

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA ODONTOGÊNESE EM  
*Calomys callosus* (RENGGER, 1830) NO PERÍODO DE 16 A 20 DIAS DE GESTAÇÃO.

MARIA INÊS CRUZEIRO MORENO

MARIA LÚCIA PRADA DE ALMEIDA  
Orientadora

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências  
Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a  
obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas

Uberlândia - M. G.

Dezembro - 1997

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA ODONTOGÊNESE EM  
*Calomys callosus* (RENGGER, 1830) NO PERÍODO DE 16 A 20 DIAS DE GESTAÇÃO.

MARIA INÊS CRUZEIRO MORENO

APROVADA PELA BANCA EXAMINADORA EM \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ NOTA 8,2

---

MARIA LÚCIA PRADA DE ALMEIDA  
(Orientadora)

---

ANTÔNIO WILSON DE ALMEIDA  
(1º conselheiro)

---

PAULA DECHICHI  
(2ª conselheira)

Uberlândia, \_\_\_ de Dezembro de 1997.

Em toda vida humana  
surge um momento supremo...  
um dia, uma noite,  
u'a manhã, uma tarde,  
uma hora decisiva,  
um instante oportuno...  
uma fresta através da qual  
a pessoa vislumbra  
coisas maravilhosas e sublimes...  
Um quase nada na balança,  
cujos pratos são:  
"o demasiado cedo"  
"o demasiado tarde".  
Feliz é quem sabe esperar...  
e que de pé, à proa da barca da vida,  
trabalha e vigia  
pronto a aproveitar o momento  
em que a ocasião  
estender a sua mão,  
quando no relógio do destino  
soar o "AGORA"!

**Maria Towuseand**

**Aos meus pais  
Maria Amelia e Eurípedes  
e ao meu namorado Edivane**

## AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre iluminando meus passos.

Aos meus pais Maria Amelia e Eurípedes, que acreditaram em mim e trouxeram-me até aqui.

Ao meu namorado Edivane pelo companheirismo, compreensão e ajuda em todos os momentos.

Às minhas tias Leonice e Odália pela constante ajuda nesta jornada.

Ao amigo Thomé Flori pelo apoio.

À professora Eloisa Amália Vieira Ferro que confiou em mim e trouxe-me para esta pesquisa.

Aos professores Dra. Maria Lúcia Prada de Almeida, Paula Dechichi e Dr. Antônio Wilson de Almeida pela orientação nesta pesquisa.

Aos funcionários e técnicos do Setor de Citologia, Histologia e Embriologia da Universidade Federal de Uberlândia, em especial ao técnico Hélgio Heinisch Werneck pela constante disposição em ajudar e ensinar novas técnicas; e à secretária Juscélia Marques Alemar pela amizade e auxílio.

À Maria Lucila que esteve comigo no início desta pesquisa.

... Muito Obrigada!

## RESUMO

O processo da odontogênese já foi estudado em diversos roedores como rato, camundongo albino, gerbil e hamster. Em *Calomys callosus* o processo da odontogênese foi descrito do 11º ao 15º dia de desenvolvimento intra-uterino. A proposta deste trabalho foi descrever as fases da odontogênese do *Calomys callosus* compreendida entre o 16º e 20º dia de desenvolvimento intra-uterino, comparando-as com as de outros roedores utilizados em laboratório e propor este roedor como mais um modelo biológico para estudos relacionados ao desenvolvimento dental. Neste estudo foram coletados 15 fetos de 16 a 20 dias de desenvolvimento, sendo três correspondentes a cada dia de desenvolvimento, os quais passaram pelo processo de descalcificação em EDTA e, posteriormente, foram processados para inclusão em historresina. Foram feitos cortes semi seriados, frontais, de 2µm de espessura, os quais foram corados com azul de toluidina 1% em borato de sódio 1% e analisados ao microscópio de luz. Nos fetos com 16 dias de desenvolvimento observou-se a fase em capuz da odontogênese; aos 17 dias de desenvolvimento verificou-se transição de capuz para campânula; aos 18 e 19 dias foi observado a fase em campânula e aos 20 dias o início da fase em coroa. Notou-se grande semelhança entre a odontogênese do *Calomys callosus* e a dos outros roedores utilizados em laboratório, o que coloca esta espécie como mais um modelo biológico para estudos referentes à odontogênese.

Palavras-Chave: 1) Odontogênese; 2) Germe Dental; 3) *Calomys callosus*.

**ÍNDICE**

I. INTRODUÇÃO .....	1
II. OBJETIVOS .....	7
III. MATERIAL E MÉTODOS .....	8
IV. RESULTADOS .....	10
4.1. Análise histológica do 16º dia de desenvolvimento .....	10
4.2. Análise histológica do 17º dia de desenvolvimento .....	11
4.3. Análise histológica do 18º dia de desenvolvimento .....	12
4.4. Análise histológica do 19º dia de desenvolvimento .....	13
4.5. Análise histológica do 20º dia de desenvolvimento .....	13
V. DISCUSSÃO .....	15
VI. CONCLUSÃO .....	20
VII. PRANCHAS FOTOGRÁFICAS .....	21
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	32

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 16 dias de desenvolvimento, evidenciando a fase em capuz. Órgão do Esmalte (oe); Papila Dental (p); Blastema Ósseo (o). Ampliação 62,5X ..... 22
- Figura 2** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 16 dias de desenvolvimento, evidenciando a fase em capuz. Epitélio Externo do Órgão do Esmalte (e); Epitélio Interno do Órgão do Esmalte (i); Figuras de Mitose (→) Reticulo Estrelado (r); Papila Dental (p); Folículo Dental (f). Ampliação 160X ..... 23
- Figura 3** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 17 dias de desenvolvimento, evidenciando a transição da fase em capuz para a fase em campânula. Órgão do Esmalte (oe); Papila Dental (p); Blastema Ósseo (o) Início de Lâmina Vestibular (- - -). Ampliação 62,5X ..... 24
- Figura 4** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 17 dias de desenvolvimento, evidenciando a transição da fase em capuz para a fase em campânula. Epitélio Externo do Órgão do Esmalte (e); Epitélio Interno do Órgão do Esmalte (i); Reticulo Estrelado (r); Estrato Intermédio (s); Papila Dental (p); Folículo Dental (f). Ampliação 160X ..... 25

**Figura 5** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 18 dias de desenvolvimento. Evidenciando a transição da fase em capuz para a fase em campânula. Órgão do Esmalte (oe); Papila Dental (p); Blastema Ósseo (o); Lâmina Vestibular (v); Broto do 2º Molar (m). Ampliação 62,5X ..... 26

**Figura 6** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 18 dias de desenvolvimento, evidenciando parte do Órgão do Esmalte e Papila Dental. Epitélio Externo do Órgão do Esmalte (e); Epitélio Interno do Órgão do Esmalte (i); Reticulo Estrelado (r); Estrato Intermédio (s); Papila Dental (p); Folículo Dental (f); Blastema Ósseo (o); Broto do 2º Molar (m) Vasos Sanguíneos (n). Ampliação 160X ..... 27

**Figura 7** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 19 dias de desenvolvimento, evidenciando a fase em campânula. Órgão do Esmalte (oe); Papila Dental (p); Blastema Ósseo (o); Lâmina Dental (l). Ampliação 62,5X ..... 28

**Figura 8** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 19 dias de desenvolvimento, evidenciando parte do Órgão do Esmalte (oe) e Papila Dental (p). Epitélio Externo do Órgão do Esmalte (e); Epitélio Interno do Órgão do Esmalte (i); Reticulo Estrelado (r); Estrato Intermédio (s); Papila Dental (p); Blastema Ósseo (o). Ampliação 160X ..... 29

**Figura 9** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 20 dias de desenvolvimento, evidenciando Epitélio Interno do Órgão do Esmalte (i); Reticulo Estrelado (r); Odontoblasto (b); Papila Dental (p); Blastema Ósseo (o); Ampliação 62,5X ..... 30

**Figura 10** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 20 dias de desenvolvimento. Estrato Intermédio (s); Pré-ameloblastos (a); Odontoblastos (b); Matriz de Dentina (d); Papila Dental (p); Blastema Ósseo (o). Ampliação 160X ..... 31

## I - INTRODUÇÃO

O desenvolvimento do dente envolve muitos processos biológicos complexos inclusive as inter-relações epitélio-mesenquimais, morfogênese, fibrinogênese e mineralização (TEN CATE, 1989).

