

O efeito das diferentes técnicas histológicas em estudos que envolvem mensurações

Maria Antonieta Lopes de Souza*
Isabel da Silva Lauxen**

RESUMO

O trabalho analisa as alterações dimensionais decorrentes das diferentes técnicas de processamento histológico em estruturas complexas como a mandíbula, que abriga diferentes tecidos mineralizados e diferentes tecidos moles. A partir dos resultados obtidos conclui-se que, em estudos que envolvem mensurações em cortes histológicos é necessário considerar que a técnica de inclusão em parafina produz contração no material, o mesmo ocorrendo, porém em menor escala com material congelado, quando comparados com material não descalcificado.

SUMMARY

This research makes an analysis of the dimensional changes produced by different technical histologic procedure in a complex structure like mandible that has hard tissues and soft one. From the results it was concluded that in studies where measurements are supposed to be performed it is necessary to take into account that paraffin embedding produces contraction as does freezing technic although in a smaller amount, when these are compared to material that has not been decalcified.

DESCRITORES

TÉCNICA HISTOLÓGICA • RATOS • ESTUDOS DE AVALIAÇÃO

INTRODUÇÃO

É sabido que o método de processar os tecidos causa alterações dimensionais nos mesmos, e isto já foi quantificado em tecidos homogêneos, como por exemplo o cérebro (Brain, 1966). Mas em estruturas complexas como a mandíbula (óssea) com todos os seus componentes, este critério ainda não havia sido avaliado.

Para tal, usou-se a análise de várias medições em um estudo histológico transversal em ratos, os quais tinham idade entre 10 e 40 dias, o que representa o período em que o desenvolvimento radicular, a erupção e o estabelecimento da oclusão dos primeiros molares ocorrem.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 117 ratos Wistar, os

quais foram sacrificados em grupos de animais em intervalos de três dias, no período de 10 a 40 dias de vida (aos 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 34, 37 e 40 dias). Após dissecadas, as mandíbulas foram separadas em séries contendo representantes de todos os grupos de idades e foram então utilizadas três diferentes técnicas histológicas.

a. Resina de Poliester: Fixação em formol tamponado a 10%, inclusão em Clear Casting Resin (sem demineralização), cortes seriados de 100 micrômetros, montagem em lâminas.

b. Parafina Histológica/Cera: Fixação em formol tamponado a 10%, desmineralização em EDTA a 10%, inclusão em parafina histológica/cera, cortes seriados de 6 micrômetros, montagem em

lâminas.

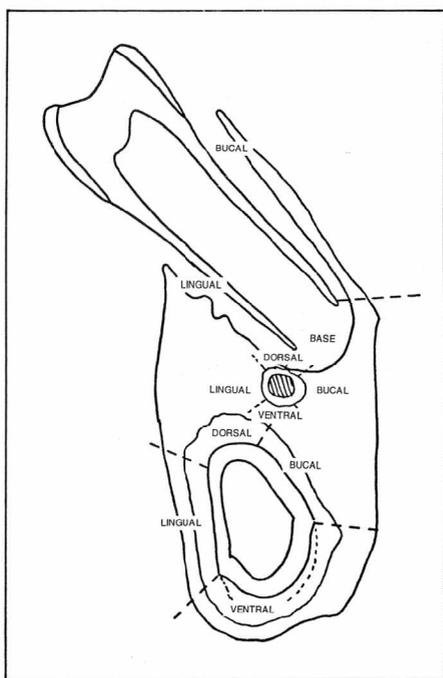
c. Congelamento: Desmineralização em EDTA a 10% (a 40°C e sem fixação prévia), trimagem das peças, congelamento instantâneo em isopentano resfriado com Nitrogênio Líquido, cortes seriados de 10 micrômetros, montagem em lâminas.

As medições foram feitas por mensuração direta da lâmina, usando-se uma ocular quadriculada calibrada em micrômetros. Todas as medidas foram tomadas com o microscópio em magnitude constante, no "Conference Projector" Gillette and Sibert.

* Professora Adjunta Instituto de Biociências - UFRGS
** Bióloga - Téc. Laboratório de Patologia Buco-Dental - UFRGS

IDADES	RESINA DE POLIESTER	CONGELAMENTO	PARAFINA /CERA	TOTAL
10 dias	3	1	4	8
13 dias	4	6	3	13
16 dias	4	3	4	11
19 dias	4	2	6	12
22 dias	3	5	4	12
25 dias	3	6	5	14
28 dias	4	4	2	10
31 dias	3	6	2	11
34 dias	4	3	2	9
37 dias	4	4	2	10
40 dias	4	2	1	7
	40	42	35	

Descrição dos termos utilizados para especificar as paredes do alvéolo do molar, do canal do nervo dentário inferior e alvéolo do incisivo.

