

| Sumário: | Pág. |
|---|------|
| Agradecimentos | 3 |
| Parte A – Introdução, planificação e objectivos do trabalho | 4 |
| Lista de abreviaturas | 5 |
| Resumo | 6 |
| Abstract | 10 |
| Odontogénese | 11 |
| • Introdução | 11 |
| • Células da crista neural (breves considerações) | 12 |
| • Genes homeóticos (alguns aspectos) | 19 |
| Parte B - Aspectos morfofuncionais e moleculares da odontogénese | 24 |
| ✓ Fase de iniciação | 24 |
| • Determinação do eixo <i>oral-aboral</i> | 26 |
| • Interaçção sequencial, recíproca e temporária entre epitélio e mesênquima | 29 |
| • Código odontogénico | 30 |
| ✓ Banda epitelial primária/ lâmina dentária | 34 |
| ✓ Fase de Gomo ou Broto | 36 |
| ✓ Fase de Capuz | 39 |
| ✓ Fase de Câmpanula | 42 |
| ✓ Fase de Coroa | 44 |
| ✓ Fase de Raiz | 46 |
| Conclusões finais | 48 |
| Parte C – Bibliografia | 50 |

Agradecimentos

Agradeço à minha orientadora científica desta dissertação, Prof.^a Dr.^a Maria Helena Lopes Figueiredo, a completa disponibilidade continuamente demonstrada, o auxílio prestado na realização desta tese sempre que solicitada, o entusiasmo, o empenho, a dedicação sem limites, as sugestões, os esclarecimentos, os comentários e todo o material que sempre disponibilizou. Agradeço, ainda, a partilha do saber e a estimulação do meu interesse pelo conhecimento. Acima de tudo: Obrigado.

Agradeço também à Sr.^a Dr.^a Elisabete Resende pela correcção e ensinamentos na área relacionada com os mecanismos moleculares e genéticos do processo de odontogénese.

Uma palavra de agradecimento ainda à Sr.^a Eng.^a Gabriela Martins pela ajuda preciosa no tratamento informático dos esquemas e das imagens.

Quero agradecer também à Dr.^a Joana Rebola, pela ajuda no processamento de texto, particularmente na parte da bibliografia.

Parte A - Introdução, planificação e objectivos do trabalho

Apesar de cada dente se desenvolver como uma estrutura independente e morfológicamente diferente, o seu processo de desenvolvimento, denominado por odontogénese, é basicamente o mesmo para todos os órgãos dentários.

São numerosos os mecanismos que guiam e controlam o desenvolvimento do gérmen dentário. As interacções entre o epitélio oral e o ectomesênquima adjacente estão na base de todo o processo da morfodiferenciação e histodiferenciação do órgão dentário. De facto, durante o desenvolvimento dentário muitas são as "mensagens" que passam entre o epitélio e o mesênquima, conduzindo a mudanças de complexidade crescente dos órgãos dentários. Um número considerável de genes, factores de crescimento e vias de sinalização têm uma influência determinante tanto no desenvolvimento inicial do dente, como na determinação da sua posição, forma e constituição histológica. Os processos de dentinogénese, amelogénese e cementogénese são a tradução final desta teia de interacções epitélio-mesênquima. Será, pois, a delicada problemática associada a estes fenómenos que constitui a essência deste trabalho de revisão.

A grande expansão de estudos de investigação experimental na área da biologia molecular e da genética ligados à odontogénese, poderão justificar a sua maior incidência neste trabalho.

Para proporcionar uma certa continuidade às diferentes alíneas, mantendo a integridade individual de cada uma, foi por vezes necessária a repetição de certos assuntos, equacionados no entanto em diferentes perspectivas.

Este trabalho de revisão encontra-se organizado em três partes distintas. Na primeira parte (parte A) após uma breve introdução ao tema, procede-se à exposição de alguns conceitos básicos sobre células da crista neural e sobre genes homeóticos, elementos fundamentais no processo de odontogénese.

Na segunda parte (parte B) faz-se uma pequena revisão sobre os mecanismos responsáveis pelos processos de odontogénese associando, sempre que possível, aspectos histológicos, aspectos genéticos e de biologia molecular. A integração destes conceitos nem sempre é fácil de alcançar, considerando a enorme diversidade de trabalhos publicados, muitos deles com resultados contraditórios ou de difícil interpretação, bem como a nossa pouca experiência e conhecimentos nestas áreas. Considerando que a prática clínica se foi sobrepondo aos conceitos básicos, pretendemos no entanto contribuir, com este trabalho, para um melhor entendimento dos processos morfofuncionais e moleculares da odontogénese.

A última parte (parte C) engloba alguma da bibliografia consultada.

Lista de abreviaturas

BARX1 - BARX homeobox 1

BARX2 - BARX homeobox 2

BMP - Bone morphogenetic protein

BMP2 - Bone morphogenetic protein 2

BMP4 - Bone morphogenetic protein 4

DLX1 - distal-less homeobox 1

DLX2 - distal-less homeobox 2

HLX - H2.0-like homeobox

FGF - Fibroblastic growth factor

FGF 8- Fibroblastic growth factor 8

FGF 9- Fibroblastic growth factor 9

MSX1 - Msh homeobox 1

MSX2 - Msh homeobox 2

PAX9 - Paired box gene 9

SHH - Sonic hedgehog

Wnt - Wingless

Resumo

O conhecimento dos processos moleculares e mecanismos evolutivos relacionados com o desenvolvimento das estruturas crânio-faciais, incluindo as formações maxilares e os órgãos dentários, em vertebrados, constitui uma peça fundamental para a compreensão do desenvolvimento da cabeça. As células da crista neural, consideradas como a grande aquisição dos vertebrados durante o processo evolutivo, assumem cada vez mais um papel primordial neste processo.

As características intrínsecas das células derivadas da crista neural, bem como a expressão de certos genes homeóticos, associada à acção indutora de determinados factores de crescimento, provenientes maioritariamente do epitélio suprajacente, desempenham uma posição chave no início e progressão dos processos de odontogénese.

A primeira fase do desenvolvimento odontogénico (iniciação) envolve um conjunto de mecanismos que determinam a área onde irão posicionar-se os dentes no seu conjunto e mais tarde a posição e diferente morfologia de cada um dos componentes das famílias de incisivos, caninos pré molares e molares. Muitos destes processos têm lugar muito antes das primeiras evidências histológicas que caracterizam as etapas iniciais da odontogénese e que também são comuns a vários órgãos de origem ectodérmica.

Embora, os órgãos dentários sejam estruturas características apenas do primeiro arco, estão localizados especificamente na sua metade anterior, região oral. Com efeito, durante as fases precoces de desenvolvimento da mandíbula e da maxila começa a estabelecer-se uma nítida "polaridade", dando origem a uma *região oral* (onde serão formados e desenvolvidos os dentes) e uma *região aboral* (com predominância de elementos constituintes do sistema esquelético).

Depois de demarcada a região da futura arcada dentária (no seu todo) serão definidas as sub regiões correspondentes às áreas de desenvolvimento dos diferentes tipos de dentes (incisivos, caninos, pré molares e molares). Este processo resulta da interacção entre moléculas de sinalização (muitas vezes com sinais antagónicos) como o FGF8 e a BMP2 e a BMP4 e a consequente expressão e arranjo estratégico de certos factores de transcrição (maioritariamente ligados aos genes PAX9 e MSX1). São mecanismos deste tipo que constituem o código odontogénico responsável pelo aparecimento e evolução de germens dentários no local correcto e com a forma correcta.

O código odontogénico (*the odontogenic homeobox code*) determina que a expressão combinada de certos genes homeóticos esteja altamente confinada a

áreas restritas da maxila e da mandíbula e que este facto seja responsável pelo aparecimento dos diferentes tipos de dentes.

A diferente identidade assumida por cada uma das peças dentárias não é determinada pela transcrição de (apenas) um gene específico mas é o resultado da sobreposição e actividade combinada (presença ou ausência) de vários genes diferentes. Alterações experimentais na expressão destes genes resultam quase sempre em profundas perturbações na distribuição/ posicionamento dos elementos característicos da dentição.

A primeira evidência histológica que marca o início da odontogénese está representada pela formação de um espessamento no epitélio da cavidade oral primitiva, denominada por banda epitelial primária. Quase imediatamente a seguir à sua formação a margem desta banda epitelial primária subdivide-se em duas porções ou processos: um externo dirigido para vestibular e outro interno, lingual. O processo interno, designado por lâmina dentária, é responsável pela formação dos germes dentários.

Os gérmens dentários, com origem na lâmina dentária apresentam no seu processo de evolução uma série de etapas ou fases que, devido à diferente morfologia apresentada pelo seu componente epitelial (órgão do esmalte) são denominadas tradicionalmente por fase de gomo ou de botão, fase de capuz, fase de campânula, fase de coroa e fase de raiz.

Microscopicamente, a fase de botão, é definida como uma projecção esferulóide da lâmina dentária. Estas estruturas constituem os primórdios do órgão do esmalte. Nesta fase têm lugar, importantes processos de indução odontogénica levados a cabo através de diversas moléculas bioactivas, com particular destaque para os FGFs e para as BMPs.

A transição da fase de botão para a fase de capuz decorre numa intensa mas desigual proliferação celular das células epiteliais, adoptando progressivamente o órgão do esmalte uma forma que se assemelha a um barrete frígido, razão pela qual esta etapa de desenvolvimento do órgão dentário é chamada de fase de capuz. Uma vez estabelecida a fase de capuz, é possível distinguir no órgão do esmalte a presença de distintos componentes epiteliais: epitélio interno, epitélio externo e retículo estrelado.

Na porção mais central da formação epitelial vai-se tornando cada vez mais nítida a presença de uma concavidade ocupada por uma condensação de células do ectomesênquima. Esta concentração designa-se no seu conjunto por papila

dentária, devendo actuar como um factor mecânico, que pode contribuir em grande parte para o desenvolvimento da concavidade evidenciada no órgão do esmalte.

