

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

ODONTOGÊNESE INTRA-UTERINA EM
***Calomys callosus* (RENGER, 1830)**

MARIA LUCILA HERNÁNDEZ MACEDO

UBERLÂNDIA-MG
DEZEMBRO-1996

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

ODONTOGÊNESE INTRA-UTERINA EM
Calomys callosus (RENGER, 1830)

MARIA LUCILA HERNÁNDEZ MACEDO

PROF^a DRA. MARIA LÚCIA PRADA DE ALMEIDA
ORIENTADORA

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

UBERLÂNDIA
DEZEMBRO - 1996

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

ODONTOGÊNESE INTRA-UTERINA EM
Calomys callosus (RENGER, 1830)

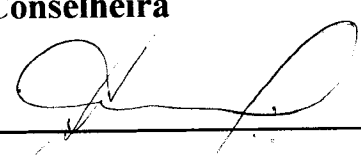
MARIA LUCILA HERNÁNDEZ MACEDO

APROVADA PELA COMISSÃO EXAMINADORA EM: __/__/__

MÉDIA: ____

Profª Dra. Maria Lúcia Prada de Almeida
Orientadora

Profª MSc. Paula Dechichi
Conselheira



Prof. Dr. Antônio Wilson de Almeida
Conselheiro

Profª MSc. Nora-Ney Santos Barcelos
Coordenadora do Curso

UBERLÂNDIA
DEZEMBRO - 1996

**Caminante, son tus huellas el camino y nada mas,
caminante no hay camino, se hace camino al andar,
al andar se hace camino y al volver la vista atrás se
vé las sendas que nunca has de volver a pisar .
Caminante no hay camino sino estelas en la mar.**

Antonio Machado.

**Aos meus pais, Tito e Maria,
pelo amor e exemplo de vida.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por cada desafio e por cada momento de felicidade.

A Prof.^a M. Paula Dechichi, pela valiosa orientação, enorme paciência e disposição, pelos ensinamentos transmitidos e pelo agradável convívio.

A Prof.^a Dra. Maria Lúcia Prada de Almeida, pela atenção e ajuda na elaboração deste trabalho.

A Prof.^a M. Eloísa Amália Vieira Ferro, pela valiosa ajuda e disposição no transcurso deste trabalho.

A todos os funcionários do Setor de Citologia, Histologia e Embriologia, que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização desta monografia.

A meus queridos pais Tito e Maria, responsáveis por cada conquista em minha vida e aos meus irmãos Sonia e Miguel pela cumplicidade, amizade e amor que mesmo de longe se conserva e se conservará para sempre.

A meus queridos tios Manuel e Eliza pelo carinho e conselhos e por estarem presentes nos momentos que mais precisei de um pai e uma mãe nestes cinco anos no Brasil.

Às minhas amigas e colegas, Gabriela, Renata, Roberta e Susi por me ensinarem na convivência, a aceitar as pessoas com suas virtudes e defeitos e pelos inúmeros momentos de tristeza e alegria compartilhados no nosso convívio.

A todas as amizades que fiz ao longo do curso, com as quais compartilhei momentos inesquecíveis da minha vida universitária.

A Maria Inês com a qual entrei nesta pesquisa, e acompanhou e ajudou no desenvolvimento deste trabalho.

ÍNDICE

I- INTRODUÇÃO.....	1
II- OBJETIVOS.....	5
III- MATERIAL E MÉTODOS.....	6
3.1- Espécimes.....	6
3.2- Acasalamento.....	6
3.3- Fixação e Processamento do Material.....	7
3.3.1- Processamento do Material para Análise Histológica.....	7
3.3.2- Processamento do Material para Análise da Morfogênese.....	7
IV- RESULTADOS	8
4.1- Análise da Morfogênese da Face.....	8
4.2- Análise Histológica.....	9

4.2.1- 12º dia de desenvolvimento.....	9
4.2.2- 13º dia de desenvolvimento.....	9
4.2.3- 14º dia de desenvolvimento.....	10
4.2.4- 15º dia de desenvolvimento.....	11
 V- DISCUSÃO	12
5.1- Morfogênese da Face.....	12
5.2- Análise Histológica.....	13
 VI- CONCLUSÃO.....	15
 VII- DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA.....	16
 VII- BIBLIOGRAFIA.....	21

RESUMO

Estudos em odontogênese utilizam diferentes animais, principalmente roedores, como ratos, camundongos, hamsters e gerbils; o desenvolvimento dental em *Calomys callosus* ainda não foi descrito. *Calomys callosus* é um roedor que vem sendo amplamente utilizado em pesquisas de diferentes áreas, principalmente em estudos de doenças tropicais, pois é considerado reservatório de *Trypanosoma cruzi*, *Yersinia pestis*, e do vírus Mapucho. Tendo em vista a crescente utilização do *Calomys callosus* como animal de laboratório, o presente trabalho propõe o estudo da odontogênese deste roedor, comparando-a com outros roedores. Assim poderíamos apresentá-lo como mais um modelo biológico para estudos do desenvolvimento dental. Neste trabalho, coletou-se, por abertura abdominal, 15 fetos de 11-15 dias sendo três para cada dia de desenvolvimento. Estes foram decapitados e duas cabeças correspondentes a cada dia de desenvolvimento, foram processadas para inclusão em historesina e as demais permaneceram em etanol 70%. Os espécimes incluídos em historesina foram analisados à microscopia de luz e os demais ao microscópio estereoscópico, para análise da morfogênese da face. Os animais, com 11 dias de desenvolvimento, não apresentaram indícios de odontogênese; com 12 dias observou-se o surgimento da banda epitelial primária; com 13 dias, os fetos apresentaram formação da lâmina dentária e início do estágio em botão (na região do 1º molar), que definiu-se aos 14 dias de desenvolvimento; no 15º dia foi observado o estágio em capuz da odontogênese. Não foi observada a formação da lâmina vestibular. Estes resultados indicam bastante semelhança entre a odontogênese do *Calomys callosus* e a dos demais roedores utilizados em laboratório, o que sugere que esta espécie poderia ser utilizada como modelo biológico para estudos referentes à odontogênese.

I- INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da face no aspecto histológico e anatômico obedece um padrão geral nos vertebrados (BHASKAR , 1978).

No início da morfogênese da face observa-se a formação do processo frontonasal e do estomodeo, o qual dará origem à cavidade bucal. Mais lateral e superior às fossetas nasais no processo fronto nasal, surgem as vesículas ópticas e lateralmente ao estomodeo desenvolvem-se seis pares de saliências denominadas arcos branquiais, sendo o quinto par uma estrutura transitória no embrião humano (TEN CATE, 1989).

O primeiro par de arcos branquiais diferencia-se originando os processos maxilares e mandibulares, os quais são revestidos por ectoderma e apresentam na sua região central ectomesênquima .

Os processos maxilares surgem lateralmente, e crescem em sentido anterior até fusionarem-se com os processo nasal medial e lateral, formando a futura maxila . Os processos mandibulares crescem no sentido látero-posterior para anterior, formando a futura mandíbula.

Na superfície superior do processo mandibular e na superfície inferior do processo maxilar, o epitélio prolifera formando um espessamento epitelial denominado epitélio odontogênico, o qual também se desenvolve na região lateral dos processos nasais mediais (TEN CATE, 1989). Após a fusão destes processos, o epitélio odontogênico torna-se contínuo

epitélio odontogênico torna-se contínuo e o espessamento epitelial passa a ser denominado banda epitelial primária, a qual acompanha o desenho dos futuros arcos dentais.

Modificações morfohistológicas decorrentes da interação entre banda epitelial primária e o ectomesênquima caracterizam o processo da odontogênese. Logo no início da sua formação, a banda epitelial primária mergulha no interior do ectomesênquima e divide-se inicialmente em lâmina vestibular e lâmina dental. A lâmina vestibular, abre-se na região central enquanto migra, diferentemente da lâmina dental que mantém-se unida à superfície do epitélio oral.

A lâmina dental responderá pela formação dos germes dentais, que surgem como pontos de atividade proliferativa celular em pontos específicos onde se instalarão os futuros dentes nas arcadas, originando pequenas massas epiteliais esferoidais, ao redor das quais condensam-se células do ectomesênquima, caracterizando a primeira fase da odontogênese, dita fase em botão.

O botão epitelial, interagindo com o ectomesênquima, prolifera e assume a forma de um capuz, o qual envolve, na sua concavidade, células ectomesenquimais que constituem a papila dental. Outras células ectomesenquimais aproximam-se da superfície do germe e condensam-se envolvendo o capuz e a papila dental, para constituir o folículo ou saco dental. Esta etapa caracteriza a fase em capuz da odontogênese e o componente epitelial passa a ser denominado órgão do esmalte.

O órgão do esmalte evolui para a forma de sino ou campânula. Nesta estrutura, observa-se o epitélio interno do órgão do esmalte, o estrato intermediário, o retículo estrelado e o epitélio externo do órgão do esmalte. Este estágio é denominado fase em campânula da odontogênese e é nesta etapa que fica determinada a forma da coroa dental.

O estágio seguinte é denominado fase em coroa da odontogênese e caracteriza-se pela histogênese dos tecidos dentais com formação da dentina coronária e do esmalte.

Apesar da odontogênese ser um processo contínuo, é possível caracterizar as quatro fases supracitadas. Este padrão de desenvolvimento parece ser comum aos mamíferos.

Trabalhos datados da época de 1890 envolvendo aspectos da biologia dental de camundongos e ratos foram encontrados na literatura por HIATT et al., (1974).

Estudos da morfologia do desenvolvimento dos primeiros molares em camundongos mostraram as quatro fases da odontogênese. No dia 12º e 13º, de desenvolvimento fetal, observou-se o desenvolvimento da lâmina dental. No 14º e 15º, de desenvolvimento foram encontrados germes dentais nas fases de botão e capuz respectivamente, já no 18º, 19º e 20º foram observadas as fases de campânula com a determinação da forma das coroas (COHN, 1957).

HIATT et al., (1974) propuseram o gerbil da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) como modelo de estudo da morfologia dental, pois estes autores encontraram características de odontogênese semelhantes às dos roedores utilizados neste campo de estudo.

Trabalhos envolvendo a morfologia dental não apresentam só interesse morfológico, mas também interesse clínico, pois sabe-se que resíduos epiteliais da lâmina dental, podem originar cistos (KHAEJORBUT et al., 1991) e outras alterações patológicas que poderão ocorrer em diferentes fases do desenvolvimento dental.

A odontogênese envolve vários processos biológicos, como interações epitélio-mesênquimais, morfogênese e biomineralização (TEN CATE, 1989). Estudos envolvendo estes processos foram amplamente documentados nos últimos anos utilizando-se diferentes animais, principalmente roedores (ISHIZEKI et al., 1987; RUSSO et al., 1987; AHMAD et al., 1988; COUWENHOVEN et al., 1994).

A biomineralização da matriz extracelular dos tecidos dentários e o papel que algumas proteínas desempenham neste processo foram estudados com o intuito de analisar quando e onde se inicia a mineralização (SLAVKIN et al., 1988; SASAGAWA, 1989; LLARENA DEL ROSARIO et al., 1990).

A regulação gênica nas células mesenquimais no desenvolvimento dental (ANDUJAR et al., 1990; HATA et al., 1990) foi estudada, nos últimos anos, juntamente com a síntese de glicosaminoglicanas e seu papel na morfogênese dental (GALBRAITH et al., 1992), bem como as translocações protéicas sofridas durante a odontogênese (NAKAMURA et al., 1994).

Transplantes dos germes dentais de alguns roedores, em diversos órgãos de animais isogênicos, foram estudados, contribuindo com pesquisas de histocompatibilidade imunológica e elucidando as interações epitélio-mesenquimais no desenvolvimento dental (ISHIZEK et al., 1987). Estudos utilizando a imunoistoquímica e imunocitoquímica, para a localização de diferentes componentes da matriz intercelular do germe dental, têm sido realizados recentemente (MARK et al., 1990; SMITH et al., 1990).