Na superfície dos processos maxilar e mandibular, futuras maxila e mandíbula respectivamente, ocorre proliferação do epitélio formando um espessamento denominado epitélio odontogênico, que também se desenvolve na região lateral dos processos nasais mediais. Após a fusão dos processos maxilares com os nasais mediais e dos mandibulares, o epitélio odontogênico torna-se contínuo e o espessamento epitelial recebe a denominação de banda epitelial primária, que acompanha o desenho dos futuros arcos dentais (TEN CATE, 1989).

A banda epitelial primária prolifera e, geralmente, subdivide-se em lâmina vestibular e lâmina dental. A lâmina vestibular, após degeneração de suas células centrais, origina o vestibulo e a lâmina dental dá origem aos germes dentais.

Apesar da odontogênese ser um processo contínuo, é possível caracterizar quatro fases distintas: botão, capuz, campânula e coroa.

A fase em botão caracteriza-se por mostrar o germe constituído de massas epiteliais esferoidais, originadas de atividade proliferativa em alguns pontos da extremidade da lâmina dental, rodeadas por células ectomesenquimais condensadas.

O botão epitelial prolifera e assume a forma de capuz, que envolve em sua concavidade parte do ectomesênquima subjacente. Este estágio de desenvolvimento caracteriza a fase em capuz da odontogênese, sendo o componente epitelial (capuz) denominado órgão do esmalte e o ectomesênquima, englobado por este, de papila dental.

Células ectomesenquimais condensam-se envolvendo o órgão do esmalte e a papila dental constituindo o folículo ou saco dental.

As células da região central do órgão do esmalte secretam progressivamente substância intercelular amorfa, afastando-se uma das outras devido ao acúmulo desta substância. Apesar de afastadas, estas células mantêm-se unidas por desmossomas o que lhes confere uma forma estrelada, sendo esta região do órgão do esmalte denominada retículo estrelado.

As células da superfície convexa do órgão do esmalte formam o epitélio externo e as células no limite com a papila dental constituem o epitélio interno do órgão do esmalte. Células achatadas, justapostas e com longo eixo perpendicular às células do epitélio interno, formam o estrato intermédio. Através de desmossomas, estas células permanecem unidas entre si, com as células do epitélio interno e com células do retículo estrelado.

Estas modificações do órgão do esmalte, que se iniciam no final do estágio em capuz, evoluem para a fase de campânula onde o epitélio interno, o estrato intermédio, o retículo estrelado e o epitélio externo tornam-se bem definidos. Na fase em campânula ocorre a determinação da anatomia externa e do tamanho da coroa do futuro dente - fase morfogenética.

Em mamíferos, a lâmina dental pode romper-se precocemente nas fases de morfogênese do desenvolvimento dental, como em humanos, porém no

desenvolvimento do molar de ratos, a lâmina aparentemente persiste (KHAEJORN BUT *et al.*, 1991).

O início da fase em coroa da odontogênese é caracterizada pela histogênese dos tecidos dentais com a formação de dentina coronária (dentinogênese) e esmalte (amelogênese). Esta histogênese inicia-se no topo das cúspides na evolução do desenvolvimento dos germes de caninos, pré-molares e molares, ou bordas incisais de incisivos centrais e laterais.

Os ameloblastos, células diferenciadas a partir do epitélio interno do órgão do esmalte, sintetizam a matriz do esmalte centrifugamente em relação ao limite amelodentinário. As células periféricas da papila dental diferenciam-se em odontoblastos produzindo a matriz da dentina centripetamente e as demais células da papila constituem a polpa dental.

As células do folículo dental originarão cimento, ligamento periodontal e parte fasciculada do osso alveolar.

Diversos roedores, principalmente ratos, camundongos albinos, hamsters e gerbils têm sido utilizados em pesquisas envolvendo biologia dental (RUSSO, GARTNER, 1987). A literatura apresenta estudos sobre o desenvolvimento dos primeiros molares, em rato (LEFKOWITZ *et al.*, 1953), camundongo albino (COHN, 1957), gerbil (HIATT *et al.*, 1974), hamster (RUSSO, GARTNER, 1987) e em *Calomys callosus* (MACEDO, 1996).

LEFKOWITZ *et al.* (1953) descreveram as fases da odontogênese do primeiro molar em rato onde observaram, aos 13 dias de desenvolvimento intra uterino, acúmulo de células epiteliais na região dos futuros dentes, mas este não foi identificado como início de formação de lâmina dental. Aos 14 dias ocorreu a primeira manifestação de formação de lâmina dental, que foi definida aos 15 dias de desenvolvimento. Os autores observaram a fase em botão aos 16 dias e a fase em capuz aos 17 dias de desenvolvimento. A fase em campânula teve início aos 18 dias e

estendeu-se até o 19º dia de desenvolvimento. Com 20 dias iniciou-se a fase em coroa da odontogênese que perdurou até o nascimento do feto.

As fases do desenvolvimento dos germes dos primeiros molares em camundongo albino foram relatadas por COHN (1957). Segundo este mesmo autor, o desenvolvimento da lâmina dental ocorre no 12º e 13º dia de desenvolvimento fetal. Nos germes dentais, a fase em botão ocorreu no 14º dia e a fase em capuz ocorreu no 15º e 16º dias de desenvolvimento. No 17º dia foi observado uma transição de capuz para campânula. A fase de campânula, com a determinação da forma das futuras coroas, foram observadas aos 18 e 19 dias e, no 20º dia do desenvolvimento fetal, observou-se o início da fase de coroa.

A odontogênese do Gerbil da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) foi descrita por HIATT *et al.* (1974). Estes autores observaram, aos 18 dias de desenvolvimento pré-natal, a formação da lâmina dental, aos 19 dias a fase em botão e a fase de capuz iniciou-se aos 20 dias perdurando até os 21 dias de desenvolvimento. A fase em campânula ocorreu com 22 dias de desenvolvimento e o início da fase em coroa só ocorreu no 4º dia pós-natal.

RUSSO, GARTNER (1987) utilizando o Hamster (*Cricetus auratus*), para o estudo da odontogênese, observaram a formação da lâmina dental aos 11 dias de desenvolvimento pré-natal. A fase em botão ocorreu aos 12 dias, a fase em capuz aos 13 dias, a fase em campânula estendeu-se pelo 14º e 15º dias e a fase em coroa iniciou-se aos 16 dias de desenvolvimento.

Em *Calomys callosus* (RENGGER, 1830 *apud* MELLO, 1978) foi descrita a odontogênese do 11º ao 15º dia de desenvolvimento fetal por MACEDO (1996). A autora observou, no 11º dia de desenvolvimento, ausência de sinais de odontogênese; no 12º dia, o surgimento da banda epitelial primária; no 13º, a formação da lâmina dentária e início da fase em botão que foi definida no 14º dia; no 15º dia de desenvolvimento, o início da fase em capuz da odontogênese.

Nos últimos anos têm-se utilizado diferentes animais, principalmente roedores, para o estudo dos vários processos biológicos em germes dentais como: as interações epitélio-mesenquimais (RUSSO, GARTNER, 1987), morfogênese (LEFKOWITZ *et al.*, 1953; HIATT *et al.*, 1974; RUSSO, GARTNER, 1987; MACEDO, 1996) e biomineralização (SLAVKIN *et al.*, 1988; SASAGAWA, 1989; COUWENHOVEN, SNEAD, 1994; ALMEIDA *et al.*, 1994; ALMEIDA *et al.*, 1995).

A síntese de glicosaminoglicanas, seu papel na morfogênese dental (GALBRAITH *et al.*, 1992) e na biomineralização (DECHICHI *et al.*, 1990; ALMEIDA *et al.*, 1994; ALMEIDA *et al.*, 1995; ALMEIDA *et al.*, 1996; ALMEIDA *et al.*, 1997), as translocações protéicas sofridas durante a odontogênese (NAKAMURA *et al.*, 1994) e a regulação gênica das células mesenquimais no desenvolvimento dental (HATA *et al.*, 1990; ANDUJAR, MANGLORE, 1990) tem sido estudadas. Estudos utilizando imunocitoquímica e imunoistoquímica têm sido realizados para a localização de diferentes componentes da matriz intercelular do germe dental (SMITH *et al.*, 1990; MARK *et al.*, 1990; CASASCO, 1996).