Ainda nesta fase o ectomesênquima que rodeia tanto o órgão do esmalte quanto a papila dentária organiza-se, formando uma "cápsula" em torno do gérmen dentário em desenvolvimento, separando-o do restante ectomesênquima do maxilar. Esta condensação periférica é denominada por *saco ou folículo dentário*, sendo responsável pela formação do periodonto de inserção (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar).

No final desta fase começa a observar-se, junto ao epitélio interno, uma concentração de células que irá ser designada por nó do esmalte (primário). Esta estrutura, ainda que temporária, vai ter uma importância crucial no mecanismo de evolução do gérmen dentário para as fases seguintes, bem como na determinação da forma da coroa. Com efeito, o tamanho e forma do dente começam a esboçar-se nesta fase de capuz atingindo uma definição final na fase de campânula, sendo este processo regulado pelo nó do esmalte.

Na fase de campânula precoce o órgão do esmalte apresenta já quatro camadas distintas: epitélio externo, retículo estrelado, estrato intermediário e epitélio interno. O estágio avançado de campânula muitas vezes designado por fase de coroa está associado à formação dos tecidos duros do dente verificando-se sempre que o aparecimento da dentina precede a formação do esmalte. De facto, ainda que o órgão do esmalte e as células do epitélio interno manifestem mais precocemente uma nítida diferenciação celular, a dentinogénese inicia-se sempre antes da amelogénese. Com efeito, os ameloblastos após adquirirem características de células secretoras de proteínas permanecem aparentemente inactivos até os odontoblastos sintetizarem a primeira camada de dentina, primeiro tecido mineralizado a surgir no órgão dentário.

O crescimento da dentina ocorre de uma forma centrípeta (em direcção à polpa), enquanto que o esmalte é centrifuga (em direcção ao epitélio oral).

Uma vez completa a formação da coroa dentária inicia-se o desenvolvimento da raiz, constituindo a bainha epitelial de Hertwig uma estrutura fundamental neste processo. As células do folículo dentário dão origem aos cementoblastos que revestem a dentina radicular. Paralelamente começam também a diferenciar-se os fibroblastos do ligamento periodontal e os osteoblastos do osso alveolar.

O cimento, o ligamento periodontal e o osso alveolar, estruturas todas derivadas do saco ou folículo dentário são, no seu conjunto, responsáveis pela

ancoragem do dente aos alvéolos dentários, evoluindo de maneira integrada e coordenada com a formação da raiz do dente.

Abstract

Mammalian teeth develop from oral ectoderm and neural crest derived mesenchyme. Within the mandibular and maxilar archs, homeobox genes that are expressed in different proximodistal spatial domains are induced by signals from the oral epithelium. In mouse, prior to E10, all ectomesenchyme cells in the mandibular arch are equally responsive to epithelial signals such as Fgf8, indicating that there is no pre-specification of these cells into different populations and suggesting that patterning of the hard tissues of the mandible is instructed by the epithelium. By E10.5, ectomesenchymal cell gene expression domains are still dependent on epithelial signals but have become fixed and ectopic expression cannot be induced. At E11 expression becomes independent of epithelial signals such that removal of the epithelium does not affect spatial ectomesenchymal expression. The instructive capacity for tooth formation shifts from oral epithelium to the underlying mesenchyme prior to the bud stage.

The first morphological sign is the primary dental lamina forming as a thickening of oral epithelium at the site of the future tooth row. Dental placodes form along the dental lamina and they share common morphological and molecular features with placodes of other ectodermal organs, such as hairs and many glands. The size and shape of the tooth crown result from epithelial morphogenesis during the bud, cap and bell stages. The tooth-specific hard tissues, enamel and dentin, are secreted by ameloblasts and odontoblasts respectively, which differentiate at the junction between the epithelium and mesenchyme. After the crown is complete root formation is initiated in most teeth and cementum, the third hard tissue of the tooth is formed by cementoblasts differentiating from dental follicle mesenchyme.

Odontogénes

Introdução

Odontogénes é a denominação usualmente atribuída ao conjunto de eventos relacionados com a origem e formação dos dentes, designação da responsabilidade de Kollar e Lumsden (1979) que inclui a iniciação, morfogénes e diferenciação dos germes dentários, incidindo apenas no desenvolvimento do esmalte e complexo dentino pulpar. Esta denominação foi mais tarde alargada de modo a abranger também o desenvolvimento do periodonto, ou seja, o conjunto do cimento, ligamento periodontal e osso alveolar, formações que inicialmente não eram consideradas como parte integrante do dente.

A maioria dos artigos publicados sobre o desenvolvimento e estrutura dos órgãos dentários assentava essencialmente na observação minuciosa de lâminas histológicas e sua descrição detalhada feita por individualidades como Tomes, Von Ebner, Retzius, Hertwig e outros estudiosos cujos nomes ficaram para sempre ligados à histologia oral (Kollar e Lumsden, 1979; Ten Cate, 1995). Porém, foram os trabalhos de investigação experimental, iniciados apenas há poucas décadas atrás, no campo da genética e da embriologia molecular que chamaram à atenção para o papel específico das células da crista neural nos processos de odontogénes e para as complexas interacções epitélio/mesênquima, desencadeando uma revolução e evolução notáveis neste campo.

Adams (1924), Stone (1926), Raven (1931) e Lumsden (1984) foram os primeiros investigadores que demonstraram a importância da crista neural no desenvolvimento das estruturas que caracterizam o primeiro arco branquial. Os estudos baseados em células marcadas com timidina tritiada (Slavkin Diekwisch, 1996; Thesleff *et al*, 1996) permitiram seguir a migração das células da crista neural, estabelecendo que a formação da face e a determinação do número, forma e localização dos dentes, nos mamíferos, estava definitivamente ligada ao ectomesênquima associado às células neurais.

Levantava-se, então, uma outra questão: qual o papel do epitélio oral e do ectomesênquima nos mecanismos de odontogénes e qual deles seria o responsável pelo desencadear do processo. Muitos foram os trabalhos que apontavam para a função dominante do ectomesênquima (Osborn, 1978; Vainio *et al*, 1994; Kollar, 1970; Kollar, 1972) e muito poucos os que sugeriram que era o epitélio oral que exercia uma influência determinante e crucial como "motor de arranque" do processo de odontogénes. Foi, no entanto mais tarde demonstrado,

que o factor indutor responsável pelo início do desenvolvimento do órgão dentário residia, de facto, no epitélio oral, mas que rapidamente o ectomesênquima, por ele induzido, assumia um papel dominante nos processos de morfogénese e diferenciação que se seguiam.

Está actualmente confirmada uma interacção recíproca que se exerce alternadamente, de parte a parte, tendo sido possível identificar vários factores de crescimento, moléculas de sinalização, factores de transcrição e componentes da matriz extracelular como elementos responsáveis pelo diálogo entre o epitélio oral e o ectomesênquima adjacente.

As características intrínsecas das células derivadas da crista neural, bem como a expressão de certos genes homeóticos (genes com sequências *homeobox*) associada à acção indutora de determinados factores de crescimento desempenham uma posição chave no desenvolvimento crânio-facial e na regulação do início e progressão dos processos de odontogénese (Yoshikawa e Kollar, 1981). Pareceu-nos, pois, importante proceder a uma breve exposição sobre células da crista neural e sobre genes homeóticos, antes de desenvolver alguns aspectos morfofuncionais e moleculares do processo de formação dos órgãos dentários.

Células da crista neural (breves considerações)

A crista neural é uma estrutura constituída por um conjunto de células com grandes capacidades pluripotenciais, formada na região dorsal do tubo neural (entre o tubo neural e a ectoderme) durante a neurulação, exibindo um gradiente rostrocaudal muito definido (Nonaka 2006; Garcez, 2009; Silva, 2007; Suomalainen, 2010). Estas células, ainda que de origem epitelial, adquirem propriedades mesenquimatosas e um acentuado comportamento migratório, seguindo rotas e destinos bastantes diferentes. De facto, mesmo antes do fecho do tubo neural, muitas destas células desprendem-se do neuroepitélio de origem, sofrem uma transição epitélio mesênquima e assumem um fenótipo migratório como células isoladas. Assim, iniciam um extenso movimento por todo o embrião dando origem a um grande número de tipos celulares diferentes (figura 1) que, maioritariamente, vão constituir elementos do sistema nervoso periférico. A distribuição destas células é tão ampla e a sua contribuição tão significativa que já têm sido consideradas, no seu conjunto, como um quarto folheto embrionário.

As rotas de migração e destino final das células da crista neural foram já mapeadas pondo em evidência as suas diferentes potencialidades e a existência de várias sub-populações, acompanhando a intrínseca segmentação da crista neural ao

longo do eixo cefalo-caudal (Bronner-Fraser, 1986; Bronner-Fraser, 1988; Basch, 2006; Garcez 2009;). Estas células apresentam-se da maior importância para a formação das estruturas crânio-faciais e para a iniciação e determinação topográfica e morfológica dos órgãos dentários.

