rats to growth hormone, thyroxin, or the combination of both. J. dent. Res., 33: 104-14, 1954.
- BEERTSEN, W. Tissue dynamics in the periodontal ligament of the mandibular incisor of the mouse: A preliminary report. Arch. oral Biol., 18: 61-6, 1973.
- BEERTSEN, W.; EVERTS, V.; VAN DEN HOOF, A. Fine structure of fibroblasts in the periodontal ligament of the rat incisor and their possible role in tooth eruption. Arch. oral Biol., 19: 1087-98, 1974.
- BEERTSEN, W. & EVERTS, V. The site of remodelling of collagen in the periodontal ligament of the mouse incisor. Anat. Rec., 189: 479-98, 1977.
- BELLOWS, C.G.; MELCHER, A.H.; AUBIN, J.E. An in-vitro model for tooth eruption utilizing periodontal ligament fibroblasts and collagen lattices. Arch. oral Biol., 28:715-22, 1983.

- BERKOVITZ, B.K.B. & THOMAS, N.R. Unimpeded eruption in the root-resected lower incisor of the rat with a preliminary note on root transection. Arch. oral Biol., 14:771-80, 1969.
- BOAVENTURA, M.C. Influência da hemidescorticação na erupção de incisivos superiores de ratos. Piracicaba, 1981. (Tese Mestrado - Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Universidade Estadual de Campinas).
- CARNEIRO, J. & FAVA DE MORAES, F. Radioautographic visualization of collagen in the periodontal tissues of the mouse. Arch. oral Biol., 10:833-48, 1965.
- CARNEIRO, J. & LEBLOND, C.P. Suitability of collagenase treatment for the radioautographic identification of newly synthesized collagen labeled with  $^3\text{H}$ -glycine or  $^3\text{H}$ -proline. J. Histochem. Cytochem., 14:334-44, 1966.
- CHIBA, M.; KURODA, T.; OHSHIMA, S. Effects of adrenocorticoids on impeded and unimpeded eruption rates and on the mechanical properties of the periodontium in the rat mandibular incisor. Arch. oral Biol., 26:577-83, 1981.
- CHIBA, M. & OHSHIMA, S. Effects of colchicine and hydrocortisone on unimpeded eruption rates of root-resected mandibular incisors of rats. Arch. oral Biol., 30:147-53, 1985.
- CHOPRA, I.J. A radioimmunoassay for measurement of thyroxine in unextracted serum. J. clin. Endocr., 34:938-47, 1972.
- COVIAN, M.R. & HOUSSAY, E.J. Arterial hypertension in hemidecorticate rats. Circulat. Res., 3:459-62, 1955.
- COVIAN, M.R.; MIGLIORINI, R.H.; TRAMEZZANI, J.H. Endocrine changes in hemidecorticate rats. Acta physiol. lat-amer., 9:24-34, 1959.
- DOMM, L.V. & WELLBAND, W.A. Effects of adrenalectomy and cortisone on eruption rate of incisors in young female albino rats. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 104:582-4, 1958.
- DOMM, L.V. & WELLBAND, W.A. Effects of adrenalectomy, thyroidectomy, thyro-adrenalectomy and cortisone on eruption rate of incisors in adult female rats. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 107:268-72, 1961.
- FERNANDES, G.A.; BOAVENTURA, M.C.; MUNHOZ, C.O.G.; TSE, M.C.P. Regulação da erupção de incisivos superiores em ratos hemi-

- descorticados. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ONDONTOLÓGICAS, 3, Pirassununga, 1986. Resumos ... (a publicar).
- FINK, C.W.; FERGUSON, J.L.; SMILEY, J.D. Effect of hyperthyroidism and hypothyroidism on collagen metabolism. Collag. Metab., 69:950-9, 1967.
- GUYTON, A.C. Tratado de fisiologia médica. Rio de Janeiro, Interamericana, 1977. p.905-6.
- KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. J. Cell. Biol., 27:137-8, 1965.
- KIVIRIKKO, K.I.; KOIVUSALO, M.; LAITINEN, O. Further studies on the action of thyroid hormones on the metabolism of collagen. Acta physiol. scand., 61:49-54, 1964.
- KNORRING, VON, J. Changes in myocardial acid mucopolysaccharides in experimental hyper and hypothyroidism in the rat. Endocrinology, 19:57, 1967.
- KOHN, L.D. Hypothyroidism and myxedema. In: WERNER, S.C. & INGBAR, S.H. The thyroid a fundamental and clinical text. Hagerstown, Harper and Row, 1978. p.854-5.
- KOPRIWA, B.M. & LEBLOND, C.P. Improvements in the coating technique of radioautography. J. Histochem. Cytochem., 10: 269-84, 1962.
- LARSEN, P.R. Triiodothyronine; review of recent studies of its physiology and pathophysiology in man. Metabolism, 21: 1073-92, 1972.
- LUFT, J.H. Improvements in epoxy resin embedding methods. J. biophys. biochem. Cytol., 9:409-14, 1961.
- MICHAELI, Y.; ZAJICEK, G.; GINIO, I. Cell production in the normal and lathyrogenic rat periodontal ligament (PDL). J. dent. Res., 58:511-5, 1979.
- MITSUMA, T.; NIHEI, M.; GERSHENGORN, M.E.; HOLLANDER, C.S. Serum triiodothyronine. Measurement in human serum by radioimmunoassay with corroboration by gas liquid chromatography. J. clin. Invest., 50:26-79, 1971.
- MOXHAM, B.J. & BERKOVITZ, B.K.B. The periodontal ligament and physiological tooth movements. In: BERKOVITZ, B.K.B.; MOXHAM, B.J. ; NEWMAN, H.N. The periodontal ligament in health and disease. Oxford, Pergamon, 1982. p.215-47.