Resíduos epiteliais da lâmina dental podem originar tumores (McCLATCHEY, 1987) e carcinomas intra-ósseos podem ter origem em cistos odontogênicos (WALDRON, MUSTOE, 1989), tornando, assim, o processo odontogênico não só de interesse morfológico, mas também de interesse clínico.

A odontogênese do roedor *Calomys callosus* foi descrita por MACEDO (1996) no período de 11 a 15 dias de desenvolvimento intra-uterino. O *Calomys callosus* pertence à superfamília Muroidea, onde incluem-se as famílias Muridae que compreendem ratos e camundongos albinos e Cricetidae à qual pertencem os hamsters e os *Calomys* sp. O gênero *Calomys* ocorre na América do Sul e Central, habitando diversos biomas como: borda de mata, savana, caatinga, pastagens, florestas tropicais e habitações humanas. Duas espécies deste gênero, *Calomys laucha* e *Calomys callosus*, ocorrem no sul, nordeste e parte central do Brasil (MELLO, 1978). *Calomys callosus* apresenta ciclo poliétrico, com estros pós-parto. O ciclo estral é de aproximadamente seis dias e o período gestacional, de cerca de 21 dias (MELLO, 1978).

Epidemiologicamente, a espécie *Calomys callosus* é utilizada como modelo de estudo de doenças tropicais por ser considerada reservatório de *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de chagas (RIBEIRO, 1973), de *Yersinia pestis*, causador da peste bubônica, e reservatório do vírus Mapucho (JUSTINES, JOHNSON, 1969), causador da febre hemorrágica argentina.

Estudos como a análise de cariótipo das duas espécies (*Calomys callosus* e *Calomys laucha*), sistema complemento de *Calomys callosus* (VAZ-DE-LIMA *et al.*, 1992), interferon-gama e rompimento de macrófagos respiratórios provocados por *Trypanosoma cruzi* (BORGES *et al.*, 1994), foram realizados nos últimos anos com este roedor.

Tendo em vista a crescente utilização do *Calomys callosus* como animal de laboratório e a descrição das primeiras fases da odontogênese deste roedor, o presente trabalho propõe um estudo da odontogênese do *Calomys callosus* do 16<sup>o</sup> ao 20<sup>o</sup> dia de desenvolvimento intra-uterino.

## II - OBJETIVOS

- \* Descrever morfologicamente as fases da odontogênese do 1º molar superior do *Calomys callosus*, entre o 16º e 20º dia de desenvolvimento intra-uterino.
- \* Comparar a odontogênese do *Calomys callosus* no período de 16 a 20 dias de desenvolvimento intra-uterino com a de outros roedores utilizados em laboratório.
- \* Propor o *Calomys callosus* como mais um modelo biológico para estudos em odontogênese.

### III- MATERIAL E MÉTODOS

Os *Calomys callosus* utilizados, foram cedidos pelo Instituto de Medicina Tropical de São Paulo à Universidade Federal de Uberlândia em 1992. Os animais são mantidos no biotério do Setor de Citologia, Histologia e Embriologia do Departamento de Morfologia (DEMOR) com dieta de ração granulada e água "ad libitum", complementada com milho e semente de girassol, com 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

Neste experimento foram utilizados 10 fêmeas e 5 machos acasalados na proporção de 2 fêmeas para cada macho por gaiola. O acasalamento foi detectado pela presença da rolha vaginal, indicativo do 1º dia de gestação.

A cada dia do período de 16 a 20 dias de gestação, uma fêmea prenhe foi anestesiada por inalação de éter etílico e operada para retirada dos fetos, obtendo-se, em média, 6 fetos por fêmea. Os fetos foram decapitados e as cabeças submersas e mantidas por 15 horas em solução fixadora AFA (Água destilada, etanol 95%, formalina e Ácido acético glacial na proporção de 5:3:1:1) (FINN, MACLAREN, 1967). As fêmeas, após a cirurgia abdominal, foram sacrificadas por inalação de éter etílico.

Após a fixação, as cabeças foram desmineralizadas em EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) 7%, pH 7,4. O tempo de desmineralização, na solução de EDTA, foi de 3 dias para os fetos com 16 dias de desenvolvimento; 6 dias para os fetos com 17 dias; 7 dias para os fetos com 18 dias; 10 dias para os fetos de 19 dias; 12 dias para os de 20 dias de desenvolvimento.

Após a fixação e desmineralização, os espécimes foram desidratados em uma série de etanóis com concentrações crescentes. Posteriormente os espécimes foram infiltrados em uma mistura de 1:1 de glicolmetacrilato<sup>1</sup> e etanol absoluto por um período de 18 horas. Em seguida, foram imersos em solução infiltradora<sup>2</sup> por 14 horas e então incluídos em uma mistura de resina<sup>3</sup> à temperatura ambiente (22 °C). Durante a inclusão, os espécimes foram orientados de forma que o plano de corte fosse frontal e perpendicular aos futuros arcos dentais. O material permaneceu à temperatura ambiente até o tempo final de polimerização da resina, cerca de 15 horas.

Foram obtidos cortes seriados de 2,0 micrômetros de espessura com auxílio de um micrótomo Laica Reichert Jung Supercut. Os cortes foram corados com solução de Azul de toluidina 1% e borato de sódio 1%<sup>4</sup> por 60 segundos e montados em lâmina de vidro. A análise histológica e o registro fotográfico foram feitos com o auxílio de um fotomicroscópio Carl Zeiss.

---

<sup>1</sup> Resina à base de metacrilato Historesin, LRB 22-8-599, Sweden

<sup>2</sup> Solução infiltradora: 50 ml de resina básica (glicol metacrilato)  
5 ml de ativador (peróxido de benzoila)

<sup>3</sup> 15 ml de solução infiltradora e 1 ml de endurecedor (derivado de ácido barbitúrico - DMSO)

<sup>4</sup> 1 gr de azul de toluidina  
1 gr de borato de sódio  
100 ml de água destilada

## **IV - RESULTADOS**

### **4.1. Análise histológica do 16º dia de desenvolvimento**

O germe dental do 1º molar do feto com 16 dias de desenvolvimento, apresentou-se no estágio de capuz bem definido, onde foi possível observar-se os componentes do órgão do esmalte (Fig. 1).

A superfície, da convexidade do capuz, apresentou uma camada de células cúbicas próximas à lâmina dentária e cilíndricas baixas próximo à alça cervical, caracterizando o epitélio externo do órgão do esmalte (Fig. 2). A concavidade do capuz apresentou uma camada de células cilíndricas justapostas, correspondentes ao epitélio interno do órgão do esmalte (Fig. 2).

Adjacente ao epitélio interno, observou-se a organização de duas a três camadas de células pavimentosas, perpendiculares ao eixo das células do epitélio interno, que originarão o estrato intermédio (Fig. 2). Na região central do órgão do esmalte, observou-se o retículo estrelado constituído por células estreladas afastadas pelo acúmulo de substância intercelular, formando uma região clara e reticular (Fig. 2).

Neste estágio do desenvolvimento o órgão do esmalte engloba células ectomesenquimais que se apresentaram mais agregadas formando a papila dental (Fig. 2). As células ectomesenquimais, que circundam o órgão do esmalte e a papila, condensam-se iniciando a organização do folículo dental, principalmente na região adjacente à papila e alça cervical, caracterizado por apresentar aproximadamente seis camadas de células fusiformes (Fig. 2).

Em alguns cortes, entre o epitélio externo e o epitélio interno na região do retículo estrelado, observou-se o nó do esmalte, formado pela proliferação e condensação de células arredondadas.

Neste período do desenvolvimento do germe dental, não foi observado presença do vestíbulo.

Na vizinhança do germe dental observou-se o início do blastema ósseo (Fig. 1)

#### **4.2. Análise histológica do 17<sup>o</sup> dia de desenvolvimento**

O germe dental do molar apresentou-se em transição da fase em capuz para campânula e o órgão do esmalte aumentou de tamanho (Fig. 3).