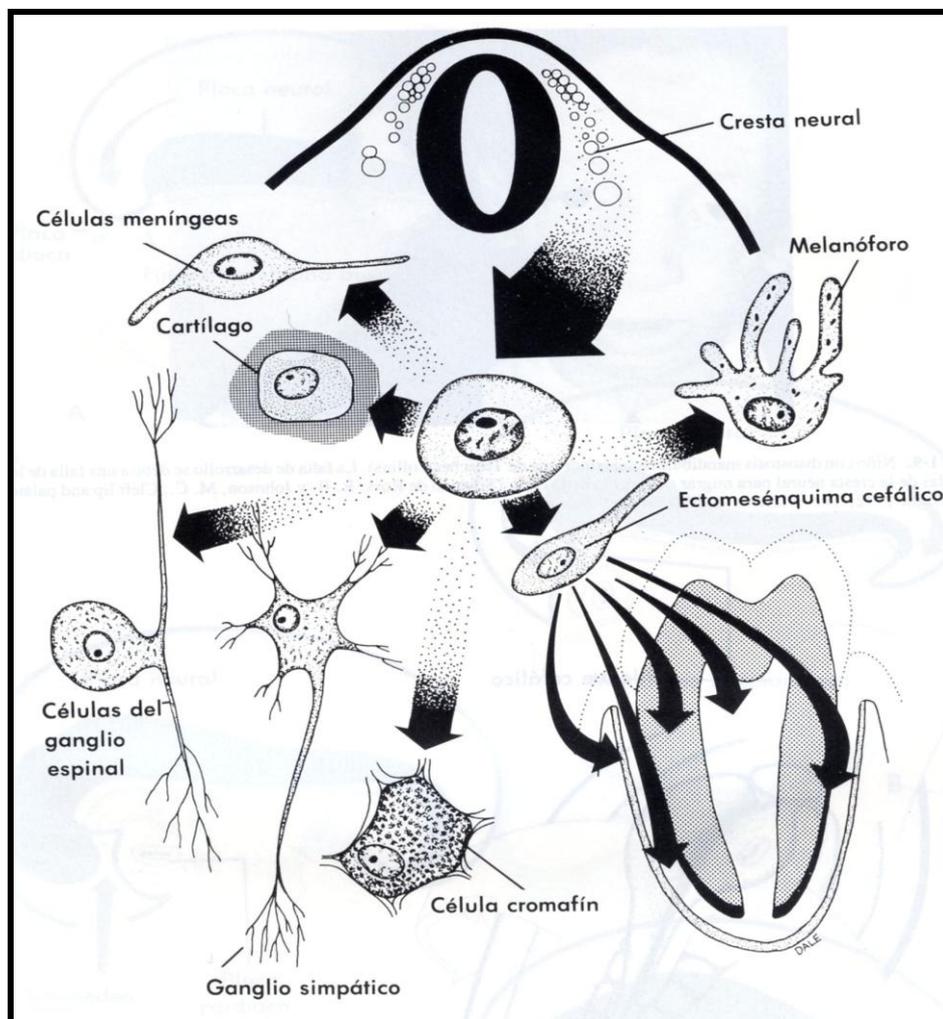


Figura 1: Esquema representativo da diferenciação final de algumas células derivadas da crista neural. Num contexto odontológico as células da crista neural são fundamentais para o desenvolvimento do complexo dentino pulpar e das estruturas periodontais. Adaptada de Ten Cate, 1991.

Gans & Northcutt (1983) consideram que a crista neural teria sido o grande passo evolutivo que permitiu aos craniatas a formação e desenvolvimento da cabeça. Neste âmbito o grupo de Nicole LeDouarin, na década de 1990, realizou uma série de elegantes trabalhos experimentais concluindo que toda a crista neural cefálica, até ao nível do rombómero 2, é a responsável pela formação da maior parte dos ossos e cartilagens da cabeça, e pelo desenvolvimento dos processos maxilo-mandibulares (Crossley *et al.*, 1996; Mallat, 2008).

A história evolutiva da crista neural e a natureza dos primeiros craniatas estão intimamente ligadas à evolução do encéfalo, do crânio, dos receptores neuro sensoriais e da musculatura da faringe. Carl Gand e Glen Northcutt (1983) propuseram uma teoria que indicava que o ancestral dos vertebrados teria sido um animal semelhante ao anfioxo (Garcez, 2009). Como o anfioxo, este animal seria um filtrador, desprovido de musculatura faríngea, invólucro rígido para o encéfalo, bem como outras estruturas típicas da cabeça de vertebrados. As principais inovações que viabilizaram a transição e evolução da extremidade cefálica foram particularmente o desenvolvimento de elementos cartilaginosos e ósseos (que permitiram a protecção do SNC), o aparecimento de uma formação mandibular, a organização de estruturas sensoriais e plexos nervosos associados e o progresso da musculatura faríngea. Estas novas características permitiram aos animais passar de um estado filtrador para predador.

Gans & Northcutt (1983) propõem, assim, que o aparecimento da crista neural num vertebrado ancestral, foi um ponto-chave que contribuiu tanto para o desenvolvimento de estruturas que formam a cabeça, quanto para o aprimoramento de um sistema sensorial.

Os primeiros vertebrados exibindo uma “nova cabeça” foram, provavelmente organismos, muito parecidos aos modernos peixes sem mandíbula, como a lampreia. Apesar das lampreias não terem mandíbula, apresentam contudo um lábio superior e inferior com morfologias distintas, expressando já marcadores moleculares típicos de estruturas derivadas da crista neural.

A mandíbula surge, pois, como uma inovação da maior importância resultante de alterações topográficas decorrentes da migração de células da crista neural e de interações epitélio-mesenquima, permissivas à formação de estruturas mandibulares. Este facto permitiu o desenvolvimento de excepcionais condições e capacidades de sobrevivência aos animais (Chai & Maxson, 2006; Mallatt, 2008).

O início do processo de migração das células da crista neural ainda não é totalmente conhecido, porém, sabe-se que a partir da sua posição e especificação na crista neural passa a ser activado um conjunto de factores de transcrição, preparando-as para um determinado trajecto migratório e destino final. Com efeito, o padrão de migração e diferenciação das células da crista neural não depende somente duma possível pré-programação intrínseca (resultante da sua localização

topográfica de origem) mas vai sendo determinado por factores moleculares "residentes" nos diferentes tecidos por onde vão passando.

Como estas células estão fortemente aderentes às demais células do neuroepitélio, a perda da expressão das N-caderinas é o primeiro passo para o início da sua migração (Akitaya & Bronner-Fraser, 1992). Em seguida, a presença de certos elementos da matriz extracelular apresenta-se fundamental para determinar algumas rotas de migração destas células. Posteriormente, combinações de moléculas da matriz extracelular aliadas a factores quimiotáticos solúveis guiam de maneira específica as células da crista neural no seu processo de diferenciação, direccionando-as para os seus mais diversos destinos (Löfberg *et al.*, 1985). Uma vez no seu destino final, as células da crista neural recebem sinalizações e mensagens para que assumam um fenótipo final e definitivo.

Em síntese, pode afirmar-se que certas especificidades da matriz extracelular, juntamente com as características intrínsecas das células, bem como a existência de gradientes de factores de crescimento, com importantes funções indutoras (presentes em regiões específicas do embrião), são os principais responsáveis pela diferenciação das células da crista neural. Entre os componentes mais importantes (que participam nas interacções epitélio-mesênquima) capazes de estimular a sobrevivência, proliferação, migração e diferenciação destas células estão elementos pertencentes às seguintes famílias de factores de crescimento e diferenciação: factores de crescimento fibroblásticos (FGFs), proteínas morfogénicas ósseas (BMPs), proteínas hedgehog (Shh) e proteínas Wnt (Kalcheim, 1989; Murphy *et al.*, 1994; Kubota *et al.*, 2000; Holland *et al.*, 2007).

Estes compostos formam no seu conjunto importantes moléculas sinalizadoras.

As células da crista neural da região cefálica (figura 2) têm uma participação decisiva e prioritária na formação da face e dos arcos branquiais. De facto, as células que migram do prospectivo diencéfalo até ao rombómero 8 constituem a região com maiores potencialidades.

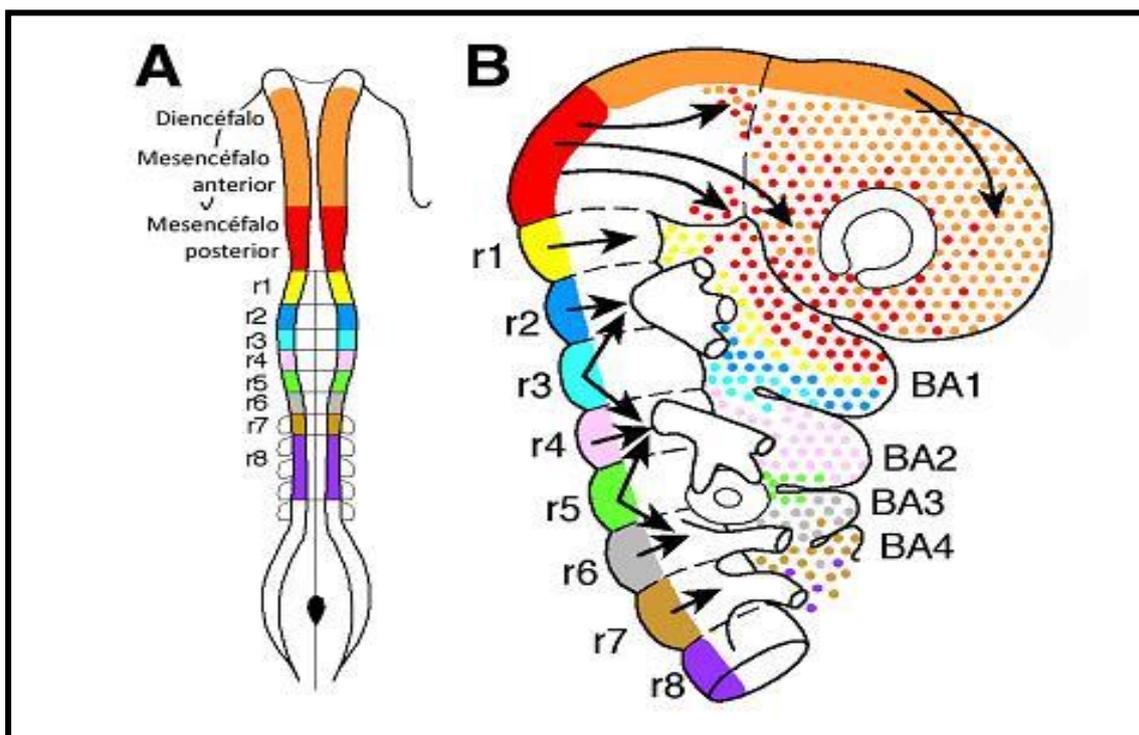


Figura 2: Representação das vias de migração das células da crista neural da região cefálica e truncal e sua contribuição para o desenvolvimento da face e arcos branquiais. De notar a particular importância do mesencefalo e do rombómero 1 e 2 na formação da face e do primeiro arco. As diferentes cores estão relacionadas com o ponto de origem das células, as setas representam as rotas migratórias e as esferas coloridas os territórios colonizados pelas células e seu destino final. A segmentação do romboencefalo está representada pelos rombómeros r1 a r8 e os arcos branquiais por BA1 a BA4. Adaptado de Garcez 2009.