Roedores, especialmente ratos, camundongos, hamsters e gerbils têm sido amplamente utilizados nas pesquisas envolvendo a biologia dental (RUSSO et al., 1986). O desenvolvimento dos primeiros molares, em camundongo (COHN et al., 1967; PAYNE et al., 1977), rato (LEFKOWITZ et al., 1953) e gerbil (HIATT, 1974), foram amplamente documentados, porém a odontogênese em *Calomys callosus* ainda não foi descrita.

O *Calomys callosus* pertence à superfamília Muroidea, onde estão incluídas as famílias Cricetidae, à qual pertencem os hamsters e os *Calomys sp* e Muridae que incluem ratos e camundongos.

O gênero *Calomys* habita a América do Sul e Central, ocorrendo em distintos tipos de biomas: florestas tropicais, borda da mata, savana, caatinga, pastagens e habitações humanas (MELLO, 1977). Duas espécies deste gênero *Calomys laucha* e *Calomys callosus* ocorrem no sul, nordeste e parte central do Brasil (MELLO, 1977).

Do ponto de vista epidemiológico 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), de *Yersinia pestis* (causador da peste bubônica) e reservatório do vírus Mapucho, causador da febre hemorrágica argentina (JUSTINES, et al., 1969).

Calomys callosus é um roedor poliétrico, com estros pós parto. O ciclo estral é de aproximadamente seis dias e o período gestacional de cerca de 21 dias (MELLO, 1978).

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

Tendo em vista a crescente utilização do *Calomys callosus* como animal de laboratório, para os mais diferentes estudos, o presente trabalho propõe um estudo da odontogênese intra-uterina de *Calomys callosus*.

II- OBJETIVO

2.1- Descrever morfológicamente a odontogênese do 1º molar do *Calomys callosus* (RENGER, 1830), no período compreendido entre 11º e 15º dia de desenvolvimento intra-uterino.

2.2- Comparar a odontogênese de *Calomys callosus* no período de 11º a 15º dia de desenvolvimento intra-uterino com a de roedores utilizados em laboratório (rato, camundongo, gerbil e hamster) .

2.3- Propôr o *C. Callosus* como mais um modelo biológico para estudo da odontogênese.

III- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Espécimes:

Os animais utilizados neste experimento foram cedidos pelo Instituto de Medicina Tropical de São Paulo e trazidos para à Universidade Federal de Uberlândia, em 1992.

Os *calomys callosus* são mantidos em gaiolas no Biotério do Setor de Citologia, Histologia e Embriologia com dieta “*ad libitum*” de água e ração granulada complementada com sementes de girassol e milho, e expostos a 12 horas de luz e 12 horas de escuro, sendo utilizados, para estudos, após três meses de idade.

3.2- Acasalamento:

Neste trabalho, foram utilizados 10 fêmeas e 5 machos. Os animais foram colocados na proporção de duas fêmeas para cada macho, sendo o acasalamento detectado pela presença de rolha vaginal, o que indica primeiro dia de gestação.

3.3- Fixação e Processamento do Material:

Uma fêmea grávida a cada dia, no período de 11º a 15º dia de gestação, foi anestesiada por inalação de éter etílico e, em seguida, sofreu laparotomia para a retirada dos fetos, verificando-se em média 6 fetos por fêmea. Posteriormente, os fetos foram decapitados e submersos por 15 horas em solução fixadora AFA (etanol 95%, formalina, ácido acético

glacial e água destilada na proporção de 3:1:1:5 em volume) (FINN & MCLAREN, 1967). As fêmeas grávidas, após a laparotomia, foram sacrificadas por inalação de éter etílico.

Três cabeças, correspondentes a cada dia de gestação, foram processados pela técnica histológica de inclusão em historesina para análise histológica. O restante do material foi mantido em etanol 70% para estudo da morfologia externa.

3.3.1- Processamento do Material para Análise Histológica:

Para inclusão em historesina, o material após fixação, foi desidratado em uma série de etanóis de concentrações crescentes. Após a desidratação, o material foi infiltrado em mistura 1:1 de glicol metacrilato¹ e etanol absoluto por 18 horas. Em seguida, imerso em solução infiltradora² por 24 horas e incluído em mistura³ de resina a temperatura ambiente.

Os espécimes foram orientados durante a inclusão de forma que o plano de corte fosse perpendicular aos futuros arcos dentais e paralelo ao plano frontal. Os cortes seriados de 0,5 micrômetros de espessura, foram obtidos com auxílio de um micrótomo Laica Reichert Jung Supercut. Estes foram corados com uma mistura de 1gr. de azul de toluidina, 1gr. de borato e 100ml de água destilada por 60 segundos. Os cortes histológicos montadas em lâminas de vidro foram analisados com um microscópio de luz Carls Zeiss.

3.3.2- Processamento do Material para Análise da Morfologia Externa:

O material selecionado para o estudo da morfologia externa, foi colocado em placa de Petri contendo etanol 70% e analisado com auxílio de um microscópio-estereoscópio Carls Zeiss.

¹ Resina metacrilato Historesin, LRB 2218-599, Swenden

² Solução infiltradora : 50ml de resina básica (glicol metacrilato)
5ml de ativado (peróxido de benzila)

³ 15ml de solução infiltradora e 1ml de endurecedor (derivado de ácido barbitúrio-DMSO)

IV- RESULTADOS

4.1- Análise da Morfogênese da Face:

Os embriões com 11 dias (Fig.1) de vida intra-uterina apresentaram estomodeo, limitado cranialmente pela proeminência frontonasal e caudalmente pelo 1º arco branquial.

Nas regiões látero-mediais da proeminência frontal observaram-se as fossetas nasais, limitadas pelos processos nasais mediais e laterais correspondentes. Lateralmente ao processo frontonasal, observaram-se também as vesículas ópticas em desenvolvimento.

O primeiro arco branquial apresentou-se diferenciado em processo mandibular e em um par de processos maxilares, os quais foram observados lateralmente ao estomodeo em forma de uma expansão triangular que se desenvolveu a partir da superfície cefálica da porção dorsal do processo mandibular.