- MOXHAM, B.J. & BERKOVITZ, B.K.H. Interactions between thyroxine, hydrocortisone and cyclophosphamide in their effects on the eruption of the rat mandibular incisor. Arch. oral Biol., 28:1083-7, 1983.
- MUNHOZ, C.O.G.; TOSELLO, D.O.; TSE, M.C.P.; FERNANDES, G.A.; MERZEL, J. Efeitos da hemidescorticação sobre a tireóide e o crescimento de dentes e mandíbulas de ratos. In: REUNIAO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS, 3, Pirassununga, 1986. Resumos ... (a publicar).
- NESS, A.R. Movement and forces in tooth eruption. Advanc. oral Biol., 1:33-75, 1964.
- NONAKA, K.O. Função tireoidiana em ratos hemidescorticados. Ribeirão Preto, 1978. (Tese - Mestrado - Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo).
- ORLOWSKI, W.A. The incorporation of <sup>3</sup>H-proline into the collagen of the periodontium of a rat. J. periodont. Res., 11:96-100, 1976.
- PAVARINI, A.; VONO, B.G.; PINHEIRO, C.E. Influência do "stress" no irrompimento de molares e crescimento de incisivos de ratos. Estomat. & Cult., 9:155-60, 1975.
- RIPPIN, J.W. Collagen turnover in the periodontal ligament under normal and altered functional forces. I. Young rat molars. J. periodont. Res., 11:101-7, 1976.
- RIPPIN, J.W. Collagen turnover in the periodontal ligament under normal and altered functional forces. II. Adult rat molars. J. periodont. Res., 13:149-54, 1978.
- ROMEIS, B. Formulário de técnica histológica; guia. Barcelona, Labor, 1928. p.83.
- SCHILLER, S.; SLOVER, G.A.; DOFMAN, A. Effect of the thyroid gland on metabolism of acid mucopolysaccharides in skin. Biochim. Biophys. Acta, 58:27-33, 1962.
- SKOUGAARD, M.R.; LEVY, B.M.; SIMPSON, J. Collagen metabolism in skin and periodontal membrane of the marmoset. Scand. J. dent. Res., 78:256-62, 1970.
- SODEK, J.; BRUNETTE, D.M.; FENG, J.; HEERSCHE, J.N.M.; LIMEBACK, H.F.; MELCHER, A.H. Collagen synthesis is a major component of protein synthesis in the periodontal ligament in various species. Arch. oral Biol., 22:647-53, 1977.

- SODEK, J. A comparison of the rates of synthesis and turnover of collagen and noncollagen proteins in adult rat periodontal tissues and skin using a microassay. Arch. oral Biol., 22:655-65, 1977.
- WARSHAWSKI, H. & MOORE, G. A technique for the fixation and decalcification of rat incisors for electron microscopy. J. Histochem. Cytochem., 15:542-9, 1967.
- ZAJICEK, G. Fibroblasts cell kinetics in the periodontal ligament of the mouse. Cell. Tissue Kinet., 7:479-92 , 1974.

VIII - A P Ê N D I C E

TABELA 1 A - Peso corporal (g) de animais hemidescorticados (HD) e controles (C), no início e no final do experimento.

	GRUPO	
	<u>HD</u>	<u>C</u>
Peso inicial (g)	90.00	76.00
	83.00	84.00
	84.00	91.00
	78.00	87.00
	86.00	81.00
	79.00	78.00
	77.00	83.00
MÉDIA	82.43	82.96
Peso final (g)	353.00	369.00
	286.50	452.00
	370.50	404.00
	367.50	460.50
	357.50	418.00
	369.00	419.00
	399.00	407.00
MÉDIA	357.57	418.50

TABELA 2 A - Peso de hemi-mandíbulas (mg) de animais hemi-descorticados (HD) e controles (C), 12 semanas após a hemidescorticação.

GRUPO	HEMI-MANDÍBULA	
	<u>DIREITA</u>	<u>ESQUERDA</u>
HD	322.00	312.20
	344.00	323.80
	388.60	392.30
	375.60	365.80
	354.50	362.50
	307.70	292.00
	366.00	360.20
MÉDIA	351.20	344.07
C	364.10	359.70
	364.00	374.40
	353.90	351.70
	397.70	384.00
	406.60	409.80
	389.80	385.60
	364.50	368.10
MÉDIA	377.23	376.18

TABELA 3 A - Peso dos incisivos (mg) de animais hemidescortificados (HD) e controles (C), 12 semanas após a hemidescorticação.