De assinalar, porém, que a ectoderme exerce um importante papel na regulação e destino das células da crista neural, durante a morfogênese craniofacial. O exemplo mais clássico e emblemático da interação entre células mesodérmicas e células ectodérmicas é o processo de formação dos dentes em mamíferos. Com efeito, a ectoderme oral vai activar e regular uma série de factores de transcrição (específicos da crista neural) nas células do ectomesênquima, em determinados estágios da sua diferenciação. Por exemplo, o FGF8 libertado pela ectoderme dos arcos branquiais é capaz de regular a expressão de dois genes *homeobox-LIM*, *LHX6* e *LHX7* (que serão desenvolvidos em parágrafos posteriores), que codificam factores de transcrição que por sua vez vão determinar os limites da região oral, durante o desenvolvimento da mandíbula. A ectoderme do primeiro arco branquial, através da expressão de FGF8 e também de BMP4, (entre outros factores) contribui de forma determinante para regular e estabelecer um padrão

próximo-distal da mandíbula e determinar um modelo odontológico específico de cada espécie (Helms *et al.*, 2005). Assim, pode afirmar-se que as células da crista neural vão formar órgãos dentários somente quando associadas com o epitélio oral. Com efeito, durante o desenvolvimento normal as células da crista neural que entram no primeiro arco são odontologicamente inespecíficas, necessitando da presença do epitélio oral para desenvolverem um potencial odontogénico. Na verdade, o epitélio oral constitui um importante agente "instrutor" sobre o ectomesênquima subjacente regulando (estimulando ou inibindo) a expressão de genes específicos (maioritariamente genes homeóticos) envolvidos no desenvolvimento inicial de células da linha odontoblástica.

Os odontoblastos derivados deste ectomesênquima, com origem nas cristas neurais, vão mais tarde formar dentina. A dentina constitui um tecido muito sensível a alterações mecânicas, térmicas e osmóticas. Quaisquer alterações no fluxo de fluidos presentes no interior dos túbulos dentinários são capazes de estimular as células odontoblásticas. Este aspecto demonstra bem que estas células "carregam" ainda muitas das características do seu neuroepitélio de origem, (Magloire, *et al.*, 2004). Dentro desta filosofia, foi proposto, que os odontoblastos seriam originalmente receptores sensoriais, respondendo a alterações químicas e térmicas do ambiente, especificidades que ainda hoje se mantêm. Embora os seus prolongamentos ou processos estejam protegidos por uma matriz extracelular mineralizada de natureza conjuntiva (por eles próprios sintetizada), estudos recentes demonstraram que os odontoblastos de mamíferos, para além de características mesenquimatosas, expressam uma série de receptores neuronais. Estão incluídos neste contexto o receptor de capsaicina, os canais de sódio e receptores sensíveis a tetradoxina. Em cultura de células, os odontoblastos, mostraram-se também capazes de gerar potenciais de acção. Estas células são, por isso mesmo, responsáveis pela recepção e transmissão de estímulos relacionados com os processos de dor (Allard *et al.*, 2006).

Todas estas evidências reforçam o que a este respeito Slavkin *et al* (1996) afirmaram, sublinhando a origem neural do órgão dentário "*Teeth per se are essentially neurological structure that are suggested to have originated as exoskeletal chemosensory organ in early agnathan chordates.*"

Uma última nota para descrever sumariamente algumas das alterações morfológicas e funcionais observadas nos órgãos dentários, durante o processo de

evolução filogenética, visando um melhor entendimento dos mecanismos que controlam a formação dos dentes.

A complexidade e a dinâmica da formação do dente podem ser mais facilmente exemplificadas e compreendidas observando as mudanças ocorridas nas dentições, durante o decurso da evolução dos vertebrados. Na dentição dos vertebrados inferiores, apesar de já apresentarem formações maxilo-mandibulares, não se verifica oclusão entre as mandíbulas opostas. A sua função está, assim, limitada à apreensão e perfuração da comida. O estabelecimento da oclusão dentária veio permitir um melhor processamento da comida e um conseqüente aumento na eficiência da entrada de nutrientes no sistema digestivo. O desenvolvimento da mastigação foi um passo chave que permitiu aos mamíferos suportar maiores níveis de actividade, conferindo-lhes importantes capacidades. O dente constitui o factor mais significativo no controlo da oclusão, uma vez que o ajuste entre maxila e mandíbula, durante a mastigação, é regulado principalmente pelos contactos oclusais entre as cúspides, depressões e fissuras de dentes opostos (Silva e Alves, 2008).

A transformação verificada na forma dos molares constitui, também, um outro exemplo que demonstra bem a mudança da capacidade do dente de perfurar e cortar para a de esmagar e moer.

As alterações adaptativas observadas nas diferentes dentições, ao longo da escala filogenética, permitiram um melhor processamento da comida e maior eficiência na absorção de nutrientes pelo organismo, possibilitando aos mamíferos competir pela energia necessária à sua sobrevivência (Silva e Alves, 2008).

Em síntese, o conhecimento dos processos moleculares e mecanismos evolutivos relacionados com o desenvolvimento das estruturas crânio-faciais, incluindo as formações maxilares e os órgãos dentários, em vertebrados constitui uma peça fundamental para a compreensão do desenvolvimento da cabeça. Estas noções são também indispensáveis para alicerçar estudos de medicina regenerativa, como as regenerações ósseas, vasculares, nervosas e dentárias.

As células da crista neural, consideradas como a grande aquisição dos vertebrados durante o processo evolutivo, assumem cada vez mais um papel primordial no futuro da medicina e da medicina dentária.

Genes homeóticos (alguns aspectos)

Durante o desenvolvimento embrionário, os genes de segmentação formam parte de um importante sistema que subdivide o embrião em domínios, cada vez menores, ao longo do eixo cefalo-caudal (o embrião dos cordados e vertebrados desenvolve-se segundo três eixos fundamentais: cefalo-caudal, dorso-lateral e latero-lateral).

Em paralelo e ligado ao processo de segmentação, um conjunto adicional de genes, os *genes homeóticos* servem para definir e preservar as diferenças estruturais e de comportamento entre um segmento e o seu adjacente, estabelecendo ainda as características antero-posteriores dos segmentos (Holland et al, 2007). Deste modo, contribuem para a formação de padrões segmentares, fornecendo a cada segmento e às estruturas que o constituem características individuais.

Genes homeóticos – “*homeobox genes*” são genes que codificam factores de transcrição, altamente conservados, que controlam a identidade posicional das células (padronização corporal), regulando aspectos essenciais dos processos de embriogénese, morfogénese e diferenciação celular de uma grande série de organismos, dos mais simples aos mais complexos (Wang, 2004; Holland et al, 2007; Suomalainen, 2010). Estes genes identificados pela primeira vez na mosca da fruta *Drosophila melanogaster* possuem uma sequência de 180 nucleótidos (que codifica uma sequência de 60 aminoácidos) denominada *homeobox*, assim designada porque as mutações destes genes resultam na conversão duma área corporal ou região anatómica numa outra diferente (fenómeno conhecido como homeose ou transformação homeótica). Baseado neste motivo, dois dos genes mais estudados na *Drosophila* foram denominados por *Antp* (antenapedia) e *ubx* (ultrabithorax). Com efeito, a mutação dos genes *Antp* na drosophila leva à formação de patas na região das antenas, indicando que as proteínas por eles codificadas controlam decisões críticas nos mecanismos de desenvolvimento morfogenético (Slavkin Diekwisch, 1996).

As proteínas codificadas pelos genes *homeobox*, denominadas homeoproteínas (ou proteínas de homeodominio) regulam genes que codificam moléculas de adesão, factores de crescimento e proteínas da matriz extracelular, tudo elementos fundamentais para o início e manutenção dos processos de desenvolvimento embrionário (Nonaka, 2006; Garcez, 2009).

A sequência *homeobox* proteica de 60 aminoácidos, atrás referida, constitui o local de ligação ao DNA de genes *downstream*, justificando assim a sua actividade

como factores de transcrição. Estas proteínas de regulação génica ligam ou desligam conjuntos específicos de genes devido à sua capacidade de reconhecer uma determinada sequência de DNA. A interface proteína/DNA assegura uma interacção altamente específica e muito forte, podendo facilmente activar ou reprimir a transcrição de outros genes.

Estas sequências, altamente conservadas ao longo da escala filogenética, assumem um papel crítico no desenvolvimento e estabelecimento de regiões corporais distintas e formações específicas nos vertebrados, inclusive no homem.

A *Drosophila* (figura 3) possui oito genes homeóticos (*HOM-C*) que especificam as estruturas que se desenvolvem a partir de cada um dos seus segmentos corporais. Nos vertebrados os genes homólogos ao complexo homeótico da *drosophila* (*HOM-C*) estão dispostos de uma maneira agrupada (formando até ao presente quatro grupos distintos) e são designados por *cluster HOX*. No homem (figura 3) estes genes estão representados por 39 membros dispostos em quatro grupos (A, B, C e D), localizados nos cromossomos 7, 17, 12 e 2, respectivamente e contém 9 a 11 genes em cada um desses grupos.

Os genes *HOX* são um subgrupo dos genes *homeobox*. A expressão dos genes *HOX* é iniciada na gastrulação e segue um padrão de colinearidade temporal e espacial (Hunt et al, 1991; Shah et al 1996; Suzuki et al, 2006). Com efeito, a expressão dos genes *HOX* é colinear com o padrão de expressão temporal e espacial da *Drosophila*, seguindo a mesma ordem ao longo do eixo cefalo-caudal. Este aspecto pressupõe a existência de um mecanismo de regulação comum responsável pelo desenvolvimento de regiões específicas (tanto na mosca como nos mamíferos). Por outro lado a expressão destes genes selectores reflecte a sua ordem de organização no genoma. Assim, os genes *HOX* das regiões 3' são transcritos mais precocemente do que os da região 5', que são expressos mais tardiamente e controlam, por sua vez, áreas localizadas numa posição mais posterior, quando consideradas ao longo do eixo crânio caudal do embrião (Garcez, 2009).