Nos fetos com 12 dias (Fig. 1), os processos maxilares iniciam a fusão com os processos nasais mediais e laterais. As fossetas nasais localizam-se mais centralizadas na proeminência frontal e as vesículas ópticas evoluem, para iniciarem a formação do olho.

Com 13 dias (Fig. 1), os fetos apresentam lábio superior e inferior e a região maxilar e nasal mostram um crescimento anterior, iniciando a formação do focinho do animal. Os olhos em desenvolvimento, migraram para a região mais central da face. Na mesma altura dos mesmos, começou o desenvolvimento do pavilhão auditivo, na região lateral.

O crescimento da região maxilar e nasal tornou-se mais acentuado nos fetos com 14 dias (Fig. 2), definindo o focinho do animal.

Os fetos, com 15 dias (Fig. 2), mostraram-se mais desenvolvidos no tamanho, mas não apresentaram mudanças morfológicas em relação aos de 14 dias. Nesta etapa de desenvolvimento, os fetos apresentaram a morfologia característica da face do animal.

4.2- Análise Histológica:

Com 11º dias de desenvolvimento o embrião não apresentou indício de odontogênese.

4.2.1- 12º dia de Desenvolvimento:

O embrião, com 12 dias de desenvolvimento, apresentou um espessamento epitelial contínuo de células cuboidais nas bordas inferiores e superiores da maxila e mandíbula respectivamente, acompanhando o formato dos arcos maxilar e mandibular da cavidade oral. Este espessamento é compatível com a descrição da banda epitelial primária (Fig. 3) e (Fig. 4).

Na região dos primeiros molares superiores e inferiores, bem como na região dos futuros incisivos inferiores, a banda epitelial apresentou-se mais espessada, constituída aproximadamente de cinco a seis camadas de células cilíndricas baixas (Fig. 4).

O espessamento epitelial, da banda epitelial primária e sua invaginação no ectomesênquima, pela proliferação celular tanto na região dos futuros primeiros molares, quanto na região dos futuros incisivos inferiores, caracterizam este período de desenvolvimento

4.2.2- 13º dia de Desenvolvimento:

Na maxila, a banda epitelial primária continua a proliferar invadindo o ectomesênquima e assumindo a forma de uma coluna de células perpendiculares à superfície epitelial, compatível com a lâmina dentária (Fig. 5). Esta lâmina apresenta células colunares baixas na região em contato com a lâmina basal, enquanto que as células centrais apresentaram morfologia variada (Fig. 5).

Na região do 1º molar superior e inferior, a extremidade da lâmina dentária apresentou atividade proliferativa originando uma massa epitelial arredondada ao redor da qual ocorreu condensação de células ectomesenquimais, sugerindo o início da fase em botão da odontogênese.

Este botão epitelial apresentou, no seu contorno, duas a três camadas de células colunares baixas. Na porção que corresponde à lâmina dental do botão as células constituíram uma única camada. Já na região central do botão, as células tiveram aspecto arredondado e menos corado.

O incisivo superior iniciou seu desenvolvimento, neste período, apresentando proliferação do epitélio no ectomesênquima. O incisivo não obedece ao padrão morfológico, de desenvolvimento, seguido pelos molares.

Neste período de desenvolvimento, observou-se os processos palatinos secundários contornando as bordas laterais da língua.

Na mandíbula, observou-se o desenvolvimento da cartilagem de Meckel juntamente com a formação do tecido ósseo.

4.2.3 - 14º dia de Desenvolvimento.

A esfera epitelial da lâmina dentária proliferou, assumindo o aspecto arredondado do botão epitelial (Fig. 6).

As células periféricas do botão epitelial apresentaram-se mais densamente coradas, formando de duas a três camadas de células cilíndricas baixas aproximadamente, (Fig. 6). As células que compõem a região central tiveram aspecto poligonal e foram menos coradas, de maneira semelhante ao observado nos fetos de 13 dias de desenvolvimento. Já a lâmina dentária mostrou-se mais estreita em relação ao observado no 13º dia e as células apresentaram aspecto cuboidal.

As células ectomesenquimais que contornam o botão epitelial apresentaram-se mais condensadas do que nas áreas adjacentes (Fig. 6).

Os processos palatinos secundários deslocaram-se ascendentemente, ficando no terço anterior da língua.

4.2.4- 15º dia de Desenvolvimento:

O botão epitelial proliferou formando depressão na sua porção mediana, originando uma região côncava e outra convexa, caracterizando a transição do botão epitelial para fase em capuz da odontogênese, constituindo o órgão do esmalte (Fig. 7).

Contornando a convexidade do órgão do esmalte observaram-se células cilíndricas baixas, o que é compatível com a formação do epitélio externo do órgão do esmalte (Fig. 7). A concavidade do capuz apresentou células cilíndricas baixas, correspondentes ao início da formação do epitélio interno do órgão do esmalte (Fig. 7). A região central do órgão do esmalte apresentou células estreladas, dispersas possivelmente pelo acúmulo de substâncias intercelulares, formando uma área mais clara e reticular compatível com retículo estrelado (Fig. 7).

Já na concavidade do capuz, as células do ectomesênquima apresentaram maior agregação, sugerindo o início da formação da papila dentária (Fig. 8).

As células do ectomesênquima localizadas ao redor do órgão do esmalte e papila, aumentaram sua condensação originando o folículo dental. Este folículo limita o germe dental do mesênquima adjacente aproximadamente por seis camadas celulares de aspecto fusiforme (Fig. 8).

Em alguns órgãos do esmalte, entre o epitélio externo e as células epiteliais da concavidade do órgão do esmalte, observaram-se proliferação e condensação celular de forma arredondada compatível com nó do esmalte.

Os processos palatinos secundários deslocaram-se para a região superior do terço anterior da língua.

O desenvolvimento da lâmina vestibular não foi observado no período estudado.