O epitélio externo, o epitélio interno e o retículo estrelado praticamente não sofreram alterações morfológicas e o estrato intermédio tornou-se bem evidente neste estágio do desenvolvimento dental, em relação aos aspectos observados aos 16 dias de desenvolvimento (Fig. 4).

A papila dental e o folículo dental apresentaram aspectos morfológicos semelhantes aos do 16<sup>o</sup> dia de desenvolvimento.

Na região dos molares inferiores observou-se proliferação epitelial invaginando no mesênquima subjacente, provavelmente o início do desenvolvimento da lâmina vestibular (Fig. 3).

#### **4.3. Análise histológica do 18º dia de desenvolvimento**

No 18º dia de desenvolvimento, o germe dental apresentou-se na fase em campânula, esboçando a anatomia da futura coroa dental (Fig. 5). O órgão do esmalte aumentou de tamanho devido ao desenvolvimento de todos os seus componentes.

A camada de células do epitélio externo apresentou-se mais definida e uniformemente cúbica (Fig. 6). As células do epitélio interno permaneceram cilíndricas e o estrato intermédio e retículo estrelado praticamente não sofreram alterações morfológicas, mas ocorreu aumento de substância intercelular resultando em um aumento do volume do retículo estrelado (Fig. 6).

A papila dental aumentou de tamanho, aparentemente as células tornaram-se mais condensadas e houve aumento do número de vasos sanguíneos (Fig. 6).

O folículo dental, constituído por camadas de células fusiformes, apresentou-se mais definido e englobando totalmente o órgão do esmalte e a papila dental.

A proliferação epitelial na região dos molares inferiores, que se iniciou no 17º dia de desenvolvimento, progrediu (Fig. 5).

Na região intermediária entre a lâmina dentária e o epitélio externo do órgão do esmalte observou-se proliferação celular, provavelmente correspondente ao germe dental do 2º molar superior (Fig. 5).

#### **4.4. Análise histológica do 19º dia de desenvolvimento**

Aos dezenove dias de desenvolvimento, observou-se ainda o estágio em campânula no desenvolvimento do germe dental (Fig. 7).

As células dos epitélios externo e interno do órgão do esmalte, o estrato intermédio e o retículo estrelado permaneceram sem alterações morfológicas, aparentemente (Fig. 8).

As células da papila, adjacentes ao epitélio interno do órgão do esmalte, apresentam-se mais condensadas e iniciaram justaposição, principalmente na região das cúspides (Fig. 8).

O folículo dental, aparentemente, apresentou-se mais delgado em relação ao 18º dia de desenvolvimento.

A proliferação celular próximo à lâmina dentária, correspondente ao provável germe do 2º molar, ainda foi observada.

O blastema ósseo progrediu circundando quase todo germe dental (Fig. 7).

#### **4.5. Análise histológica do 20º dia de desenvolvimento**

Aos 20 dias de desenvolvimento, o germe dental apresenta-se no início da fase em coroa da odontogênese (Fig. 9).

As células do epitélio externo apresentaram-se cúbicas no terço próximo à lâmina dentária e tornaram-se mais achatadas da região mediana para a cervical.

O epitélio interno do órgão do esmalte apresentou células cilíndricas, aparentemente mais altas que as células do epitélio interno do 19º dia de desenvolvimento, e polarizadas, formando os pré-ameloblastos (Fig. 10).

Aparentemente as células do estrato intermédio reduziram de volume e tornaram-se mais justapostas ao epitélio interno, principalmente nas vertentes das cúspides (Fig. 10).

O retículo estrelado praticamente não sofreu alterações morfológicas e mostrou-se bem reduzido nas vertentes das cúspides (Fig. 9).

O órgão do esmalte continua ligado ao epitélio da cavidade oral pela lâmina dentária.

As células periféricas da papila dental organizaram-se em uma camada de células justapostas polarizadas e diferenciadas, os odontoblastos (Fig. 10). Os odontoblastos nesta etapa já produziram uma camada de matriz orgânica de dentina (Fig. 10). As demais células permaneceram constituindo a papila dental.

O folículo dental apresentou-se bem reduzido na região do órgão do esmalte.

O blastema ósseo evoluiu englobando quase todo o germe dental (Fig. 9).

A proliferação celular, provavelmente correspondente ao broto do germe do 2º molar superior continuou presente.

## V- DISCUSSÃO

Estudos envolvendo biologia dental têm sido realizado em diversos animais, principalmente em roedores como rato (LEFKOWITZ *et al.*, 1953), camundongo albino (COHN, 1957), gerbil (HIATT *et al.*, 1974) e hamster (RUSSO, GARTNER, 1987).

Algumas fases da odontogênese do *Calomys callosus* foram descritas por MACEDO (1996). Nosso trabalho vem complementar o estudo da autora citada, uma vez que esta descreveu a odontogênese do *Calomys callosus* no período de 11 a 15 dias de desenvolvimento intra-uterino.

O reconhecimento de três camadas de células distintas, epitélio externo do órgão do esmalte, epitélio interno do órgão do esmalte e retículo estrelado, marcam o estágio de capuz do desenvolvimento de molar em roedores (RUSSO, GARTNER, 1987). O germe dental do *Calomys callosus*, aos 16 dias de desenvolvimento apresentou-se com estas três camadas bem definidas, caracterizando o estágio de capuz do desenvolvimento dental, como ocorre em camundongo albino (COHN, 1957). Em rato, aos 16 dias de desenvolvimento, o germe dental encontra-se na fase em botão (LEFKOWITZ *et al.*, 1953) e no hamster apresenta-se na fase em coroa, do

desenvolvimento dental (RUSSO, GARTNER, 1987). Estas diferenças, provavelmente, são devido ao diferente tempo de gestação destes animais.

O epitélio externo do órgão do esmalte, do germe dental do 1º molar do *Calomys callosus*, mostrou-se formado por uma camada de células dimórficas durante a fase em capuz em que, na região próxima à lâmina dentária apresentaram-se cúbicas e próximo à alça cervical, cilíndricas baixas. Nas demais fases estudadas, as células do epitélio externo do órgão do esmalte apresentaram-se uniformemente cúbicas. Esta característica é bem distinta do caso de ratos, onde o epitélio externo do órgão do esmalte é formado por uma única camada de células achatadas (LEFKOWITZ *et al.*, 1953) e de camundongo albino, no qual o epitélio foi descrito como pequenas células colunares falsas sobre poucas camadas de células escamosas (COHN, 1957). O epitélio externo do gerbil (HIATT *et al.*, 1974) e do hamster (RUSSO, GARTNER, 1987) têm alguma semelhança com o do *Calomys callosus*, uma vez que, em ambos, é constituído por células cuboidais, sendo que no gerbil o epitélio externo possui duas a três camadas de células, enquanto que no hamster apresenta de uma a duas camadas celulares.

O epitélio interno do órgão do esmalte em *Calomys callosus* apresentou uma camada de células cilíndricas similarmente ao observado por HIATT *et al.* (1974) em gerbil. Já em rato (LEFKOWITZ *et al.*, 1953), camundongo albino (COHN, 1957) e hamster (RUSSO, GARTNER, 1987), o epitélio interno do órgão do esmalte apresenta-se como uma camada de células cuboidais. Novamente, o *Calomys callosus* apresenta-se mais similar ao gerbil.

O retículo estrelado do germe dental em *Calomys callosus* apresentou-se semelhante ao dos demais roedores supra citados, os quais também apresentaram células estreladas e afastadas pelo acúmulo de substância intercelular .

O aparecimento do estrato intermédio marca o início da fase em campânula da odontogênese (RUSSO, GARTNER, 1987). Em *Calomys callosus* o estrato intermédio foi observado no 17º dia de desenvolvimento e caracterizou-se por apresentar de duas a três camadas de células achatadas. Nos outros roedores, a

morfologia celular foi semelhante, variando somente a quantidade de camadas celulares, sendo que em gerbil (HIATT *et al.*, 1974) e hamster (RUSSO, GARTNER, 1987) foram encontrada de três a quatro camadas de células, em camundongo albino (COHN, 1957) uma única camada de células e em rato (LEFKOWITZ *et al.*, 1953), três camadas de células.

O início da fase em campânula em *Calomys callosus* ocorreu no 17º dia de desenvolvimento, de maneira semelhante ao que ocorre no camundongo albino (COHN, 1957), enquanto que em gerbil, ocorre aos 22 dias (HIATT *et al.*, 1974) e em hamster, aos 14 dias de desenvolvimento.