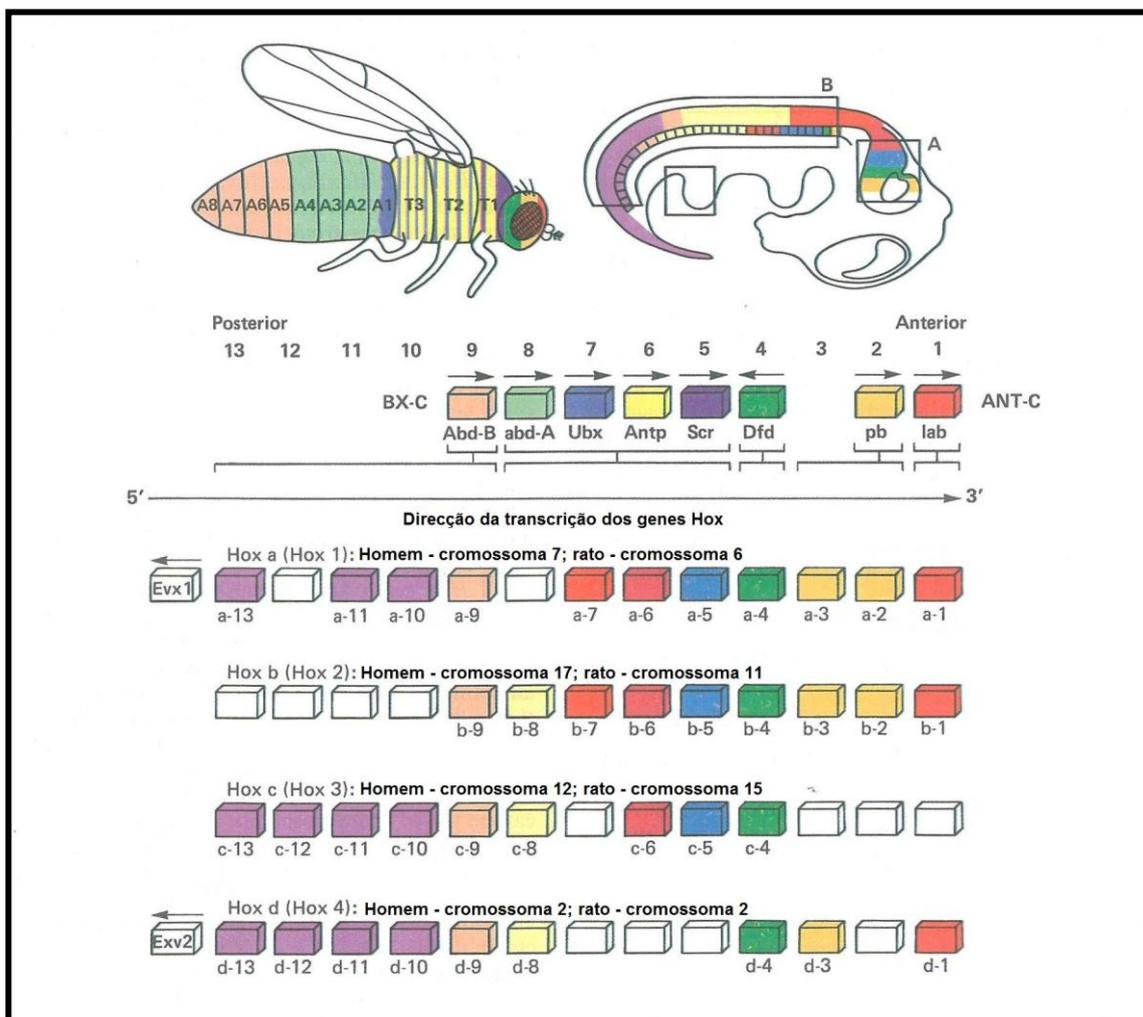


Figura 3: Representação esquemática da localização e correspondência dos genes HOM-c e HOX respectivamente no genoma da drosophila, no homem e no rato. Adaptada de Grays's Anatomy 2005.

A segmentação embrionária da cabeça e pescoço é mais notória do que em qualquer outro local do embrião exercendo os genes homeóticos um papel fundamental na morfogénese e desenvolvimento dos arcos branquiais (Ten Cate et al, 2003; Garrant, 2003). Diferentes combinações da expressão destes genes ajudam a seleccionar o destino final de muitos grupos de células e, deste modo, o aparecimento de formações específicas e estrategicamente posicionadas no tempo e no espaço.

Pode considerar-se, pois, que a função básica dos genes homeóticos em todos os animais consiste em determinar e estabelecer a individualidade dos diferentes segmentos formados ao longo dos eixos corporais e ao longo do desenvolvimento. A conservação da estrutura e função destes genes na escala

filogenética reflecte bem a sua importância na especificação e manutenção da identidade regional de certas áreas e estruturas, respeitando um padrão de planos e eixos de desenvolvimento (Antero-posterior, dorso-ventral e latero-lateral) definidos e conservados através dos processos de evolução. Os genes homeóticos são por este motivo frequentemente designados por "*master control genes*".

À semelhança de outras partes do corpo, a expressão combinada de membros de grupos de genes reguladores homeóticos desempenha um importante papel na especificação posicional de estruturas constituintes do sistema esquelético (código *Hox*) dos vertebrados (Suomalainen, 2010). Porém (figura 4) para além de um código *Hox* existe também um conjunto de genes homeóticos dispersos, que não se encontram agrupados nos clássicos "*clusters*" dos genes *HOM-C* e *HOX*, mas que continuam a ser necessários e indispensáveis à diferenciação e evolução de tipos específicos de populações celulares constituintes das estruturas oro-faciais (Berkovitz, 2004). Estes genes formam no seu todo um código odontogénico (*the odontogenic homeobox code*) nos maxilares em desenvolvimento. A expressão combinada de membros deste grupo de genes reguladores homeóticos (não *Hox*) desempenha um papel fundamental na especificação posicional (correcta localização, identidade, tamanho e forma) dos dentes, nas respectivas arcadas.

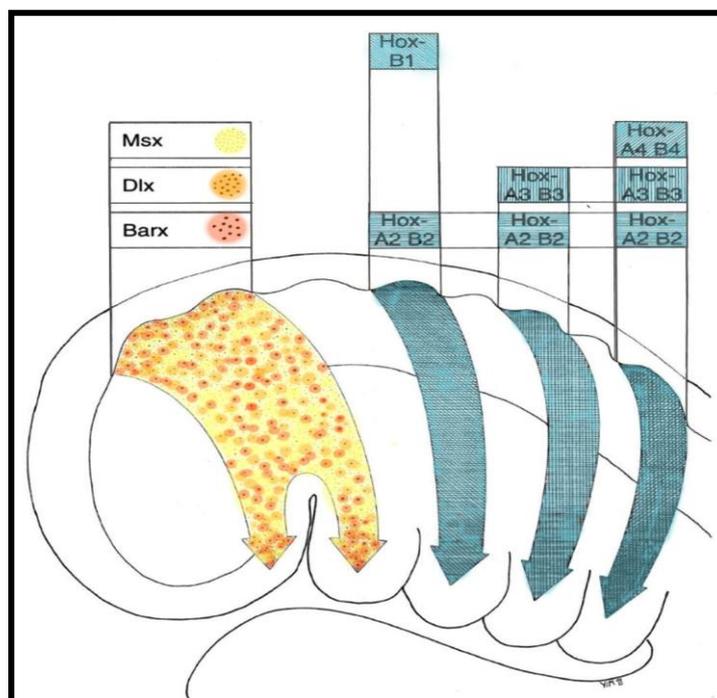


Figura 4: Esquema representativo do padrão anatómico de expressão de alguns genes reguladores homeóticos (não *Hox*) como os genes *Msx*, *Dlx* e *Barx* e sua importância na formação das estruturas constituintes do primeiro arco. De notar ainda a transcrição de alguns genes *Hox* (*Hox-A2*, *Hox-A3*, *Hox-B1*, *Hox-B2*, *Hox-B3* e *Hox-B4*) associados aos restantes arcos branquiais. Adaptado de Ten Cate 2003.

Este código, utilizado para padronização da região craniofacial dos vertebrados (figura 4) engloba grupos de genes que definem, pela sobreposição dos seus domínios de expressão, as regiões onde irão desenvolver-se os dentes incisivos, molares e caninos (Sharpe, 2003; Wang, 2004).

Mais de 300 genes estão envolvidos no desenvolvimento dos dentes em mamíferos (THESLEFF, 2000; Wang, 2004), sendo a sua maioria genes pertence à família de genes homeóticos. A inactivação destes genes codificadores pode alterar o desenvolvimento dentário.

O primeiro gene considerado como essencial no processo de formação dentária foi o MSX1. Vastardis (1996) verificou que uma mutação deste gene estava associada com a agenesia de segundos pré molares e terceiros molares. A expressão do gene MSX1 é detectada no ectomesênquima logo na fase de botão ou gomo e mutações deste gene provocam uma interrupção no desenvolvimento dentário nesta fase. Vieira et al (2004) demonstraram ainda que alterações neste gene podem levar à hipodontia e Seifi et al (2007) encontraram mutações no MSX1 relacionadas com agenesias de segundos pré molares inferiores e de incisivos laterais superiores.

Outro gene associado com a agenesia dentária em humanos é o PAX9. Mutações neste gene estão relacionadas com oligodontia e agenesia de molares.

PAX9, MSX1 e BMP4 participam numa mesma via de sinalização com um papel crucial na progressão do estágio de botão para o de capuz.

Como nota final, é importante recordar mais uma vez o papel de certos factores de crescimento (sintetizados pela ectoderme e endoderme oral) como dos mais relevantes elementos de regulação responsáveis pela activação destes genes homeóticos.