		GRUPO							
		HD				C			
		<u>S.D.</u>	<u>S.E.</u>	<u>I.D.</u>	<u>I.E.</u>	<u>S.D.</u>	<u>S.E.</u>	<u>I.D.</u>	<u>I.E.</u>
		78.4	80.0	79.8	76.0	92.0	89.6	97.8	96.2
		90.2	84.6	82.6	84.0	98.0	94.0	98.0	94.4
		94.8	94.6	90.4	86.8	91.8	98.2	92.0	84.2
		91.8	88.4	86.0	86.0	98.4	94.2	91.4	90.0
		85.0	80.2	74.2	76.4	93.6	92.0	94.2	92.4
		94.0	91.6	94.0	85.8	101.6	101.8	94.2	96.0
		100.0	92.0	90.0	88.2	96.0	96.0	96.4	97.6
<b>MÉDIA</b>		90.57	87.34	85.28	83.31	95.91	95.11	94.85	92.97

SD - Superior Direito; SE - Superior Esquerdo; ID - Inferior Direito; IE - Inferior Esquerdo.

TABELA 4 A - Comprimento dos incisivos (mm) de animais hemidescorticados (HD) e controles (C) , 12 semanas após a hemidescorticação.

GRUPO								
HD				C				
<u>S.D.</u>	<u>S.E.</u>	<u>I.D.</u>	<u>I.E.</u>	<u>S.D.</u>	<u>S.E.</u>	<u>I.D.</u>	<u>I.E.</u>	
22.0	20.0	29.5	29.0	23.5	23.0	31.0	29.0	
22.5	22.0	30.0	30.0	23.0	23.0	30.0	31.0	
23.9	23.0	31.0	31.0	22.0	23.0	30.0	31.5	
23.0	22.0	29.0	29.0	24.0	23.5	30.5	31.0	
23.0	21.0	28.0	29.0	23.0	23.0	31.0	31.0	
23.0	23.0	26.0	29.0	24.5	24.0	30.5	30.0	
22.5	22.5	30.5	30.0	23.5	23.0	31.0	31.0	
<b>MÉDIA</b>	22.84	21.92	29.14	29.57	23.36	23.21	30.57	30.64

SD - Superior Direito; SE - Superior Esquerdo; ID - Inferior Direito; IE - Inferior Esquerdo.

TABELA 5 A - Peso da glândula tireóide (mg) para o grupo hemidescorticado (HD) e controle (C), 12 semanas após a hemidescorticação.

	GRUPO	
	<u>HD</u>	<u>C</u>
	25.27	30.80
	24.37	28.67
	25.14	28.40
	19.53	26.89
	25.85	32.65
	27.89	31.84
MÉDIA	24.67	29.88

TABELA 6 A - Níveis de T<sub>3</sub> (ng/100ml) e T<sub>4</sub> (ug/100ml) no soro de animais hemidescorticados (HD) e controles (C).

	GRUPO	
	HD	C
T <sub>3</sub>	56.16	50.47
	77.06	57.34
	56.35	56.75
	< 50	< 50
	< 50	94.07
	< 50	75.97
	52.60	74.10
MÉDIA	60.54	68.12
T <sub>4</sub>	3.00	3.30
	3.60	4.13
	3.85	3.20
	3.16	4.71
	2.87	4.49
	4.00	4.14
	4.50	4.17
MÉDIA	3.57	4.02

TABELA 7 A - Erupção semanal (mm) dos incisivos superiores de ratos hemidescorticados (HD) e controles (C), durante 8 semanas.

GRUPO				
HD		C		
<u>D</u>	<u>E</u>	<u>D</u>	<u>E</u>	<u>E</u>
3.22	3.18	3.02	3.00	3.00
3.10	2.85	2.81	2.82	2.82
2.86	2.60	2.96	3.12	3.12
2.62	2.52	3.03	2.88	2.88
2.92	2.96	3.25	3.15	3.15
2.97	2.98	2.86	2.91	2.91
3.00	2.91	2.97	3.25	3.25
MÉDIA	2.96	2.86	2.99	3.02

D - Direito; E - Esquerdo.

TABELA 8 A - Erupção semanal (mm) dos incisivos superiores de ratos hemidescorticados (HD) e controles (C), durante 12 semanas.

GRUPO				
HD (n=28)		C (n=9)		
<u>D</u>	<u>E</u>	<u>D</u>	<u>E</u>	
2.34	2.61	2.40	2.27	
2.42	2.35	2.18	2.24	
2.25	2.22	1.56	2.31	
2.22	2.14	2.14	1.98	
2.62	2.59	2.64	2.58	
2.46	2.42	2.46	2.44	
2.26	2.27	2.37	2.39	
2.19	2.12	1.68	2.08	
2.45	2.36	2.20	2.22	
2.46	2.43			
2.36	2.30			
2.46	2.24			
2.48	2.35			
2.04	2.11			
2.04	2.11			
2.26	2.27			
2.35	2.25			
2.60	2.46			
2.41	2.12			
2.48	2.40			
2.36	2.26			
2.33	2.18			
2.56	2.45			
2.44	2.35			
2.21	2.45			
2.40	2.41			
2.31	2.38			
2.26	2.29			
2.28	2.32			
MÉDIA	2.36	2.32	2.18	2.27

D - Direito; E - Esquerdo.

TABELA 9 A - Média, erro padrão da média e valor da estatística t usada na comparação do peso corporal de animais hemidescorticados (HD) e controles (C) no início e final do experimento, 12 semanas após a hemidescorticação.