V- DISCUSSÃO

5.1- Morfogênese da Face:

O estudo da morfologia externa da face dos embriões e fetos de *Calomys callosus* apresentou alguma similariedade com o desenvolvimento facial de embriões humanos

No 11º dia de desenvolvimento, foi observado o processo mandibular e o crescimento, da região posterior para a anterior dos processos maxilares, juntamente com a região látero-medial do processo frontonasal. O embrião, neste estágio de desenvolvimento, apresentou as fossetas nasais limitadas pelos processos nasal, medial e lateral que, juntamente com o processo mandibular, delimitam o estomodeo. Este período de desenvolvimento é compatível ao do embrião humano com 5 a 6 semanas desenvolvimento (LARSEN, 1993).

Nos fetos de 12 dias de desenvolvimento, os processos maxilares iniciam seu fusionamento com os processos mediais e laterais e as fossetas nasais localizam-se mais centralmente na proeminência frontal. Neste período, os olhos, em desenvolvimento, também foram observados. Este período apresenta as mesmas características que são encontradas no embrião humano com 7 a 9 semanas de desenvolvimento (LARSEN, 1993).

Com 13 dias, os fetos apresentaram os lábios superior e inferior em desenvolvimento e iniciou-se a formação do focinho do animal. Com 14 e 15 dias, a morfologia externa da face

apresentou-se com as características típicas do animal. Não foi possível estabelecer comparação da morfogênese com a dos demais roedores, devido à ausência desta informação na literatura consultada.

5.2- Análise Histológica:

O presente estudo mostrou quatro estágios bem definidos da odontogênese (banda epitelial, lâmina dental, botão e capuz), e estes foram analisados em sequência cronológica de desenvolvimento em *Calomys callosus*.

Comparando o desenvolvimento dental do 1º molar do *Calomys callosus*, na sequência cronológica, com o de rato, camundongo albino, gerbil, camundongo sem pêlo e hamster, observa-se que, o intervalo de desenvolvimento entre o estágio de lâmina dental e capuz foi de 4 dias no *Calomys callosus*, sendo o mesmo período observado no rato (LEFKOWITZ, et al., 1953), no camundongo albino (COHN, 1957) e camundongo sem pêlo (PAYNE et al., 1977). Para o gerbil e hamster (HIATT et al., 1974; RUSSO et al., 1987), o intervalo é de 3 dias. A variação, no período de desenvolvimento, desde o início do estágio de lâmina dental até o estágio em capuz, entre as espécies supracitadas, pode ser relacionada às diferenças dos dias de gestação entre elas. O período de gestação do *Calomys callosus* é de 21 dias, do rato 22 dias (LEFKOWITZ et al., 1953), do camundongo albino de 20 dias (COHN, 1957), do camundongo sem pêlo (PAYNE et al., 1977) e do hamster, (RUSSO et al., 1987) 16 dias.

O desenvolvimento da lâmina dental no *Calomys callosus* ocorreu no 13º dia de desenvolvimento, caracterizando-se proliferação da banda epitelial primária dos arcos maxilares e mandibulares, invadindo o ectomesênquima. Este aspecto histológico é similar ao 14º e 15º dia de desenvolvimento no rato (LEFKOWITZ, et al., 1953), no camundongo albino aos 12 e 13 dias (COHN et al., 1957), 13 dias no camundongo sem pêlo (PAYNE et al., 1977), no gerbil e hamster aos 18º e 11º dia de desenvolvimento, repectivamente (HIATT et al., 1974; RUSSO et al., 1987).

No *Calomys callosus* observou-se que a lâmina dental tornou-se arredondada na região dos futuros dentes molares, tomando aspecto de botão epitelial, desenvolvendo-se a partir da proliferação e invaginação da lâmina dental no ectomesênquima.

O botão apresentou, na sua periferia, uma dupla camada de células colunares baixas e, na região central, células irregulares. Já na porção da lâmina dentária, em contato com o epitélio oral as células tiveram aspecto cuboidal.

A descrição histológica, da camada periférica que contorna o botão epitelial e da região central, variou entre as espécies anteriormente citadas. Uma única camada celular foi observada na periferia do botão epitelial do hamster (RUSSO et al., 1987), camundongo sem pêlo (PAYNE et al., 1977), rato (LEFKOWITZ et al., 1953) e camundongo albino (COHN, 1957), enquanto que no gerbil (HIATT, et al., 1974) observaram-se duas a três camadas como no *Calomys callosus*.

Na região central do botão epitelial, no *Calomys callosus*, as células apresentaram-se mais dispersas e menos coradas. Já no rato, nesta região, foram observados núcleos celulares mais densos LEFKOWITZ et al., (1953) e HIATT et al., (1974) descreveram esta região, no gerbil, como tendo aspecto estrelado. No camundongo albino e sem pêlo, COHN (1957) e PAYNE et al., (1977), descreveram a região central do botão, como uma massa de células frouxas.

O surgimento de 3 camadas celulares distintas, o epitélio externo do esmalte, o epitélio interno e o retículo estrelado, marcam o estágio em capuz do desenvolvimento dos molares em roedores (RUSSO et al., 1987). Esta observação se aplica também ao *Calomys callosus*.

No *Calomys callosus*, o epitélio externo apresentou-se como uma camada de células cilíndricas baixas, o epitélio interno pouco definido e o retículo estrelado como uma massa de células frouxas.

LEFKOWITZ et al., (1953) descreveram o epitélio externo do órgão do esmalte do rato como sendo uma simples camada de células planas.

No epitélio externo do órgão do esmalte, de hamster, foram observados de uma a duas camadas de células cuboidais, enquanto que no camundongo albino, as células da mesma região apresentaram-se colunares baixas (RUSSO et al., 1987).

O epitélio interno do esmalte foi descrita como uma camada de células cuboidais no camundongo albino (COHN, 1957), hamster (RUSSO et al., 1987) e rato (LEFKOWITZ et al., 1953). Já no gerbil (HIATT et al., 1974) e no camundongo sem pêlo (PAYNE et al., 1977) foi observado uma camada de células colunares baixas.

No *Calomys callosus* o desenvolvimento da lâmina vestibular não foi simultâneo ao desenvolvimento da lâmina dental.