A papila dental, em *Calomys callosus*, mostrou-se constituída por células ectomesenquimais bastante agregadas. O mesmo ocorre com a do gerbil (HIATT *et al.* 1974) e do camundongo albino (COHN, 1957). RUSSO, GARTNER (1987) descreveram a papila dental do hamster como sendo formada por células arredondadas a estreladas, com núcleo grande. LEFKOWITZ *et al.* (1953) citam apenas que, em rato, na região da papila dental, ocorre proliferação e condensação de novos fibroblastos.

O folículo dental em *Calomys callosus* apresentou-se com aproximadamente seis camadas de células mesenquimais fusiformes, englobando o órgão do esmalte e papila. O mesmo ocorre em hamster (RUSSO, GARTNER, 1987), onde este componente também é formado por células fusiformes. Em gerbil (HIATT *et al.*, 1974) e em camundongo albino (COHN, 1957), o folículo é formado por duas a três camadas de células também mesenquimais, sendo que, no camundongo albino, estas células assumem forma achatada. LEFKOWITZ *et al.* (1953) citam que o folículo dental, em rato, é formado pela acumulação de fibroblastos e capilares em torno do órgão do esmalte e papila.

No início da fase em coroa, as células do epitélio interno do órgão do esmalte sofrem alterações morfológicas tornando-se mais altas, sendo assim chamadas de pré-ameloblastos. As células da periferia da papila dental também modificam tornando-se mais altas e polarizadas, sendo agora chamadas odontoblastos, que mais tarde irão

produzir a dentina. O germe dental do *Calomys callosus* aos 20 dias de desenvolvimento, apresentou esta diferenciação celular bem definida, caracterizando o início da fase em coroa do desenvolvimento dental. O mesmo ocorre com camundongo albino (COHN, 1957) e rato (LEFKOWITZ *et al.*, 1953). Em gerbil, aos 20 dias de desenvolvimento o germe dental encontra-se na fase em capuz (HIATT *et al.*, 1974) e no hamster, provavelmente, por ter um período gestacional de 18 dias, a fase em coroa foi observada aos 16 dias de desenvolvimento. LEFKOWITZ *et al.* (1953) citam que os odontoblastos se formam depois dos pré-ameloblastos, sendo que os pré-ameloblastos influenciam na diferenciação das células da papila em odontoblastos. No *Calomys callosus*, esta diferenciação dos pré-ameloblastos e odontoblastos ocorreu simultaneamente, da mesma forma que em gerbil (HIATT *et al.*, 1974) e hamster (RUSSO, GARTNER, 1987), enquanto que em rato (LEFKOWITZ *et al.*, 1953) e camundongo albino (COHN, 1957), os odontoblastos diferenciaram-se depois dos pré-ameloblastos. O fato desta diferenciação celular ocorrer ao mesmo tempo em *Calomys callosus*, gerbil e hamster, indica que ela não segue um padrão único para os roedores citados.

A lâmina dental permaneceu ligando o germe dental ao epitélio da cavidade oral através dos estágios da odontogênese em *Calomys callosus*, de maneira semelhante ao que ocorre em hamster (RUSSO, GARTNER, 1987).

O blastema ósseo foi observado durante os estágios da odontogênese tanto em *Calomys callosus* como em rato (LEFKOWITZ *et al.*, 1953), camundongo albino (COHN, 1957), gerbil (HIATT *et al.*, 1974) e hamster (RUSSO, GARTNER, 1987).

O início da lâmina vestibular, observado no 17º dia de desenvolvimento do *Calomys callosus*, não pôde ser comparado com o dos roedores citados, pois os trabalhos consultados não relataram o aparecimento da lâmina vestibular.

Em *Calomys callosus*, o broto do 2º molar foi observado aos 18 dias de desenvolvimento, da mesma forma que em rato (LEFKOWITZ *et al.*, 1953), enquanto que em camundongo albino, ocorreu aos 16 dias (COHN, 1957) e em gerbil aos 19 dias (HIATT *et al.*, 1974). Esta semelhança existente entre o *Calomys callosus* e rato,

provavelmente deve-se ao fato deles apresentarem o mesmo tempo gestacional de 21 dias.

O nó do esmalte, encontrado em *Calomys callosus*, é tratado por LEFKOWITZ *et al.* (1953) como sendo artefato de técnica, resultante de cortes oblíquos do germe dental e não como mais uma estrutura no desenvolvimento dental.

Em *Calomys callosus*, o início do blastema ósseo foi observado aos 16 dias, em rato aos 17 dias (LEFKOWITZ *et al.*, 1953), em camundongo albino aos 14 dias (COHN, 1957), e em gerbil, aos 19 dias de desenvolvimento (HIATT *et al.*, 1974).

As diferenças morfológicas dos germes dentais, observadas entre o *Calomys callosus* e os outros roedores, provavelmente, devem ser devidas à diferença de tempo de gestação de cada animal e também às diferenças naturais entre as espécies.

## VI - CONCLUSÃO

De acordo com os resultados que obtivemos, podemos concluir que:

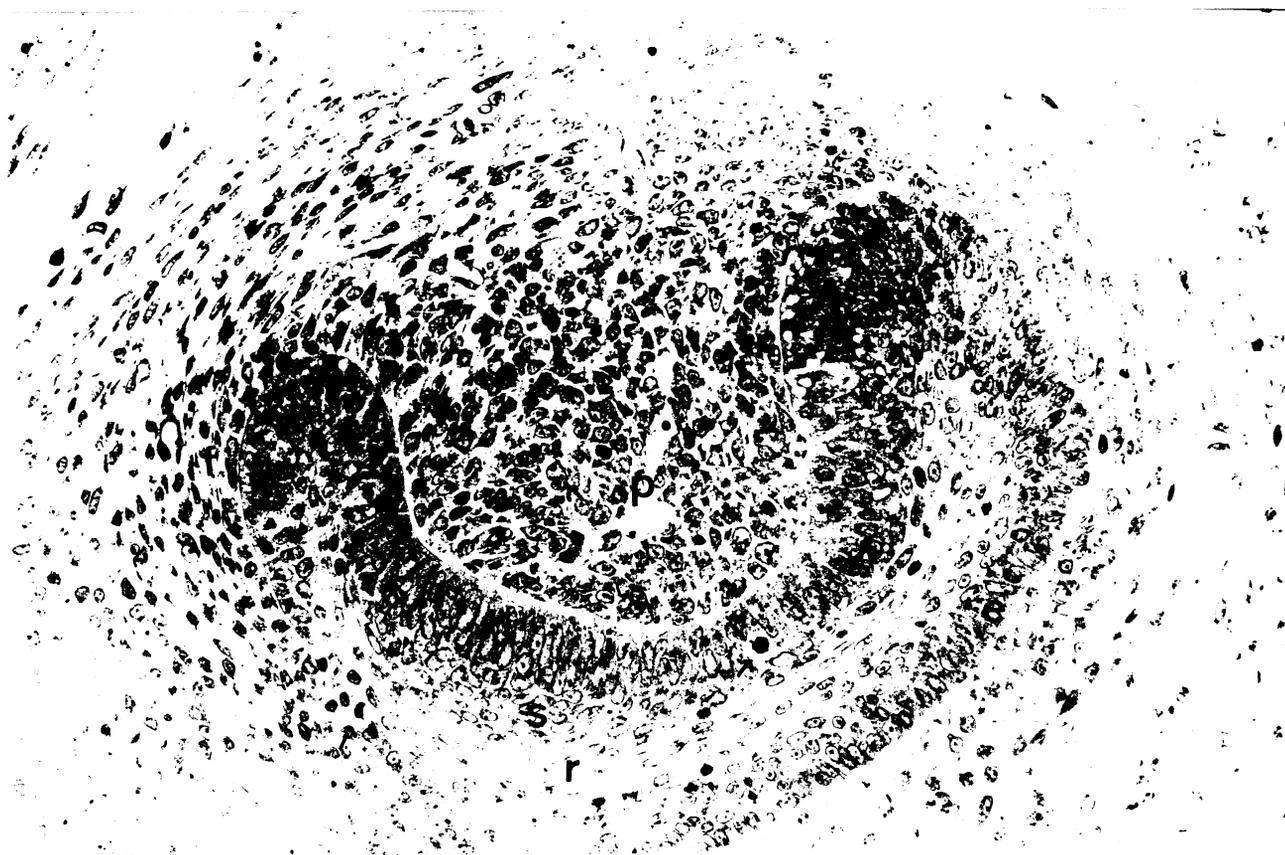
\* A odontogênese do *Calomys callosus* é semelhante a de outros roedores utilizados em laboratório.