Parte B - Aspectos morfofuncionais e moleculares da odontogénese

Fase de iniciação

A primeira fase do desenvolvimento odontogénico (iniciação) envolve um conjunto de mecanismos que determinam a área onde irão posicionar-se os dentes no seu conjunto (região oral) e mais tarde a posição e diferente morfologia de cada um dos componentes das famílias de incisivos, caninos pré molares e molares. Muitos destes processos têm lugar muito antes das primeiras evidências histológicas que caracterizam as etapas iniciais da odontogénese e que também são comuns a vários órgãos de origem ectodérmica.

Na verdade, os órgãos de origem ectodérmica (figura 5) compartilham muitas semelhanças (de carácter histológico e bioquímico) durante as fases mais precoces do seu desenvolvimento (Jarvinen, 2008). Com efeito, as etapas iniciais do desenvolvimento do dente são, sob o ponto de vista morfológico e molecular, bastante similares às de outros órgãos ectodérmicos, como folículos pilosos e vários tipos de glândulas exócrinas. Todos eles assentam num complexo conjunto de interacções sequenciais (no tempo e no espaço) e recíprocas entre tecidos epiteliais e tecidos mesenquimatosos (Suomalainen, 2010).

O primeiro sinal "visível" é quase sempre um espessamento epitelial localizado (figura 5) designado por "placóide ectodérmico", geralmente associado e responsável pelo aparecimento e manutenção de uma condensação de células mesenquimatosas adjacentes. No seu processo normal de desenvolvimento, os placóides ectodérmicos progridem para dentro do mesênquima (invaginam), dando origem a estruturas ectodérmicas, normalmente designadas por gomos que crescem, sofrem pregueamentos, ou ramificações evoluindo, mais tardiamente, para uma forma final mais complexa, característica do órgão em questão (Jarvinen, 2008).

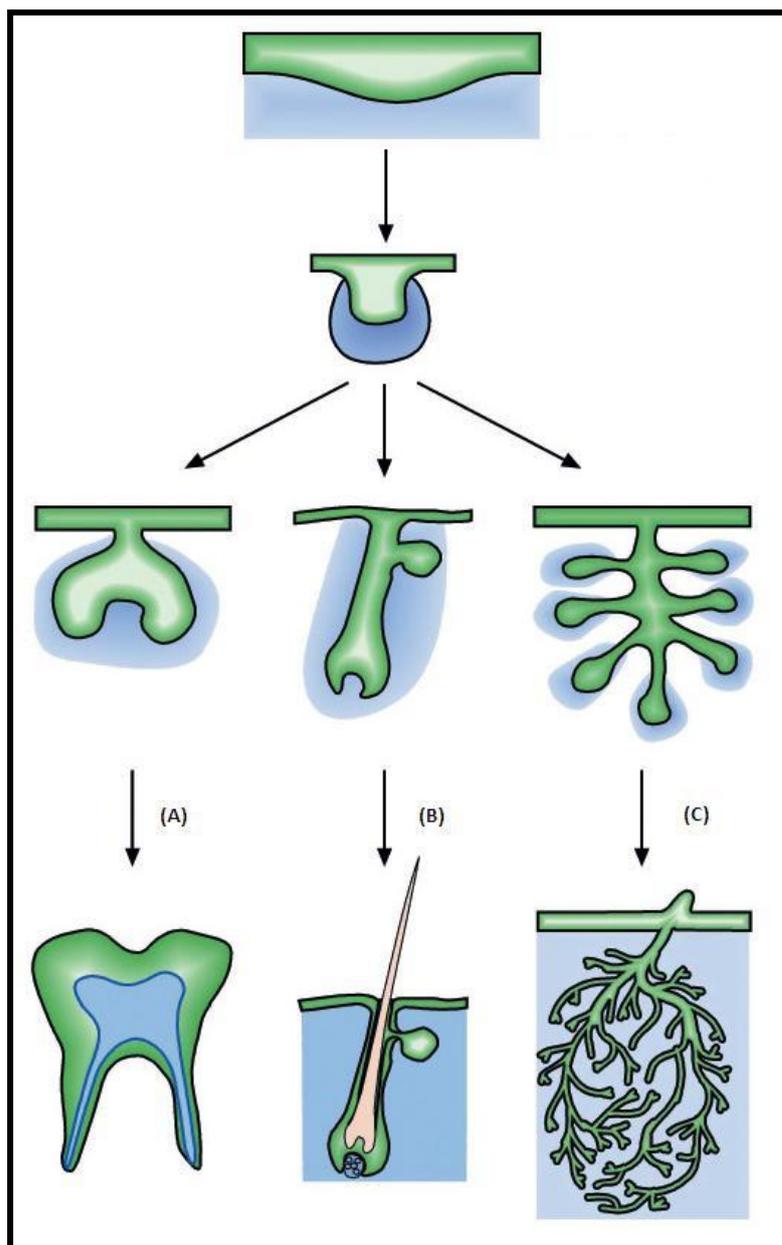


Figura 5 – Representação esquemática do desenvolvimento de alguns órgãos de origem ectodérmica. (A) Dente; (B) Folículo piloso; (C) Glândula mamária. Todos estes órgãos apresentam uma grande semelhança morfológica nos primeiros estádios do seu desenvolvimento. Todos têm início num espessamento ectodérmico (representado a verde) que sofre posteriormente uma invaginação no mesênquima subjacente (representado a azul), evoluindo para uma estrutura final, (específica de cada um dos órgãos), através de complexas interações epitélio/mesênquima. Adaptada de Jarvinen, 2008.

Verificam-se também semelhanças notáveis nos processos de regulação (moleculares e genéticos) de sistemas muito diferentes. Assim, facilmente se compreende que o conhecimento dos mecanismos subjacentes a um dado sistema possa muitas vezes explicar e funcionar como modelo para outros sistemas. Do igual modo, durante a embriogénese, são também muitos os sinais e vias de sinalização comuns e altamente conservados ao longo da escala filogenética, relacionando os processos evolutivos de órgãos muito diferentes, ou até mesmo entre organismos invertebrados e organismos vertebrados. Neste âmbito podem integrar-se também diversas famílias de proteínas, como FGFs, TGF - β , Shh, Wnt, TNFs, entre os principais factores de regulação e mecanismos de sinalização celular comuns a diversos sistemas. Quando uma molécula sinalizadora se liga ao seu receptor específico, activa uma cascata de reacções intra-celulares que vão regular importantes funções relacionadas maioritariamente com processos de proliferação ou de diferenciação celular.

Devido ao seu papel crucial no controlo do crescimento e da diferenciação normal das células, as moléculas sinalizadoras têm adquirido uma grande relevância em estudos de investigação ligados aos mecanismos de carcinogénese.

Uma vez que os germens dentários do rato são de fácil acesso, têm um crescimento contínuo e podem ser experimentalmente manipulados *in vitro*, têm sido muito utilizados como modelos para uma análise dos mecanismos moleculares relacionados com processos de indução e organogénese.

Nos últimos quinze anos, o rápido progresso verificado em áreas como a biologia molecular, a genética, e a crescente utilização de animais transgénicos, em associação com os estudos de embriologia clássica, levaram a significativos avanços na compreensão dos mecanismos de regulação genética da odontogénese, com enormes repercussões também noutros órgãos e sistemas (Jarvinen, 2008; Suomalainen, 2010).

Determinação do eixo *oral-aboral*

Tendo por base algumas considerações já descritas na alínea "*genes homeóticos*" pareceu-nos importante desenvolver e objectivar alguns pormenores mais directamente relacionados com o desenvolvimento dos processos de odontogénese.

Os genes *LHX* são, como já foi referido, genes homeóticos determinantes para o desenvolvimento correcto de muitas estruturas como seja a organização dos brotos dos membros (figura 6) fazendo parte de um centro sinalizador localizado na

extremidade do broto de cada membro em formação. A informação morfológica contida neste centro resultante da interacção da crista ectodérmica apical (CEA) e da mesoderme subjacente estabelece, logo muito precocemente, uma sequência temporal e espacial da diferenciação próximo-distal do futuro membro. Os sinais provenientes deste centro accionam e orientam a formação e crescimento do respectivo membro controlando desde muito cedo a posição correcta, o destino e a diferenciação final das estruturas que o vão constituir (Grigoriou, 1998).

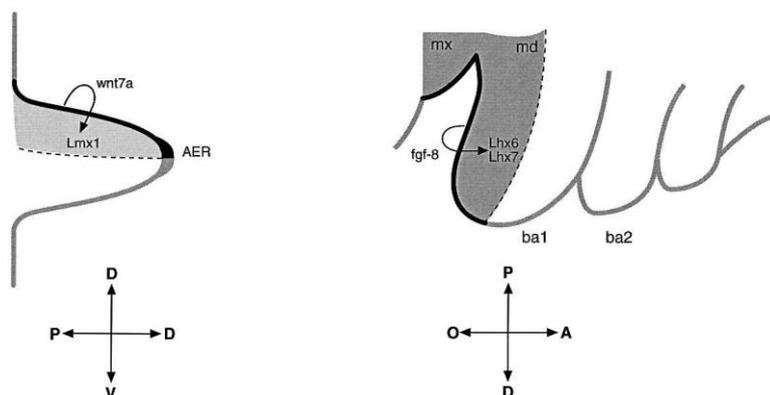


Figura 6: Esquema representativo da interacção celular e molecular que conduz ao desenvolvimento de um membro (à esquerda) seguindo um eixo dorso-ventral e de uma mandíbula seguindo um eixo *oral-aboral* (à direita). No broto dos membros dos vertebrados a expressão de *Wnt7*, pela ectoderme dorsal, induz a transcrição de *Lmx1* na mesoderme adjacente (área sombreada) representando um factor importante para estabelecer a diferenciação e correcta posição das estruturas constituintes e características da face dorsal do futuro membro. De igual modo o *fgf8* sintetizado pelo epitélio que recobre o processo mandibular (*md*) vai induzir a expressão dos genes *Lhx6* e *Lhx7* nas células do ectomesênquima subjacente e deste modo determinar o estabelecimento de uma nítida polaridade na mandíbula dando origem à região *oral* (sombreado) e à região *aboral*. Adaptada de Grigoriou, 1998.