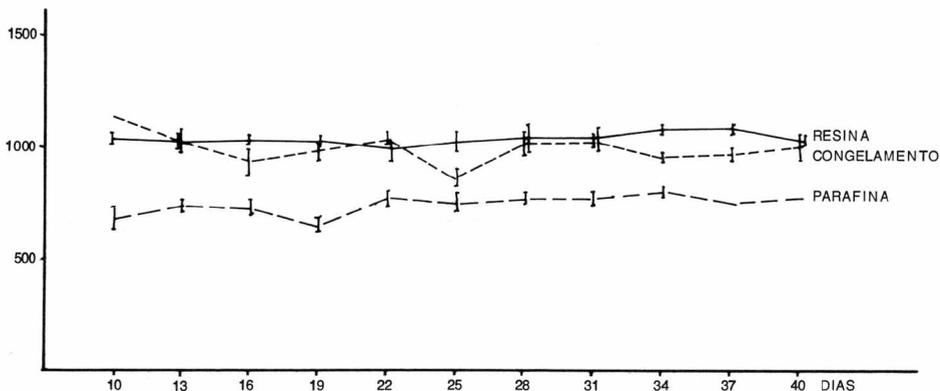


Os resultados obtidos evidenciam a manutenção desta dimensão em todas as faixas etárias estudadas nos ratos, mostrando porém que as técnicas produziram valores diferentes entre si.

Os valores médios obtidos em cada uma das técnicas empregadas ao longo do período estudado foram:

Resina de Poliester: 1032 micrômetros (mais ou menos) 64 micrômetros

Congelamento: 983 micrômetros (mais ou menos) 90 micrômetros



Parafina/Cera: 731 micrômetros (mais ou menos) 90 micrômetros

Se os resultados forem calculados em termos percentuais, e se considerarmos os cortes de resina como 100%, teremos os cortes de congelamento com dimensões de 95% e os de parafina com dimensões de 70%.

2. Tamanho da polpa do incisivo

2A. Plano vertical, de dorsal para ventral.

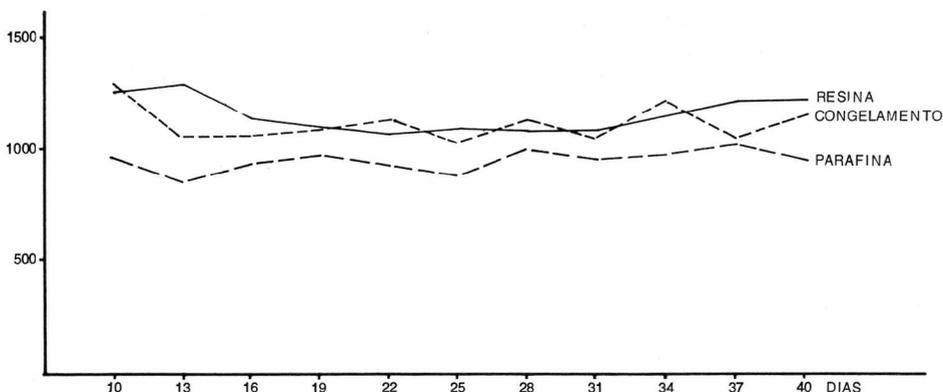
RESULTADOS

Para avaliar as alterações dimensionais que podem ocorrer como consequência do processamento histológico optou-se por analisar determinados parâmetros que com mais facilidade evidenciarão distorções decorrentes da técnica.

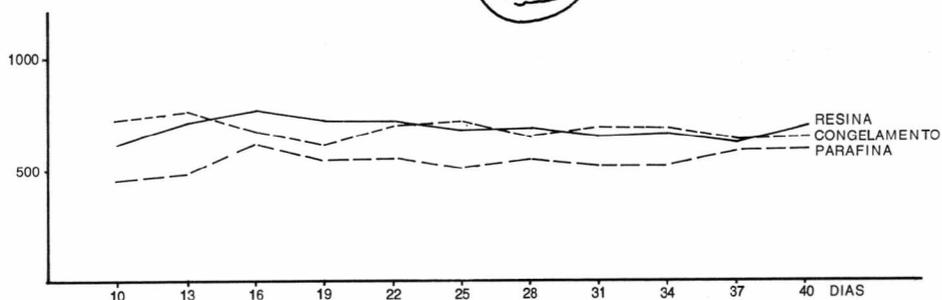
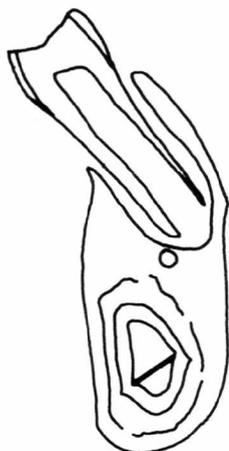
Estes parâmetros foram:

1. Largura do primeiro molar inferior de rato ao nível da junção esmalteamento de lingual para bucal

Supunha-se que manter-se-ia constante, uma vez que estes tecidos duros após formados não sofrem alterações dimensionais.