\* O *Calomys callosus* pode ser utilizado como modelo biológico para estudos referentes à odontogênese.

## **VII. Pranchas Fotográficas**



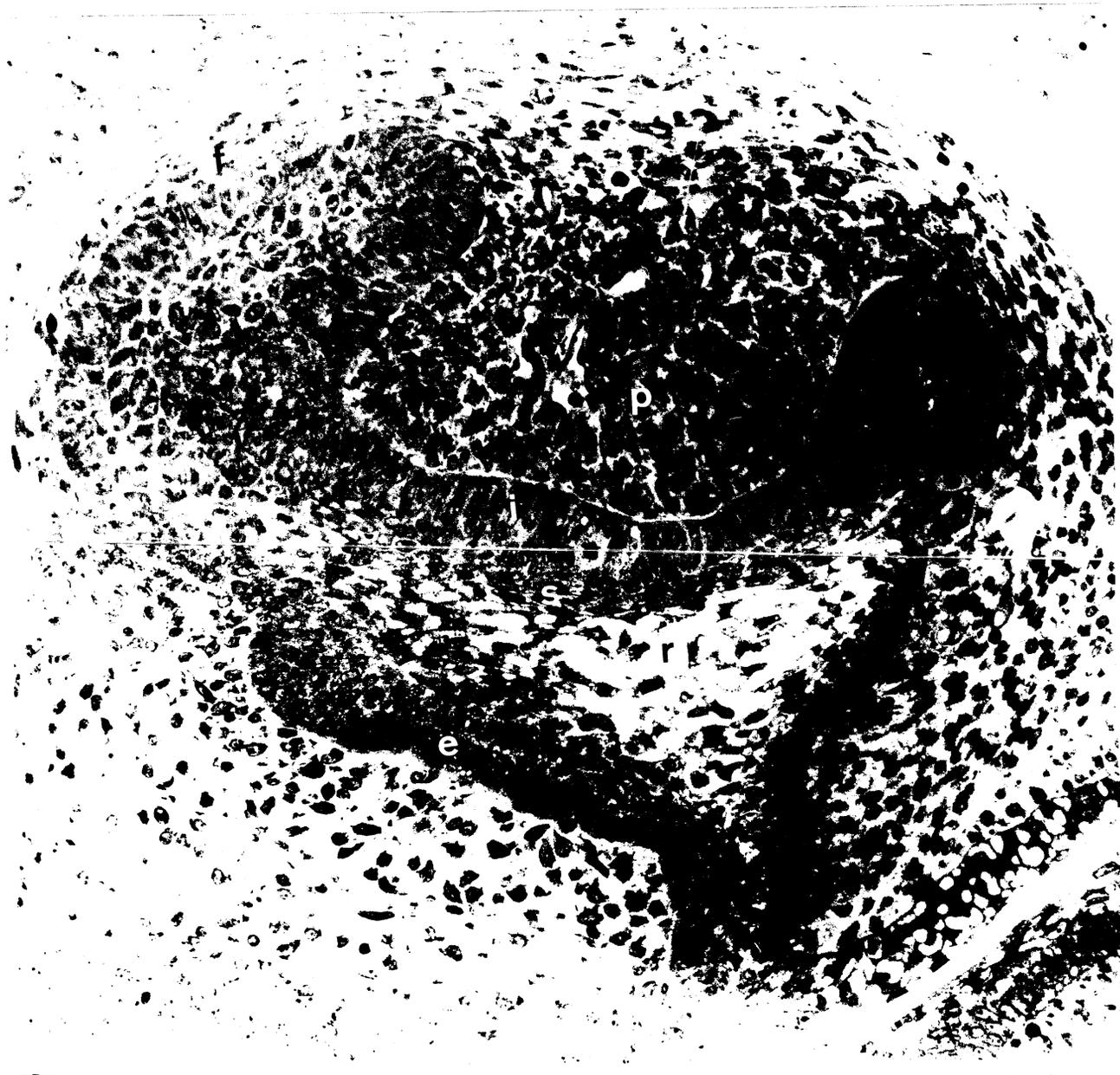
**Figura 1** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 16 dias de vida intra-uterino, evidenciando a fase em capuz. Órgão do Esmalte (oe); Papila Dental(p); Blastema ósseo (o). Ampliação 62,5X.



**Figura 2** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 16 dias de vida intra-uterino, evidenciando a fase em capuz. Epitélio Externo do Órgão do Esmalte (e); Epitélio Interno do Órgão do Esmalte (i); Células que originarão o estrato intermédio (s); Figuras de Mitose (→) Retículo Estrelado (r); Papila Dental (p); Folículo Dental (f). Ampliação 160X.



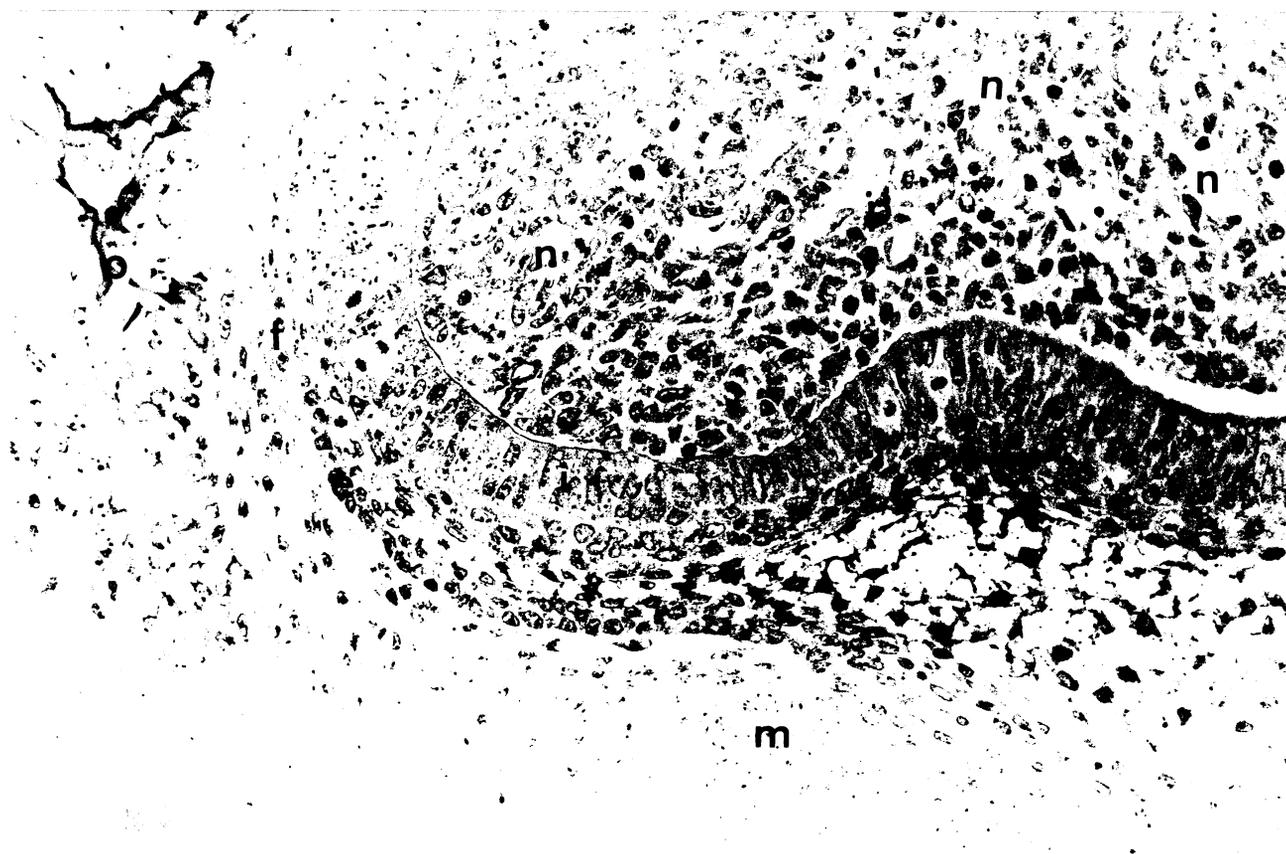
**Figura 3** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 17 dias de vida intra-uterino, evidenciando a transição da fase em capuz para a fase em campânula. Órgão do Esmalte (oe); Papila Dental (p); Blastema ósseo (o) Início de Lâmina Vestibular (- - -). Ampliação 62,5X.