A esta família de genes pertencem dois membros *LHX6* e *LHX7*, que de um modo semelhante ao que foi descrito no parágrafo anterior (para o desenvolvimento dos membros) são necessários para a diferenciação e correcta posição (seguindo o eixo próximo-distal) das estruturas orofaciais desenvolvidas no primeiro arco. Porém, a expressão destes genes só se manifesta, se induzida por certos factores de crescimento provenientes da ectoderme e endoderme que recobrem o primeiro arco. Neste âmbito o FGF8 será provavelmente um dos factores de crescimento mais importantes na activação destes genes e na determinação precoce da "polaridade" do primeiro arco (Cobourne e Sharpe, 2003).

Embora, os órgãos dentários sejam estruturas características apenas do primeiro arco, estão localizados especificamente na sua metade anterior, região oral. Com efeito, durante as fases precoces de desenvolvimento da mandíbula e da maxila começa a estabelecer-se uma nítida “polaridade”, dando origem a uma *região oral* (onde serão formados e desenvolvidos os dentes) e uma *região aboral* (com predominância de elementos constituintes do sistema esquelético). Recentemente têm vindo a ser elucidados alguns mecanismos moleculares responsáveis pela distribuição das estruturas características destas regiões. O factor de crescimento FGF8 (produzido pelo epitélio oral) associado à expressão dos genes *LHX6* e *LHX7* (por ele induzidos no ectomesênquima adjacente) parecem estar na base da especificação da região oral no primeiro arco, definindo um eixo *oral-aboral* (**O** → **A**) nos processos mandibular e maxilar (Figuras 6 e 7), antes mesmo do aparecimento dos primórdios dos órgãos dentários.

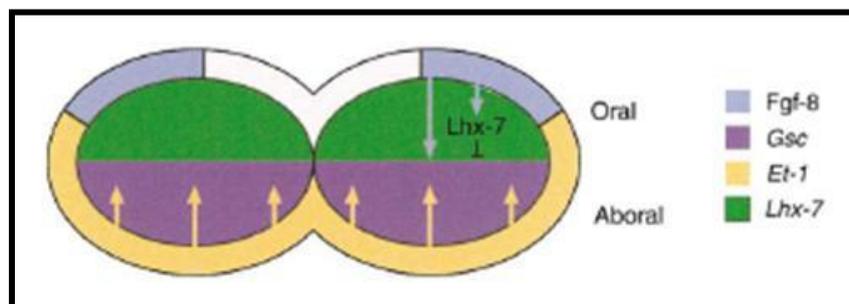


Figura 7: Representação esquemática da determinação da polaridade (*oral-aboral*) no processo mandibular no estágio E10 do embrião de ratinho. A presença de *fgf-8* (representado em azul) na ectoderme rostral induz no ectomesênquima subjacente a activação dos genes *lhx-7* (representado a verde), definindo a região *oral*. Esta circunstância limita a expressão do gene *Gsc* (representado a violeta) à região *aboral*. Adaptada de Cobourne e Sharpe, 2003.

De facto, no período embrionário precoce de desenvolvimento dos mamíferos os domínios de expressão dos genes *LHX6* e *LHX7* estão estritamente associados com as áreas de actividade do FGF8 (Ten Cate et al, 2003). Estes genes são fundamentais para o desenvolvimento da arcada dentária dos mamíferos, conferindo potencial odontogénico ao ectomesênquima oral.

Outro importante gene homeótico com expressão no ectomesênquima do primeiro arco (figura 7) é o gene *gooseoid* (*Gsc*), dependente da expressão de endotelina-1 (*Et-1*) pela ectoderme. Contudo, em contraste com o *lhx6* e *lhx7*, o seu território de expressão está limitado à região *aboral*. Esta restrição topográfica na expressão de *GSC* parece ser também uma consequência (ainda que indirecta)

da actividade do FGF8, uma vez que a presença de *LHX6* e *LHX7* vai “contrariar” e restringir a área de *GSC* à região *aboral* (Cobourne e Sharpe, 2003).

Interacção sequencial, recíproca e temporária entre epitélio e mesênquima

A regulação da expressão génica do ectomesênquima para além de sequencial e recíproca é também *time dependent*, ou seja a capacidade de resposta do ectomesênquima aos sinais epiteliais é temporária (Jernvall et al, 2000; Nonaka, 2006). Foi já demonstrado, em embriões de ratinho, que em apenas vinte e quatro horas é possível verificar uma mudança radical na capacidade de resposta (competência) do ectomesênquima, em relação às mensagens indutoras provenientes do epitélio suprajacente. Tal como a figura 8 esquematiza, entre o período embrionário correspondente ao estágio E9,5 e E10,25, a resposta do ectomesênquima aos sinais instrutores epiteliais era completa. Assim, todas as células mesênquimatosas (com origem na crista neural) parecem competentes para responder e expressar diferentes genes (*Msx1*, *Barx1*, *Dlx2* e *Dlx5*) seguindo os sinais recebidos pelo epitélio. Este facto parece sugerir a não existência de uma pré-programação das células da crista neural que colonizam estas regiões. Já no período correspondente a E10,5 observa-se uma dramática alteração que se traduz numa franca restrição das áreas competentes, ou seja, apenas um pequeno grupo de células mantiveram a capacidade de resposta. Com efeito, embora a expressão génica do ectomesênquima esteja ainda dependente do epitélio, houve uma fixação e limitação deste mecanismo a um determinado território (Ferguson et al, 2000; Wang, 2004; Suomalainen, 2010).

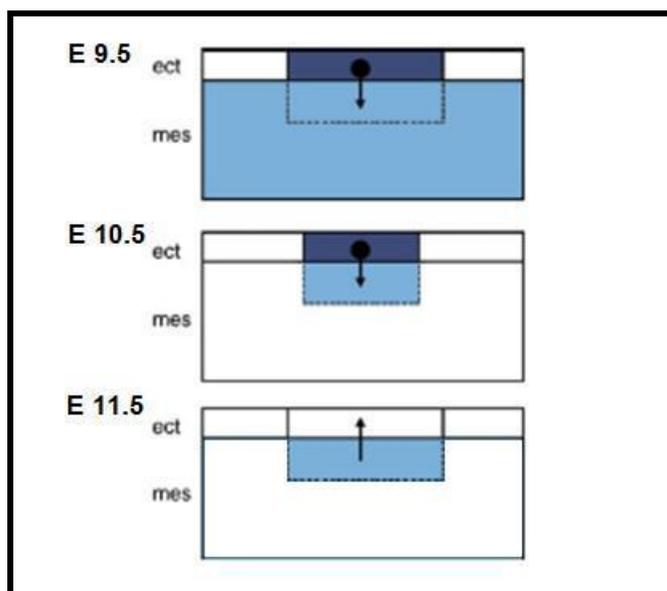


Figura 8: Representação esquemática da resposta do ectomesênquima mandibular às "mensagens" indutoras provenientes do epitélio suprajacente entre o estágio E9,5 e E11,5 do desenvolvimento embrionário do ratinho. As áreas representadas em azul claro indicam as regiões do ectomesênquima com competência para expressar genes homeóticos. As áreas representadas em azul escuro indicam a localização dos sinais provenientes do epitélio. As setas indicam a direcção do sinal entre epitélio e mesênquima. Na fase E9,5 a expressão génica das células mesenquimatosas está dependente dos sinais provenientes do epitélio, sendo todas igualmente competentes. No estágio E10,5 os domínios de expressão no ectomesênquima tornam-se muito mais restritos e em E11,5 a expressão génica destas células já não depende dos sinais epiteliais. Adaptada de Cobourne e Sharpe, 2003.

A partir de E11 a capacidade de expressão génica do ectomesênquima já não está mais dependente do epitélio, verificando-se mesmo uma inversão do potencial indutor sobre o epitélio ectodérmico. Nesta etapa, a remoção do epitélio já não vai afectar a expressão génica do ectomesênquima.

Esta regulação temporo-espacial sequencial e recíproca, vai controlando o desenrolar de um programa odontológico seguindo um código odontogénico específico (Cobourne e Sharpe, 2003).

Código odontogénico

Depois de demarcada a região da futura arcada dentária (no seu todo) serão definidas as sub regiões correspondentes às áreas de desenvolvimento dos diferentes tipos de dentes (incisivos, caninos, pré molares e molares). Este processo resulta da interacção entre as moléculas de sinalização (muitas vezes com

sinais antagónicos) como o FGF8 e a BMP2 e a BMP4 e a consequente expressão e arranjo estratégico de certos factores de transcrição (maioritariamente ligados aos genes PAX9 e MSX1). São mecanismos deste tipo que constituem o código odontogénico responsável pelo aparecimento e evolução de germens dentários no local correcto e com a forma correcta (Lumsden, 1979; Hunt et al, 1991; Cobourne, 1999; Thesleff, 2006; Jarvinen, 2008; Thesleff et al, 2009).

O código odontogénico (*the odontogenic homeobox code*), já referido em alínea anterior, determina que a expressão combinada de certos genes homeóticos esteja altamente confinada a áreas restritas da maxila e da mandíbula e que este facto seja responsável pelo aparecimento de diferentes tipos de dentes. Alterações experimentais na expressão destes genes resultam quase sempre em profundas perturbações na distribuição/ posicionamento dos elementos característicos da dentição (McCollum e Sharpe, 2001).

Este código utilizado fundamental na especificação posicional de cada peça dentária inclui (figura 9) membros dos grupos de genes Muscle segment (Msx), Distal-less (Dlx), Goosecoid (Gsc) e Paired (Pax). Estes grupos de genes definem, pela sobreposição dos seus domínios de expressão, as regiões onde irão desenvolver-se os dentes incisivos, molares e caninos (SHARPE et al, 2003). Nestas condições, o grupo de genes *homeobox* expresso na região supostamente reservada aos incisivos vai ditar o desenvolvimento deste tipo de dentes nesta área, enquanto que os que são expressos na zona destinada aos molares vai determinar especificamente a formação de dentes com estas características (McCollum e Sharpe, 2001; Thesleff, 2006; Jarvinen, 2008; Thesleff et al, 2009).