	GRUPO		t
	<u>HD</u>	<u>C</u>	
Peso inicial	82.43 ± 1.78	82.96 ± 1.94	-0.16
Peso final	357.57 ± 13.08	418.50 ± 11.63	-3.48

TABELA 10 A - Média, erro-padrão da média e valor da estatística t usada na comparação do peso da hemimandíbula, nos grupos hemidescorticado (HD) e controle (C).

MANDÍBULA	GRUPO		t
	<u>HD</u>	<u>C</u>	
D	351.20 ± 10.23	377.23 ± 7.70	-1.94
E	344.07 ± 13.36	376.18 ± 7.27	-2.10

D - Direito; E - Esquerdo.

TABELA 11 A - Média, erro-padrão da média e valor da estatística t usada na comparação do peso dos dentes incisivos, nos grupos hemidescorticado (HD) e controle (C).

DENTE	GRUPO		t
	HD	C	
SD	90.57 ± 2.66	95.91 ± 1.38	-1.78
SE	87.34 ± 2.21	95.11 ± 1.52	-2.89
ID	85.28 ± 2.60	94.85 ± 0.99	-3.43
IE	83.31 ± 1.90	92.97 ± 1.75	-3.73

SD - superior direito; SE - superior esquerdo; ID - inferior direito; IE - inferior esquerdo.

TABELA 12 A - Média, erro-padrão da média e valor da estatística t usada na comparação do comprimento dos dentes incisivos, nos grupos hemidescorticado (HD) e controle (C).

DENTE	GRUPO		t
	HD	C	
SD	22.84 ± 0.23	23.36 ± 0.30	-1.36
SE	21.92 ± 0.42	23.21 ± 0.15	-2.92
ID	29.14 ± 0.64	30.57 ± 0.17	-2.14
IE	29.57 ± 0.30	30.64 ± 0.32	-2.44

SD - superior direito; SE - superior esquerdo; ID - inferior direito; IE - inferior esquerdo.

TABELA 13 A - Média, erro padrão da média e valor da estatística t usada na comparação do peso da glândula tireóide, nos grupos hemidescorticado (HD) e controle (C).

GRUPO		t
HD	C	
24.67 ± 1.14	29.88 ± 0.91	-3.56

TABELA 14 A - Média, erro padrão da média e valor da estatística t usada na comparação da concentração sérica de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>, nos grupos hemidescorticado (HD) e controle (C).

	GRUPO		t
	HD	C	
T <sub>3</sub>	60.54 ± 5.57	68.12 ± 6.66	0.80
T <sub>4</sub>	3.57 ± 0.22	4.02 ± 0.21	1.45

TABELA 15 A - Média, erro padrão da média e valor da estatística t usada na comparação da erupção semanal dos incisivos superiores de ratos hemidescortados (HD) e controles (C), durante 8 semanas.

	GRUPO		t
	HD (n=7)	C (n=7)	
SD	2.96 ± 0.07	2.99 ± 0.05	0.34
SE	2.86 ± 0.09	3.02 ± 0.06	1.53

TABELA 16 A - Média, erro padrão da média e valor da estatística t usada na comparação da erupção semanal, dos incisivos superiores de ratos hemidescortados (HD) e controles (C), durante 12 semanas.

	GRUPO		t
	HD (n=28)	C (n=9)	
SD	2.36 ± 0.02	2.18 ± 0.12	-1.53
SE	2.32 ± 0.02	2.27 ± 0.06	-0.73

TABELA 17 A - Concentração de grãos de prata por 490  $\mu\text{m}^2$  no periodonto de incisivos superiores de ratos hemidescorticados e controles em vários intervalos de tempo após a injeção de  $^3\text{H}$ -glicina