2B. Plano horizontal, de bucal para lingual



Como o crescimento da raiz dos incisivos de ratos se localiza na porção distal da mesma, optou-se pela mensuração de duas dimensões na polpa que consistiram na avaliação do maior diâmetro da polpa nos dois planos acima mencionados.

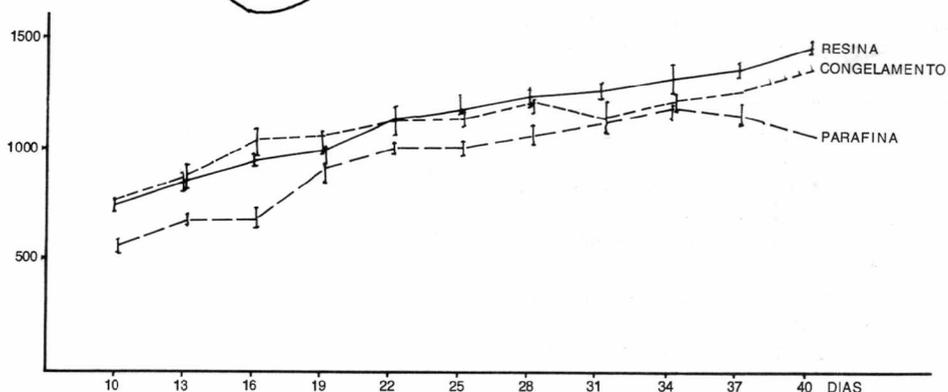
Os cortes do material incluído em resina mostraram valores muito semelhantes aos de congelamento. Os cortes de parafina apresentam os mais baixos valores, contração de cerca de 20%.

3. Distância entre o centro do incisivo e o centro do canal do nervo dentário inferior

Utilizando esta dimensão pretendeu-se avaliar o efeito dos diferentes modos de processamento sobre vários tecidos que distribuem-se ao longo da distância mensurada, tais como: tecido ósseo, tecido conjuntivo do ligamento periodontal, dentina e polpa do incisivo.

Segundo Darling e Levers (1975) em humanos e De Souza (1981) em ratos, o canal do nervo dentário inferior pode ser considerado como um ponto fixo.

Os valores dos cortes de resina e congelamento são muito semelhantes. As mensurações dos cortes de material incluído em parafina são as de menor valor. Todas as linhas seguem a mesma curva de ascensão.



CONCLUSÃO

Utilizando mensurações realizadas onde puderam ser comparadas três técnicas de preparo de material para estudos histológicos, pode-se observar que a técnica de inclusão em parafina provoca uma redução dimensional do espécime devido provavelmente a contração provocada pela temperatura na qual a parafina é utilizada.

Partindo da premissa de que o material não descalcificado, que é incluído na resina não sofre alteração dimensional (embora a inclusão em resina seja realizada sob uma pressão negativa de -25 p.s.i.) podemos estipular o valor máximo (100%) para as mensurações dele obtidas.

Comparando então as medições onde foram empregadas as duas técnicas restantes, observa-se que o índice de contração é em torno de 20% a 30% para o material incluído em parafina, e em torno de 5% para o material que foi congelado.

De onde se conclui que ao realizar estudos que envolvam mensurações deve ser tomado especial cuidado com a técnica a ser empregada, assim como devem ser levados em consideração os índices acima referidos quando se tratar de espécimes que tem tecidos duros e moles, como a mandíbula.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRAIN, E.B. The preparation of Decalcified Sections. Springfield: Illinois, 1966. Thomas, 1966.
2. BRASH, J.C. The growth of the alveolar bone and its relation to the movements of the teeth including eruption. *Int. J. Orthod.* v. 14. p. 196-223, 283-93, 398-405, 487-94, 494-504, 1928.
3. DARLING, A.I.; LEVERS, B.G.H. The pattern of eruption of some human teeth. *Arch Oral Biol.* 20, 89-96, 1975.
4. DE SOUZA, M.A.L. A morphometric and histological study on the development and eruption of the mandibular first molar tooth.

Thesis (Master of Science) University of New
Castle upon tine, New Castle upon Tyne,
Inglaterra, 1981.

5. GAUNT, W.A. Studies on the growth of mouse tooth germs in relation to the development of the facial region. London, 1963. Thesis. University of London, 1963.
6. HOFFMAN, M.M.; SCHOUR, I. Quantitative studies in the development of the rat molar II - Alveolar bone, cementum and eruption (from birth to 500 days). Am. J. Orthod. Oral Surg., v. 26, p. 854, 1940.
7. JOHANNESSEN, L.B. Presence of enamel-covered cusps in rat molars. Arch. Oral Biol. v. 5, p. 61-62, 1961.
8. RIESENFELD, A. Sexual dimorphism of bone robusticity in different strains of rats. Acta. Anat., v. 98, p. 206-209, 1977.
9. TOMPSETT, D.H. Anatomical Techniques. 2. ed. Edinburgh: Livingstone, 1970.