Na literatura consultada, não foram encontrados informações, desta estrutura em outros roedores no período de desenvolvimento estudado.

VI- CONCLUSÃO

Segundo os resultados obtidos neste trabalho concluímos que:

- 1- A morfogênese da face até 12º dia de desenvolvimento é similar ao observado no embrião humano de até 9 semanas de desenvolvimento.
- 2- A odontogênese de *Calomys callosus* é similar à dos outros roedores utilizados no laboratório.
- 3- O *Calomys callosus* pode ser utilizado como modelo biológico para estudos referentes à odontogênese.

VII- DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

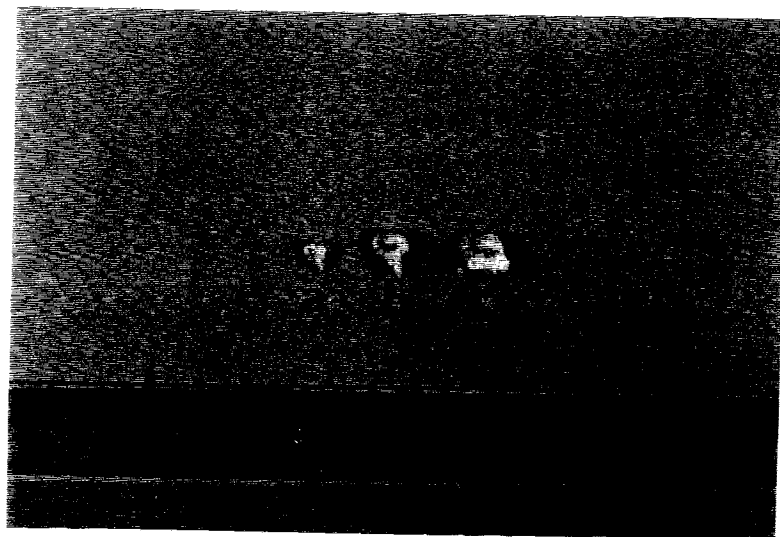


Fig.1. Fotografia da cabeça do embrião de *Calomys callosus* com 11 dias de desenvolvimento (**a**).

Feto com 12 dias de desenvolvimento (**b**). Feto com 13 dias (**c**).

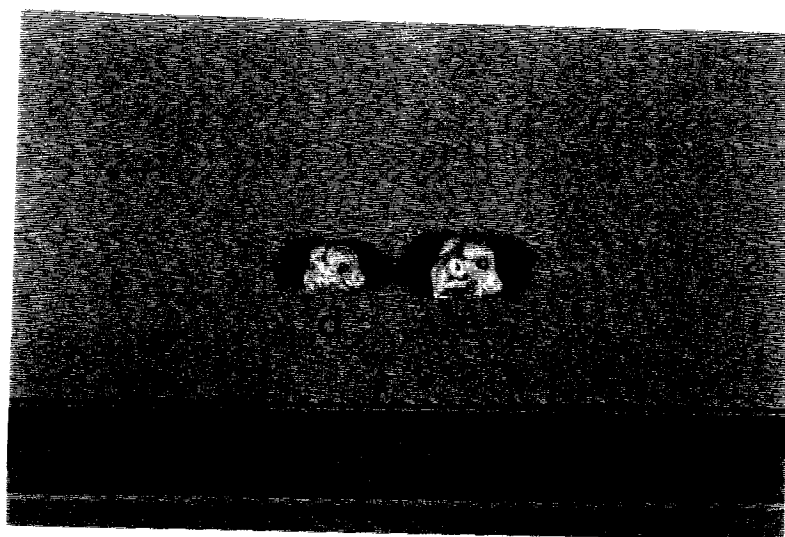


Fig.2. Fotografia da cabeça de feto de *Calomys callosus* com 14 dias de desenvolvimento (**d**), com 15 dias de desenvolvimento (**e**).



Fig. 3. Fotomicrografia do espessamento epitelial na região de 1º molar superior, mostrando a banda epitelial primária (↔). Animal com 12 dias de desenvolvimento (36X).

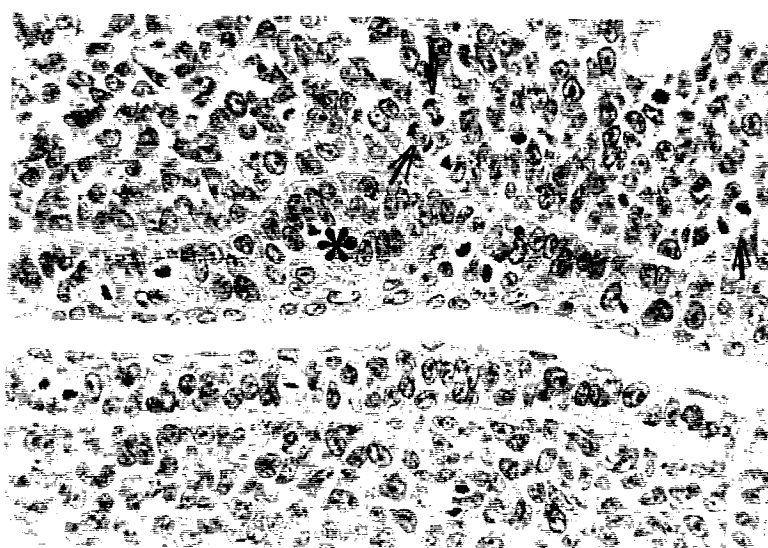


Fig.4. Fotomicrografia da banda epitelial primária do 1º molar superior ✱, apresentando algumas figuras de mitose de células do ectomesênquima (↔). Animal com 12 dias de desenvolvimento (145X).