		INCISIVO DIREITO																							
Região		LABIAL/APICAL						LABIAL/INCISAL						LINGUAL/APICAL						LINGUAL/INCISAL					
Sub-Região		D	M	O	D	M	O	D	M	O	D	M	O	D	M	O	D	M	O	D	M	O	D	M	O
Grupo		HD(11)	C(9)	HD(11)	C(9)	HD(11)	C(9)	HD(11)	C(9)	HD(11)	C(9)	HD(11)	C(9)	HD(11)	C(9)	HD(11)	C(9)	HD(11)	C(9)	HD(11)	C(9)	HD(11)	C(9)	HD(11)	C(9)
Tempo		-	21.8	-	15.4	-	14.2	-	17.4	-	19.0	-	18.4	-	20.6	-	17.4	-	15.8	-	14.6	-	13.8	-	13.8
	20	-	23.0	-	21.0	-	18.8	-	19.2	-	19.4	-	11.6	-	18.2	-	21.4	-	14.4	-	12.4	-	15.6	-	18.6
		$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =22.4	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =18.2	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =18.5	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =18.3	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =19.2	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =15.0	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =19.4	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =19.4	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =15.1	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =13.5	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =14.7	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =16.2
		-	-	-	-	-	-	21.2	14.0	13.8	16.6	16.6	13.6	19.6	-	-	-	-	-	-	15.0	-	13.0	-	16.2
	1	19.2	8.8	18.4	8.2	18.6	6.6	16.6	10.0	17.0	9.4	11.8	9.0	-	11.0	22.8	11.2	19.4	10.0	20.4	8.2	13.8	8.4	19.0	9.0
		21.0	17.6	24.0	12.2	18.8	10.8	5.4	19.8	6.8	17.8	6.4	17.0	-	14.0	-	12.4	-	14.2	11.6	16.6	12.6	15.0	10.6	16.4
		$\bar{X}$ =20.1	$\bar{X}$ =13.2	$\bar{X}$ =21.2	$\bar{X}$ =10.2	$\bar{X}$ =18.7	$\bar{X}$ = 8.7	$\bar{X}$ =14.4	$\bar{X}$ =14.6	$\bar{X}$ =12.5	$\bar{X}$ =14.6	$\bar{X}$ =11.6	$\bar{X}$ =13.2	$\bar{X}$ =19.6	$\bar{X}$ =12.5	$\bar{X}$ =22.8	$\bar{X}$ =11.8	$\bar{X}$ =19.4	$\bar{X}$ =12.1	$\bar{X}$ =16.0	$\bar{X}$ =13.3	$\bar{X}$ =13.2	$\bar{X}$ =12.1	$\bar{X}$ =14.8	$\bar{X}$ =13.9
		17.0	18.8	15.2	21.0	15.6	16.6	18.2	19.6	17.2	16.8	13.2	11.4	15.8	-	16.6	-	19.4	-	14.6	12.4	13.0	17.4	18.0	13.8
	2	20.6	13.4	17.8	13.6	17.6	13.0	-	15.8	-	19.6	-	15.4	16.8	22.8	18.4	15.0	20.4	12.8	-	18.4	-	21.0	-	19.6
		$\bar{X}$ =18.8	$\bar{X}$ =16.1	$\bar{X}$ =16.5	$\bar{X}$ =17.3	$\bar{X}$ =16.6	$\bar{X}$ =14.8	$\bar{X}$ =18.2	$\bar{X}$ =17.7	$\bar{X}$ =17.2	$\bar{X}$ =18.2	$\bar{X}$ =13.2	$\bar{X}$ =13.4	$\bar{X}$ =16.3	$\bar{X}$ =22.8	$\bar{X}$ =17.5	$\bar{X}$ =15.0	$\bar{X}$ =19.9	$\bar{X}$ =12.8	$\bar{X}$ =14.6	$\bar{X}$ =15.4	$\bar{X}$ =15.0	$\bar{X}$ =19.2	$\bar{X}$ =18.0	$\bar{X}$ =16.7
		17.0	13.6	13.6	16.0	12.2	13.8	11.2	11.2	8.4	10.4	9.2	9.4	12.6	14.2	18.4	13.4	15.6	14.6	16.2	12.8	16.6	16.8	14.4	12.8
	4	31.2	16.4	28.8	16.8	23.8	11.8	16.4	21.8	13.6	19.2	12.6	18.0	21.8	-	28.2	-	16.8	-	18.4	13.8	15.2	15.2	14.8	10.6
		15.8	-	13.6	-	10.6	-	14.8	-	12.4	-	13.0	-	-	-	-	-	-	-	17.8	-	17.6	-	16.6	-
		$\bar{X}$ =21.3	$\bar{X}$ =18.7	$\bar{X}$ =18.7	$\bar{X}$ =16.4	$\bar{X}$ =15.5	$\bar{X}$ =12.8	$\bar{X}$ =14.1	$\bar{X}$ =16.3	$\bar{X}$ =11.5	$\bar{X}$ =14.8	$\bar{X}$ =11.6	$\bar{X}$ =13.7	$\bar{X}$ =17.2	$\bar{X}$ =14.2	$\bar{X}$ =23.3	$\bar{X}$ =13.4	$\bar{X}$ =16.2	$\bar{X}$ =14.6	$\bar{X}$ =17.5	$\bar{X}$ =13.3	$\bar{X}$ =16.5	$\bar{X}$ =16.0	$\bar{X}$ =15.3	$\bar{X}$ =11.7
	MÉDIA	20.3	16.7	18.8	15.5	16.7	13.7	14.8	16.5	12.7	16.5	11.8	13.8	17.3	16.8	20.9	15.1	18.3	13.6	16.5	13.8	14.8	15.1	15.0	14.3
		INCISIVO ESQUERDO																							
	20	18.4	-	15.6	-	15.0	-	-	-	-	-	-	9.0	-	12.4	-	11.2	-	9.8	-	11.4	-	12.4	-	
		23.0	-	23.6	-	20.4	-	18.6	-	20.8	-	22.4	-	27.4	-	29.2	-	30.8	-	21.6	-	20.6	-	24.0	-
		28.8	-	24.2	-	20.6	-	25.8	-	18.8	-	17.2	-	7.2	-	5.2	-	5.3	-	13.2	-	17.2	-	15.6	-
		$\bar{X}$ =23.4	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =21.1	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =18.7	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =22.2	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =19.8	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =19.8	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =14.5	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =15.6	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =15.8	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =14.9	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =16.4	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =17.3	$\bar{X}$ =
		-	-	-	-	-	-	17.6	-	16.0	-	15.2	-	14.6	-	11.8	-	11.4	-	20.6	-	22.0	-	15.4	-
	1	22.2	-	22.0	-	13.8	-	12.6	-	10.0	-	9.0	-	16.8	-	16.6	-	12.6	-	17.6	-	23.2	-	23.6	-
		14.0	-	17.8	-	9.8	-	12.8	-	8.0	-	9.8	-	10.6	-	18.0	-	15.4	-	15.2	-	19.0	-	-	-
		$\bar{X}$ =18.1	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =19.9	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =11.8	$\bar{X}$ =	$\bar{X}$ =12.7	$\bar{X}$ =17.6	$\bar{X}$ = 9.0	$\bar{X}$ =16.0	$\bar{X}$ = 9.4	$\bar{X}$ =15.2	$\bar{X}$ =13.7	$\bar{X}$ =14.6	$\bar{X}$ =17.3	$\bar{X}$ =11.8	$\bar{X}$ =14.0	$\bar{X}$ =11.4	$\bar{X}$ =16.4	$\bar{X}$ =20.6	$\bar{X}$ =21.1	$\bar{X}$ =22.0	$\bar{X}$ =19.5	$\bar{X}$ =14.8
	2	24.2	28.0	23.0	21.6	18.0	14.8	24.4	21.1	19.0	19.2	18.0	17.8	17.4	9.4	18.0	8.2	12.2	5.4	20.6	12.4	24.4	16.0	25.4	13.4
		18.4	-	17.0	-	13.8	-	23.0	-	25.8	-	20.2	-	15.0	-	21.0	-	19.0	-	16.0	-	20.8	-	19.8	-
		$\bar{X}$ =21.3	$\bar{X}$ =28.0	$\bar{X}$ =20.0	$\bar{X}$ =21.6	$\bar{X}$ =15.9	$\bar{X}$ =14.8	$\bar{X}$ =23.7	$\bar{X}$ =21.2	$\bar{X}$ =22.4	$\bar{X}$ =19.2	$\bar{X}$ =19.1	$\bar{X}$ =17.8	$\bar{X}$ =16.2	$\bar{X}$ = 9.4	$\bar{X}$ =19.5	$\bar{X}$ = 8.2	$\bar{X}$ =15.6	$\bar{X}$ = 5.4	$\bar{X}$ =18.3	$\bar{X}$ =12.4	$\bar{X}$ =22.6	$\bar{X}$ =16.2	$\bar{X}$ =22.2	$\bar{X}$ =15.4
		14.6	19.8	12.6	16.0	14.4	15.4	12.8	13.8	8.8	20.4	10.6	15.4	13.0	9.0	13.4	9.4	19.8	10.8	14.0	7.6	15.6	7.8	11.4	9.6
	4	-	31.2	-	20.6	-	17.6	12.2	25.0	19.2	20.2	-	22.6	-	23.0	-	17.0	-	15.0	12.0	19.4	15.2	15.2	15.6	19.2
		18.4	-	17.0	-	16.2	-	13.8	-	16.8	-	13.8	-	13.6	-	12.4	-	10.4	-	16.8	-	14.8	-	16.0	-
		$\bar{X}$ =16.5	$\bar{X}$ =25.5	$\bar{X}$ =14.8	$\bar{X}$ =18.3	$\bar{X}$ =15.3	$\bar{X}$ =16.3	$\bar{X}$ =12.9	$\bar{X}$ =19.4	$\bar{X}$ =14.9	$\bar{X}$ =20.3	$\bar{X}$ =12.2	$\bar{X}$ =19.0	$\bar{X}$ =13.3	$\bar{X}$ =16.0	$\bar{X}$ =12.9	$\bar{X}$ =13.2	$\bar{X}$ =18.1	$\bar{X}$ =12.9	$\bar{X}$ =14.3	$\bar{X}$ =13.5	$\bar{X}$ =15.2	$\bar{X}$ =11.5	$\bar{X}$ =14.3	$\bar{X}$ =14.4
	MÉDIA	20.2	26.3	19.2	19.4	15.8	15.9	17.3	19.4	16.4	19.0	15.1	17.8	14.4	14.0	16.2	11.6	15.9	10.7	15.7	15.0	18.2	15.3	17.9	14.3