**Figura 4** - Montagem fotomicrográfica de corte frontal da cabeça de feto com 17 dias de vida intra-uterino, evidenciando a transição da fase em capuz para a fase em campânula. Epitélio Externo do Órgão do Esmalte (e); Epitélio Interno do Órgão do Esmalte (i); Retículo Estrelado (r); Estrato Intermédio (s); Papila Dental (p); Folículo Dental (f). Ampliação 160X.



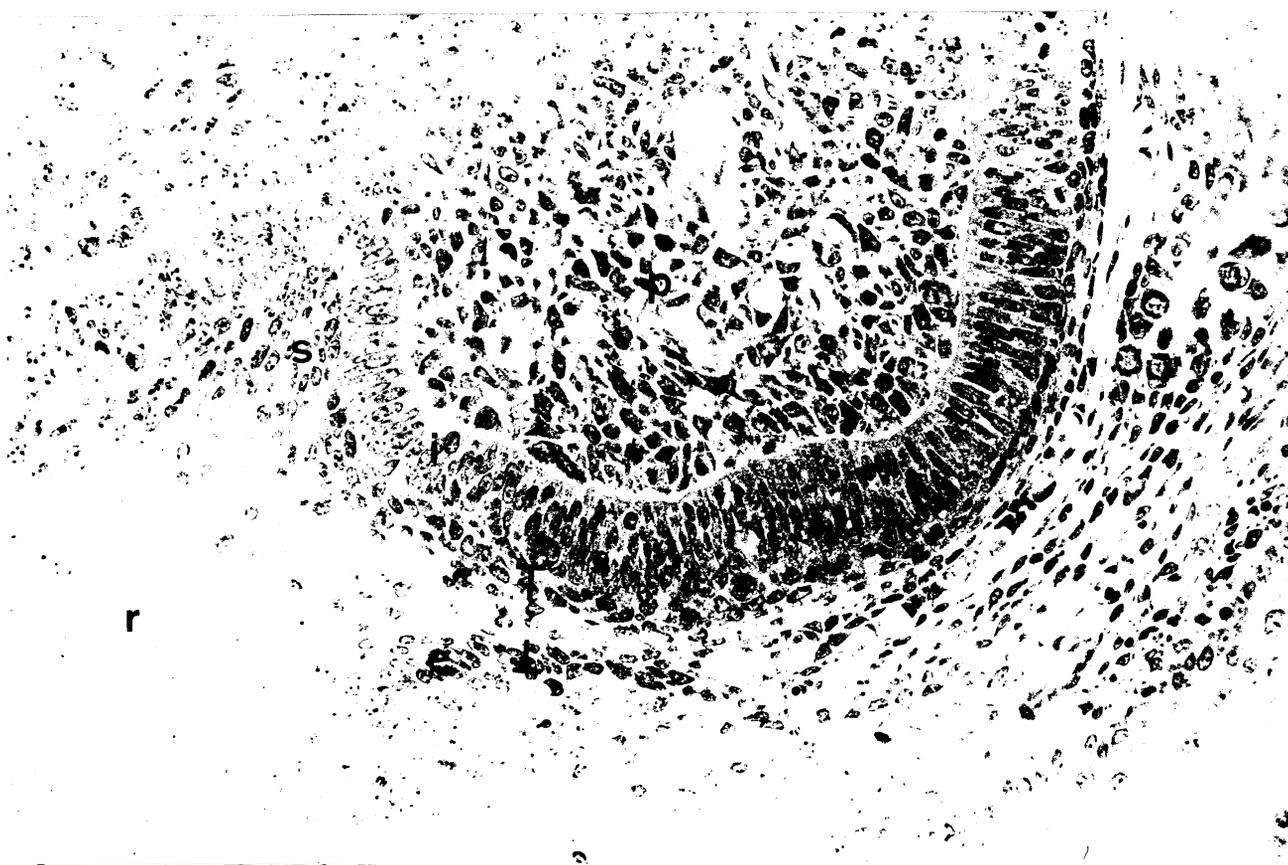
**Figura 5** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 18 dias de vida intra-uterino. Evidenciando a fase em campânula. Órgão do Esmalte (oe); Papila Dental (p); Blastema ósseo (o); Lâmina Vestibular (v); Extensão epitelial, provável germe do 2º Molar (m). Ampliação 62,5X.



**Figura 6** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 18 dias de vida intra-uterino, evidenciando parte do Órgão do Esmalte e Papila Dental. Epitélio Externo do Órgão do Esmalte (e); Epitélio Interno do Órgão do Esmalte (i); Reticulo Estrelado (r); Estrato Intermédio (s); Papila Dental (p); Folículo Dental (f); Blastema ósseo (o); Extensão epitelial, provável germe do 2º Molar (m) Vasos Sanguíneos (n). Ampliação 160X.



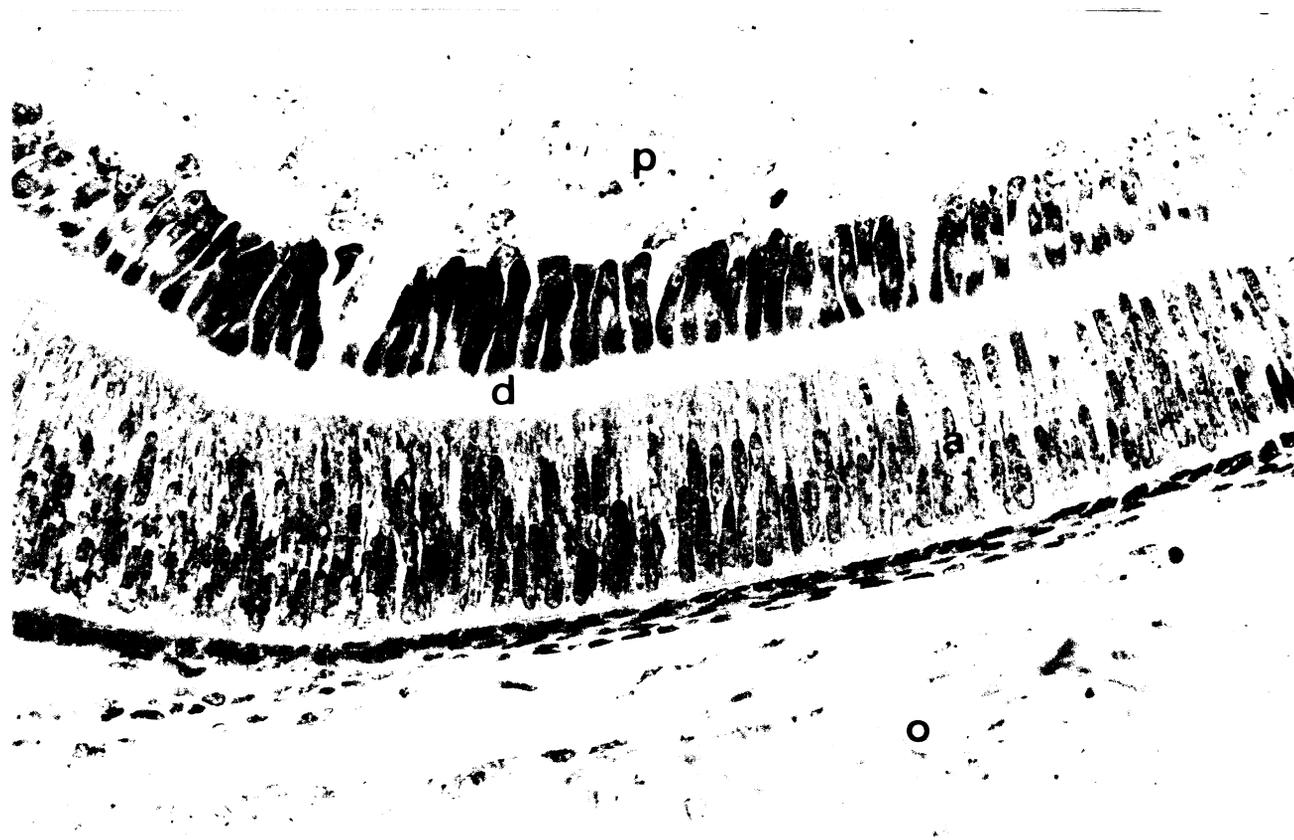
**Figura 7** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 19 dias de vida intra-uterino, evidenciando a fase em campânula. Órgão do Esmalte (oe); Papila Dental (p); Blastema ósseo (o); Lâmina Dental (l) Ampliação 62,5X.