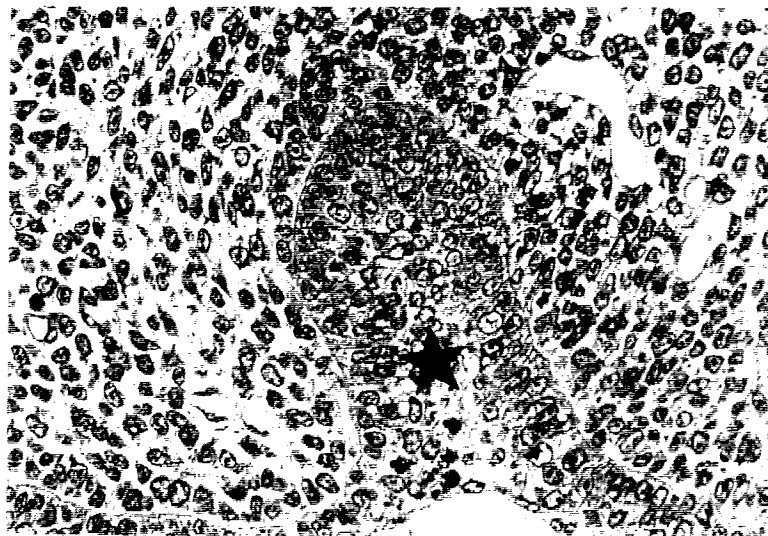


Fig.5. Fotomicrografia da coluna epitelial invadindo o ectomesênquima mostrando a lâmina dentária na região do 1º molar superior (★). Animal com 13 dias de desenvolvimento (145X).

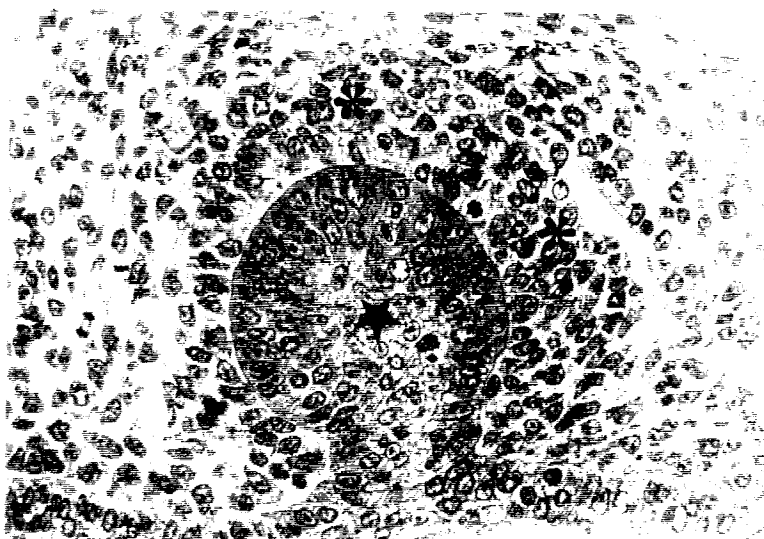


Fig.6. Fotomicrografia do estágio em botão da odontogênese de 1º molar superior, mostrando o botão epitelial (★) e condensação do ectomesênquima subjacente (*). Animal com 14 dias de desenvolvimento (145X).

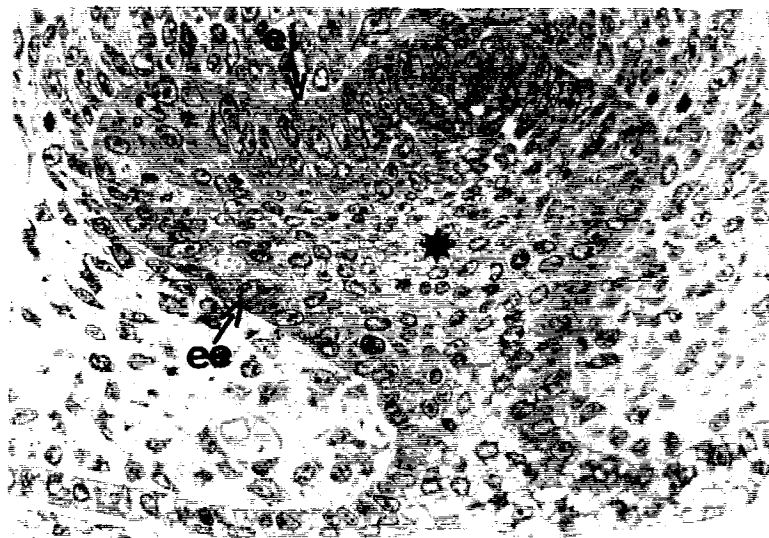


Fig.7. Fotomicrografia do estágio em capuz da odontogênese de 1º molar superior, mostrando o órgão do esmalte em forma de capuz. Epitélio externo (**ee**) e interno (**ei**) do órgão do esmalte. Região do retículo estrelado (*). Animal com 15 dias de desenvolvimento (145X).

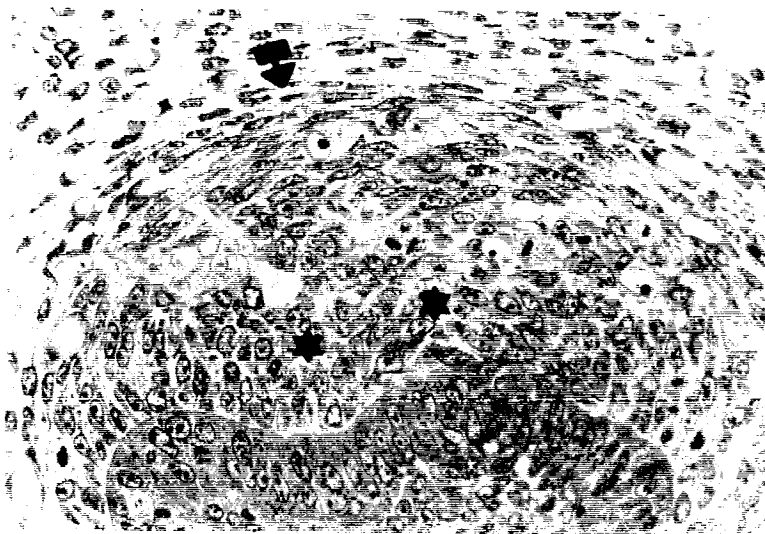


Fig.8. Fotomicrografia do estágio em capuz da odontogênese de 1º molar superior, mostrando a região de papila dental (★) e folículo dental (◆). Animal com 15 dias de desenvolvimento (145X).