D - sub-região próxima ao dente; O - sub-região próxima ao osso alveolar; M - sub-região interna entre as duas anteriores; HD - hemidescorticado; C - controle  
( ) - número de animais

- contagem prejudicada pelo quimiografismo, ou perda do corte.

TABELA 18 A - Análise de variância para a contagem média dos grãos de prata no periodonto.

Causas de Variação	G.L.	SQ	QM	F
Grupos	1	114.180	114.180	5.709*
Dentes/Grupos	2	51.219	51.219	1.281
(AExIE)D/C	1	1.034	1.034	0.052
(ADxID)D/C	1	5.292	5.292	0.265
I(AE+IE)x(AD+ID)/DC	1	11.123	11.123	0.556
(AExIE)/E/C	1	17.707	17.707	0.885
(ADxID)/E/C	1	45.927	45.927	2.296
I(AE+IE)x(AD+ID)/E/C	1	407.049	407.049	20.352*
(AExIE)/D/HD	1	312.695	312.695	15.635*
(ADxID)/D/HD	1	84.715	84.715	4.236*
I(AE+IE)x(AD+ID)I/D/HD	1	27.638	27.638	1.382
(AExID)/E/HD	1	57.559	57.559	2.878
(ADxID)/E/HD	1	43.945	43.945	2.197
I(AE+IE)x(AD+ID)IE/HD	1	24.112	24.112	1.206
(Regiões/Dentes/Grupos)	(12)	(1.038.796)	(86.566)	(4.328*)
Subregiões/Reg/Dentes/Grupos	32	611.579	19.112	0.956
Resíduos	278	5.560.245	20.000	
Total	325	7.376.019		