**Figura 8** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 19 dias de vida intra-uterino, evidenciando parte do Órgão do Esmalte (oe) e Papila Dental (p). Epitélio Externo do Órgão do Esmalte (e); Epitélio Interno do Órgão do Esmalte (i); Reticulo Estrelado (r); Estrato Intermédio (s); Papila Dental (p); Blastema ósseo (o). Ampliação 160X.



**Figura 9** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 20 dias de vida intra-uterino, evidenciando Epitélio Interno do Órgão do Esmalte (i); Reticulo Estrelado (r); Odontoblasto (b); Papila Dental (p); Blastema ósseo (o). Ampliação 62,5X.



**Figura 10** - Fotomicrografia de corte frontal da cabeça de feto com 20 dias de vida intra-uterino. Estrato Intermédio (s); Pré-ameloblastos (a); Odontoblastos (b); Manto Dentinário (d); Papila Dental (p); Blastema ósseo (o). Ampliação 160X.

### VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>5</sup>

1. ALMEIDA, A. W., ALMEIDA, M. L. P., DECHICHI, P. Dermatan sulphate associated with collagen fibrils in early developing dentin. **J. Dent. Res.** 73 v., n. 4. p. 761, 1994.
2. \_\_\_\_\_. Extraction by EDTA of proteoglicans associated with collagen fibrils. **J. Dent. Res.** 73 v. n. 4. p. 796, 1995.
3. ALMEIDA, M. L. P., ALMEIDA, A. W., DECHICHI, P. The mineralization process of collagen fibrils in dentin. **J. Dent. Res.** 75 v. n. 5. p. 1081, 1996.
4. ALMEIDA, A. W., DECHICHI, P. ALMEIDA, M. L. P. A model to explain the mineralization process in mantle dentin of rat. teeth. **VI<sup>th</sup> International Conference on Tooth Morphogenesis and Differentiation.** Göteborg Sweden. June 15-18<sup>th</sup>, 1997.
5. ANDUJAR, M. B., MAGLORIE, H. Collagen gene expression and tooth development. **J. Biol. Buccale**, 18 v. n. 2. p. 117-122, 1990.

---

<sup>5</sup> Normas de citações bibliográficas segundo NBR 6023/1989 - ABNT.

6. BORGES, M. M. *et al.*. Gama INF and macrophage respiratory bursy in *Calomys callosus* challenged with *Trypanosoma cruzi* bloodstream and metacyclic forms. **Imuno. Letters.** 42 v. n. 1 / 2. p. 81-85, 1994.
7. CASASCO, A. Application of immunocytochemistry for detection of proliferating cell populations during tooth development. **Anat. Rec.** 245 v. n. 2. p. 151-161, 1996.
8. COHN, S. A. Development of the molar teeth in the albino mouse. **Am. J. Anat., Philadelphia**, 101 v. p. 295-319, 1957.
9. COUWENHOVEN, R. I. , SNEAD M. L. Early determination and permissive expression of amelogenin transcription during mouse mandibular first molar development. **Dev. Biol.** 164 v. n. 1. p. 290-299, 1994.
10. DECHICHI, P., ALMEIDA, A. W, ALMEIDA, M. L. P. Associação das glicosaminoglicanas com as fibrilas de colágeno nos processos de mineralização de manto dentinário. **An. Soc. Bras. Pesq. Odont.** 6 v. p. 79, 1990.
11. FINN, C. A., MACLAREN, A. A study of the early stage of implantation in mice. **J. Reprod. Fert.** 13 v. p. 259-267, 1967.
12. GALBRAITH, D. B., CUTLER, L. S., KOLLAR, E. J. The correlation of temporal regulation of glycosaminoglycan syntese with morphogenetic events in mouse tooth development. **Archs. Oral Biol.** 37 v. n. 8. p. 623-628, 1992.
13. HATA, H. *et al.*. Epidermal growth factor regulates gene expression of both epithelial and mesenchymal cells in mouse molar tooth organs in culture. **Cell. Biol. Int. Reports.** 14 v. n. 6. p. 509-519, 1990.
14. HIATT, J. L., GARTNER, L. P, PROVENZA, D. V. Molar development in the Mongolian gerbil (*Mericones unguiculatus*). **Am. J. Anat. Philadelphia.** 141 v. p. 1-22, 1974.

15. JUSTINES, G., JOHNSON, K. M. Immunotolerance in *Calomys callosus* infected with Mapucho virus. **Nature**. 22 v. p. 1090-1091, 1969.
16. KHAEJORN BUT, J., WILSON, D. J., OWENS, D. A. The development and fate of the dental lamina of the mandibular first molar tooth in the rat. **J. Anat.** 179 v. p. 85-96, 1991.
17. LEFKOWITZ, W., BODECKER, C. F., MARDFIN, D. F. Odontogenesis of the rat molar. **J. Dent. Res.** 32 v. p. 749-772, 1953.
18. MACEDO, M. L. H. **Odontogênese intra uterina em *Calomys callosus* (RENGER, 1830)**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia: 1996. 25 p. (Monografia de conclusão. Curso de Ciências Biológicas).
19. MARK, M. P. *et al.*. Chondroitin sulfates in developing mouse tooth germs. An immunohistochemical study with monoclonal antibodies against chondroitin-4 and chondroitin-6 sulfates. **Differentiation**, 43 v. n. 1. p. 37-50, 1990.
20. McCLATCHEY, K. D. Tumors of the dental lamina: a selective review. **Semin. Diagn. Pathol.** 4 v. n. 3. p. 200-204, 1987.
21. MELLO, D. A. Biology of *Calomys callosus* (RENGER, 1830) under laboratory conditions (Rodentia, Cricetidae). **Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.** 10 v. n. 2. p. 107, 1978.
22. NAKAMURA, M. *et al.*. Translocation of enamel proteins from inner enamel epithelia to odontoblasts during mouse tooth development. **Anat. Rec.** 238 v. p. 383-396, 1994.
23. RIBEIRO, R. D. Novos reservatórios de *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Bras. Biol.** 33 v. n. 3. p. 429-37, 1973.
24. RUSSO, P. L. GARTNER, L. P. First molar odontogenesis in the golden Syrian hamster (*Cricetus auratus*). **An. Ani.** 164 v. n. 4. p. 275-89, 1987.

25. SASAGAWA, I. The fine structure of initial development in the gummy shark, *Mutelus manzo*, Elasmobranchia. **J. Anat.** 164 v. p. 175-87, 1989.
26. SLAVKIN, H. C. *et al.*. Factors influencing the expression of dental extracellular matrix biomineralization. **Ciba Found. Symp.** 136 v. p. 22-41, 1988.
27. SMITH, A. J., WILSON, C., MATTHEWS, J. B. An immunocytochemical study of keratin reactivity during rat odontogenesis. **Histochemistry.** 94 v. n. 3. p. 329-335, 1990
28. TEN CATE, A. R. **Oral Histology: development, structure, and function.** 3. ed. St. Louis: The C. V. Mosby Company, 1989.
29. VAZ-DE-LIMA, L. R. A. *et al.*. Rodents in agroecosystems in the cerrado province of the Federal District (Brasília D. F., Brazil), **Bras. J. Med. Biol. Rev.** 25 v. n. 2. p. 161-166, 1992.
30. WALDRON, C. A., MUSTOE, T. A. Primary intraosseous carcinoma of the mandible with probable origin in an odontogenic cyst. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** 67 v. n. 6. p. 716-724, 1989.