VII- ¹ BIBLIOGRAFIA

- AHMAD, N.; RUCH, J. V. Compararison of growth and cell proliferation kinetics during mouse molar odontogenesis *in vivo* and *in vitro*. **Cell tissue kinet.**, **20 (3)**: 3199-29, 1987.
- ANDUJAR, M. B.; MAGLORIE, H. Collagen gene expression and tooth development. **J. Biol. Buccale**, **18 (2)**: 117-22, 1990.
- BHASKAR, S. N. **Histologia e embriologia oral de Orban**. 8. ed. Trad. de Eleonora Diefenbach Muller Santa Maria- RS, Artes Médicas, 1978.
- BORGES, M. M.; VASSAO, R. C.; PEREIRA, C. A.; KLOETZEL, J. K. Gama INF and macrophage respiratory bursy in *Calomys callosus* challenged with *Trypanosoma cruzi* bloodstream and metacyclic forms. **Imuno. Letters**, **42 (1-2)**: 81-85,1994
- COHN, S. A. Development of the molar teeth in the albino mouse. **Am. J. Anat., Philadelphia** **101**: 295-319, 1957.

¹ Normas de Citações bibliográficas seguidas segundo REFERÊNCIAS E CITAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS- Manual de Orientação. **Universidade de São Paulo- Ribeirão Preto**,1996.

- FINN, C.A. AND MCLAREN, A. Study of the early stage of implatation in mice. **J. Reprod. Fert.**, **13**: 259-267, 1967.
- GALBRAITH, D.B.; CUTLER, L.S.; KOLLAR, E.J. The correlation of temporal regulation of glycosaminoglycanan syntese with morphogenetic events in mouse tooth development. **Archs oral Bol.**, **37(8)**: 623-8, 1992.
- HATA, H.; BESSEM, C.; BRINGAS, P.; HSU, M.Y.; SLAVKIN, H.C. Epidermal growth factor regrestulates gene expression of both epithelial and mesenchymal cells in mouse molar tooth organs in in culture. **Cell Bilogy Internacional Reports.**, **14 (6)**: 509-19, 1990.
- HIATT, J.L.; GARTNER, L.P.; PROVENZA, D.V. Molar development in the Mongolian gerbil (*Mericones ungucuilatus*). **Am. J. Anat. Philadelphia.**, **141**: 1-22, 1974.
- ISHIZEKI, K.; FUJIWARA, N.; SAKAKURA, Y.; NAWA, T. The development of mandibular molar tooth gerems isografted in the mouse isigrafted spleen. **Archs Oral Biol.**, **32 (10)**: 695-704, 1987.
- JUSTINES, G.; JOHNSON, K.M. Immunetolerance in *Calomys callosus* infected with Mapucho virus. **Nature.**, **22**: 1090-1091, 1969.
- KHAEJORN BUT, J.I.; WILSON, D.J.; OWENS, P.D. The development and fate of dental lamina of the mandibular first molar tooth in the rat. **J. Anat.**, **179**: 85-98, 1991.
- LARSEN, W.J. **Human embryology**. Ed. Churchill Livigstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, Tokio. 1993.
- LLARENA-DEL- ROSARIO, M.E.; NUNO GONZALES, M.N.; Stage of formation and calcification of the third molar of 500 Mexican children end adolecents. **Revista de la Asociaci3n Dental Mejicana.**, **43 (3)**: 329-35, 1990.

- LEFKOWITZ, W.; BODECKER, C.F.; MARDFIN, D.F. Odontogenesis of the rat molar. **J. Dent. Res., Chicago** **32**: 749-772, 1953.
- MARK, M.P.; BAKER, J.R.; MORRISON, K.; RUCH, J.V. Chondroitin sulfates in developing mouse tooth germs. An immunohistochemical study with monoclonal antibodies against chondroitin-4 and chondroitin-6 sulfates. **Differentiation.**, **43 (1)**: 37-50, 1990.
- MELLO, D.A. Note on breeding of *Calomys callosus*, 1841 (Rodentia, Cricetidae) under laboratory conditons. **Rev. Bras. Pesq. Med. and Biol.**, **10(2)**: 107,1977.
- NAKAMURA, M.; BRINGAS, P.; NANJI, A. JR., ZEICHNER-DAVID, M.; ASHDOWN, B.; LASLAVKIN, H.C. Translocation of enamel proteins from inner enamel epithelia to odontoblasts during mouse tooth development. **Ana. Rec.**, **238**: 383-396, 1994.
- RIBEIRO, R.D. Novos reservatórios de *Trypanosoma cruzi* . **Rev. Bras. Bol.**, **33(3)**: 429-37, 1987.
- RUSSO, P.L.; GARTNER, L.P. First molar odontogenesis in the golden Syrian hamster (*Cricetus auratus*). **An. Anz.**, **164(4)**: 275-89,1987.
- SASAGAWA, I. The fine struture of initial development in the gummy shark, *Mutelus manzo*, Elasmobranchia. **J. Anat.**, **164**: 175-87.
- SLAVKIN, H.C.; SNEAD, M.L. Factors influencing the expressoin of dental extracellular matrix biomineralization. **Ciba Found Symp.**, **136**, 22-41, 1988.
- SMITH, A.J.; WILSON, C.; MATTHEWS, J.B. An immunocytochemical study of keratin reactivity during rat odontogenesis. **Histochemistry.**, **94 (3)**: 329-35, 1990.

TEN CATE, A.R. **Oral histology: development, struture, and funcion.** 3.ed. St. Louis, Baltimore, Toronto, The C.V. Mosby Company, 1989.

VAZ-DE-LIMA, L.R.A.; KIPNITS, A; KIPNITS,T.L.; DIAS-DA-SILVA, W.Rodents in agroecosystems in the cerrado province of the Federal District (Brasilia.DF, Brazil), Bras. **J. Med. and Biol. Rea.**, **25(2)**: 161-6, 1992.