CV = 27,35%

AE - região apical-esmalte; IE - região incisal-esmalte;

AD - região apical-dentina; ID - região incisal-dentina;

D - incisivo direito; E - incisivo esquerdo; C - controle;

HD - hemidescorticado

TABELA 19 A - Concentração de grãos de prata por  $490 \mu\text{m}^2$  no Periodonto de Incisivos Inferiores de ratos hemidescorticados e controles em vários intervalos de tempo após a injeção d

INCISIVO DIREITO

SEGMENTOS		a						b						c						d			
SUB-REGIÃO		D		M		O		D		M		O		D		M		O		D		M	
TEMPO	GRUPO	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)
1		6.50	-	8.00	-	7.50	-	8.75	12.00	12.75	13.00	12.00	8.50	14.25	11.25	13.25	11.00	15.00	8.50	15.25	13.00	15.75	15.25
		7.00	6.75	9.75	6.25	7.00	8.25	13.75	6.00	12.75	8.25	9.75	7.75	14.50	-	14.00	-	17.25	-	16.50	6.75	35.50	10.50
		6.75	3.50	6.75	3.00	5.25	3.25	12.50	4.25	11.25	3.50	10.50	3.25	10.75	4.75	8.75	5.25	9.00	4.25	9.25	3.75	9.75	4.2
		$\bar{X}=6.75$	$\bar{X}=5.13$	$\bar{X}=8.17$	$\bar{X}=4.63$	$\bar{X}=6.58$	$\bar{X}=5.75$	$\bar{X}=11.67$	$\bar{X}=7.42$	$\bar{X}=12.25$	$\bar{X}=8.25$	$\bar{X}=10.75$	$\bar{X}=6.50$	$\bar{X}=13.17$	$\bar{X}=8.00$	$\bar{X}=12.00$	$\bar{X}=8.13$	$\bar{X}=13.75$	$\bar{X}=6.38$	$\bar{X}=13.67$	$\bar{X}=7.83$	$\bar{X}=20.33$	$\bar{X}=10.0$
		-	-	-	6.50	-	4.00	9.50	8.00	10.00	8.00	9.25	6.75	-	-	-	-	-	-	11.25	7.75	11.25	10.7
4		8.75	4.75	8.75	10.75	9.75	10.25	11.50	-	11.50	-	9.50	-	10.00	-	11.75	-	8.00	-	14.75	14.50	19.25	12.2
		9.25	7.75	11.25	-	7.00	-	12.25	-	12.25	-	12.00	-	12.50	-	10.00	-	11.50	-	14.50	-	17.75	-
		$\bar{X}=9.00$	$\bar{X}=6.25$	$\bar{X}=10.00$	$\bar{X}=8.63$	$\bar{X}=8.38$	$\bar{X}=7.13$	$\bar{X}=11.08$	$\bar{X}=8.00$	$\bar{X}=11.25$	$\bar{X}=8.00$	$\bar{X}=10.25$	$\bar{X}=6.75$	$\bar{X}=11.25$	$\bar{X}=-$	$\bar{X}=10.88$	$\bar{X}=-$	$\bar{X}=9.75$	$\bar{X}=-$	$\bar{X}=13.50$	$\bar{X}=11.13$	$\bar{X}=16.08$	$\bar{X}=11.5$
	MÉDIA	7.65	5.69	8.90	6.63	7.30	6.44	11.38	7.56	11.75	8.19	10.50	6.56	12.40	8.00	11.55	8.13	12.15	6.38	13.58	9.15	18.20	10.6

INCISIVO ESQUERDO

HD - hemidescorticado  
 C - controle  
 - contagem impossibilitada  
 ( ) nº de animais

valores de ratos hemidescortados e controles em vários intervalos de tempo após a injeção de  $^3\text{H}$ -glicina

INCISIVO DIREITO

	c								d						e					
	O		D		M		O		D		M		O		D		M		O	
	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C(5)	HD(6)	C (5)	HD(6)	C (5)								
10	12.00	8.50	14.25	11.25	13.25	11.00	15.00	8.50	15.25	13.00	15.75	15.25	12.25	11.00	25.50	10.75	23.25	13.25	22.50	11.75
15	9.75	7.75	14.50	-	14.00	-	17.25	-	16.50	6.75	35.50	10.50	23.50	11.50	14.75	8.25	12.50	12.25	9.25	9.00
30	10.50	3.25	10.75	4.75	8.75	5.25	9.00	4.25	9.25	3.75	9.75	4.25	9.00	3.25	13.00	6.00	10.75	4.75	11.75	4.50
25	$\bar{X}=10.75$	$\bar{X}=6.50$	$\bar{X}=13.17$	$\bar{X}=8.00$	$\bar{X}=12.00$	$\bar{X}=8.13$	$\bar{X}=13.75$	$\bar{X}=6.38$	$\bar{X}=13.67$	$\bar{X}=7.83$	$\bar{X}=20.33$	$\bar{X}=10.00$	$\bar{X}=14.92$	$\bar{X}=8.58$	$\bar{X}=17.75$	$\bar{X}=8.33$	$\bar{X}=15.50$	$\bar{X}=10.08$	$\bar{X}=14.50$	$\bar{X}=8.42$
10	9.25	6.75	-	-	-	-	-	-	11.25	7.75	11.25	10.75	10.50	7.50	14.50	14.75	8.75	10.00	12.25	8.75
	9.50	-	10.00	-	11.75	-	8.00	-	14.75	14.50	19.25	12.25	12.00	13.00	13.25	12.50	15.00	13.00	14.25	9.25
	12.00	-	12.50	-	10.00	-	11.50	-	14.50	-	17.75	-	14.75	-	17.00	-	16.25	-	14.25	-
00	$\bar{X}=10.25$	$\bar{X}=6.75$	$\bar{X}=11.25$	$\bar{X}=-$	$\bar{X}=10.88$	$\bar{X}=-$	$\bar{X}=9.75$	$\bar{X}=-$	$\bar{X}=13.50$	$\bar{X}=11.13$	$\bar{X}=16.08$	$\bar{X}=11.50$	$\bar{X}=12.42$	$\bar{X}=10.25$	$\bar{X}=14.92$	$\bar{X}=13.63$	$\bar{X}=13.33$	$\bar{X}=11.50$	$\bar{X}=13.58$	$\bar{X}=9.00$
19	10.50	6.50	12.40	8.00	11.55	8.13	12.15	6.38	13.58	9.15	18.20	10.60	13.66	9.25	16.33	10.45	14.42	10.63	14.04	8.65

INCISIVO ESQUERDO

75	9.25	8.25	9.75	11.25	10.25	16.00	7.50	11.00	10.25	10.75	8.25	8.25	10.25	6.75	11.50	13.00	13.25	16.25	11.50	10.50
25	10.00	3.50	10.50	2.00	11.00	3.25	9.75	3.00	5.50	1.50	9.50	3.75	11.50	2.75	15.75	2.25	13.75	3.75	13.75	5.00
50	10.50	8.75	8.75	11.75	10.25	7.00	9.75	8.00	16.50	7.00	11.00	11.75	11.75	8.00	16.00	15.25	16.00	13.25	14.50	12.25
50	$\bar{X}=9.92$	$\bar{X}=6.83$	$\bar{X}=9.67$	$\bar{X}=8.33$	$\bar{X}=10.50$	$\bar{X}=8.75$	$\bar{X}=9.00$	$\bar{X}=10.75$	$\bar{X}=10.75$	$\bar{X}=6.42$	$\bar{X}=9.58$	$\bar{X}=7.92$	$\bar{X}=11.17$	$\bar{X}=5.83$	$\bar{X}=14.42$	$\bar{X}=10.17$	$\bar{X}=14.33$	$\bar{X}=11.08$	$\bar{X}=13.25$	$\bar{X}=8.58$
25	9.00	7.50	8.75	9.25	8.25	9.75	8.00	5.75	11.00	13.75	9.25	15.00	6.00	9.50	9.00	7.00	11.75	9.25	10.50	8.00
75	8.75	6.75	11.25	-	12.75	-	14.00	-	14.25	-	19.0	-	13.00	-	21.00	11.25	16.75	13.25	11.00	8.25
	11.00	-	10.75	-	11.75	-	12.25	-	13.75	-	11.75	-	11.25	-	15.25	-	14.75	-	17.25	-
50	$\bar{X}=9.58$	$\bar{X}=7.13$	$\bar{X}=10.25$	$\bar{X}=9.25$	$\bar{X}=10.92$	$\bar{X}=9.75$	$\bar{X}=14.42$	$\bar{X}=5.75$	$\bar{X}=13.00$	$\bar{X}=13.75$	$\bar{X}=13.33$	$\bar{X}=15.00$	$\bar{X}=10.08$	$\bar{X}=9.50$	$\bar{X}=15.08$	$\bar{X}=9.13$	$\bar{X}=14.42$	$\bar{X}=11.25$	$\bar{X}=12.92$	$\bar{X}=8.13$
30	9.75	6.95	9.96	8.56	10.71	9.00	10.21	6.94	11.88	8.25	11.46	9.69	10.63	6.75	14.75	9.75	14.38	11.15	13.08	8.40

TABELA 20 A - Análise de variância para a contagem média dos grãos de prata no ligamento periodontal.

Causa da variação	C.L.	SQ	QM	F
Grupos	1	785.19	785.19	61.88*
Dentes/Grupos	2	82.49	41.24	3.25*
Segmentos/Dentes				
Grupos	16	995.20	62.20	4.90*
Sub-regiões/Segmentos/Dentes/Grupos	40	231.29	5.78	0.46
Resíduo	237	3006.28	12.69	
Total	296	5100.44		

C.V. = 34.53%

TABELA 21 A - Número médio da contagem dos grãos de prata obtido para os grupos hemidescorticados e controle e respectivo valor da estatística usada na ANAVA.

HEMIDESCORTICADO	CONTROLE	F
11.71	8.42	61.88*

TABELA 22 A - Contagem média dos grãos de prata dos dentes incisivos inferior direito e esquerdo dentro dos grupos hemidescorticado (HD) e controle (C) e valor da diferença mínima significativa (DMS).

GRUPOS	DENTES		DMS (5%)
	DIREITO	ESQUERDO	
HD	12.42 a	11.03 b	1.24
C	8.38 a	8.46 a	1.06