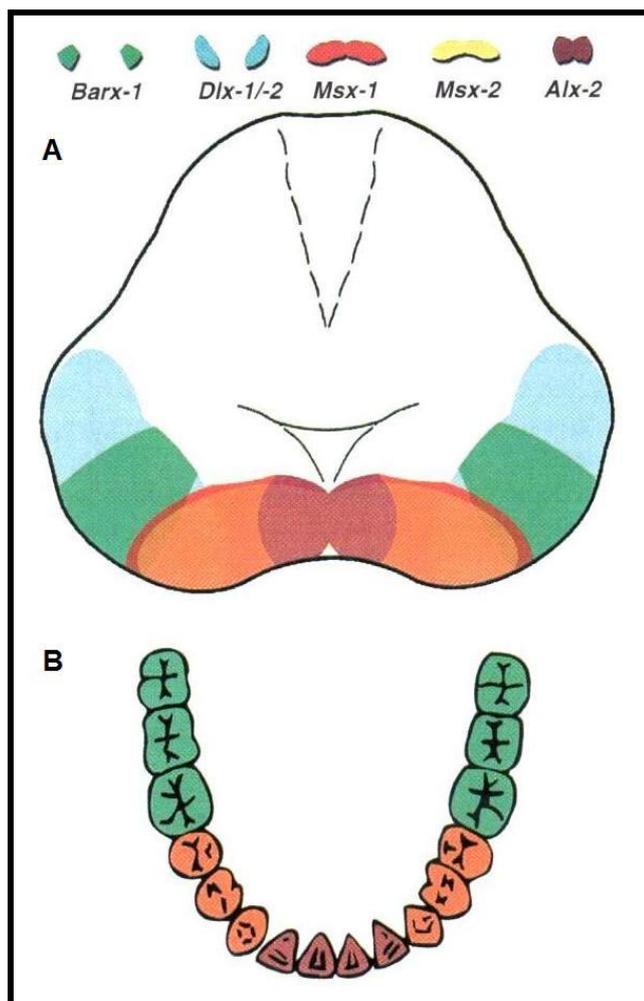


Figura 9: A - Representação esquemática do código genético odontogênico de genes homeobox no ectomesênquima da mandíbula em desenvolvimento, verificando-se a sobreposição (laranja) entre os domínios do Msx-1 (vermelho) e Msx-2 (amarelo); B - modelo representativo da dentição humana notando-se o desenvolvimento dos incisivos nas áreas formadas por células que expressam Msx-1, Msx-2 e Alx-2, caninos e pré molares derivados de células que expressam Msx-1 e Msx-2 e molares de células que expressam Barx-1. Adaptada de McCollum e Sharpe, 2001.

Assim, segundo este código odontogênico existem importantes diferenças no arranjo dos genes *homeobox* entre a zona dos incisivos e dos molares. Por exemplo, o ectomesênquima na região dos incisivos é estimulado no sentido de expressar os genes MSX1, mas não BARX1, enquanto que o ectomesênquima na região dos molares expressa o BARX1, mas não o MSX1 (McCollum e Sharpe, 2001; Thesleff, 2006; Jarvinen, 2008; Thesleff et al, 2009).

Em síntese, a diferente identidade assumida por cada uma das peças dentárias não é determinada pela transcrição de (apenas) um gene específico mas é o resultado da sobreposição e actividade combinada (presença ou ausência) de

vários genes diferentes. Do mesmo modo o estabelecimento de domínios específicos dos genes *homeobox* no mesênquima é também o reflexo da desigual distribuição (temporal e espacial) de sinais ectodérmicos que induzem e mantêm diferentes padrões de expressão genica (Suomalainen, 2010).

Uma última nota para sublinhar que a expressão de diferentes genes homeóticos associada a certas vias de sinalização (constituindo sistemas básicos e comuns ao desenvolvimento de muitos órgãos), manifestam-se não só nas fases iniciais de desenvolvimento dos germens dentários mas também durante os processos de morfogénese e histodiferenciação, ou seja, em estádios muito mais avançados. Tomemos como exemplo o caso da BMP4, molécula activamente envolvida na etapa precoce de iniciação e determinação das características dos germens dentários. Esta molécula apresenta-se, contudo, também de fundamental importância tanto na formação do nó do esmalte (tanto primário como secundário), como na fase final da diferenciação dos ameloblastos. Isto é, desde a etapa inicial da morfogénese do dente até ao processo terminal da histo e citodiferenciação. De facto, a evolução da odontogénese para além da fase de gomo ou broto é muitas vezes mediada pela repetição dos mesmos mecanismos de interacção epitélio mesênquima observados precocemente, constituindo agora, centros de sinalização mais localizados e especializados (McCollum e Sharpe, 2001).

Banda epitelial primária/lâmina dentária

A primeira evidência histológica que marca o início da odontogênese está representada pela formação (por volta da sexta semana de vida intra uterina) de um espessamento no epitélio da cavidade oral primitiva (banda odontogénica), denominada por **banda epitelial primária**. Esta estrutura encontra-se localizada ao longo das margens laterais da cavidade oral em formação, assumindo uma forma semelhante a uma "ferradura". Nesta estrutura epitelial a proliferação celular leva a um espessamento do epitélio. Este fenómeno é devido, em parte, a modificações na orientação do fuso mitótico (Figura 10) das células em divisão. Com efeito, o fuso torna-se perpendicular ao epitélio oral, alterando o plano de clivagem e, desta maneira as células filhas vão invadindo cada vez mais o estomesênquima subjacente (Ten Cate, 2003; Berkovitz, 2004;).

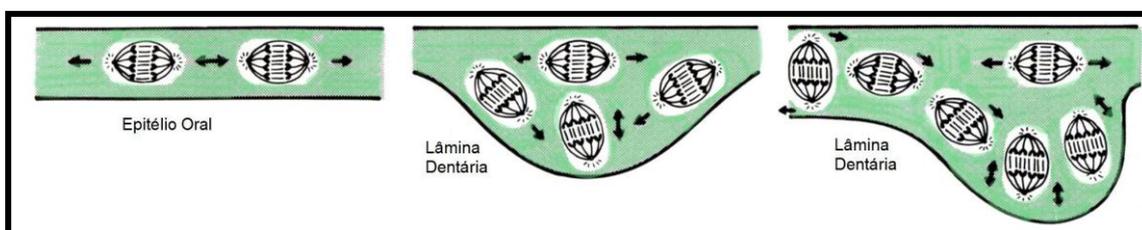


Figura 10: Representação esquemática do aumento de espessura da banda epitelial primária e sua progressão para lâmina dentária. É também de assinalar a alteração do plano de clivagem por modificação na orientação do fuso mitótico das células em divisão. Adaptada de Ten Cate, 2003.

Quase imediatamente a seguir à sua formação (pela sétima semana) a margem desta banda epitelial primária subdivide-se em duas porções ou processos: um externo dirigido para vestibular e outro interno, lingual (Ten Cate, 2003).

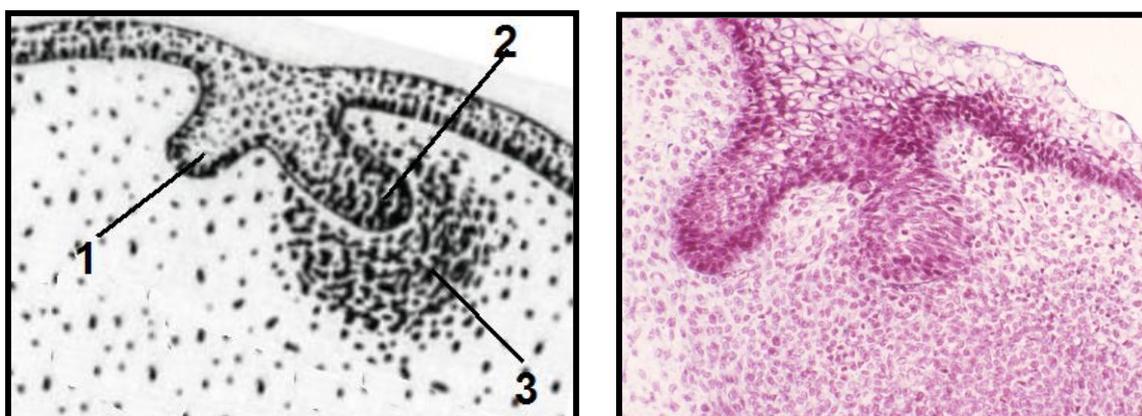


Figura 11: Representação esquemática (à esquerda) e imagem histológica (à direita) da subdivisão da banda epitelial primária em lâmina vestibular (1), lâmina dentária (2) sendo ainda visível a presença de uma certa condensação de ectomesênquima (3), adjacente à lâmina dentária.

O processo externo, denominado por lâmina vestibular, dará origem à lâmina lábio gengival e posteriormente ao sulco lábio gengival ou vestibulo (separando, os lábios e bochechas dos futuros arcos dentários).

O processo interno, designado por **lâmina dentária**, é responsável pela formação dos germes dentários (Cobourne, 1999; Ferraris e Muñoz, 1999). A tabela 1 apresenta a cronologia do aparecimento dos germens dentários.

Cronologia do início da formação dos germes dentais

| Período | dentés |
|--|---|
| 6 ^a -8 ^a SVIU | incisivos e caninos decíduos |
| 8 ^a -9 ^a SVIU | 1 ^o molar decíduo |
| 10 ^a -11 ^a SVIU | 2 ^o molar decíduo |
| 3 ^o - 4 ^o MVIU | incisivos, caninos e 1 ^o molar permanentes |
| nascimento – 10 ^o mês de vida | 1 ^o e 2 ^o premolares |
| 9 ^o - 12 ^o mês de vida | 2 ^o molar permanente |

SVIU – semanas de vida intra-uterina; MVIU – meses de vida intra-uterina.

Os gérmens dentários, com origem na lâmina dentária apresentam no seu processo de evolução uma série de etapas ou fases que, devido à diferente morfologia apresentada pelo seu componente epitelial (órgão do esmalte) são denominadas tradicionalmente por fase de **gomo ou de botão, fase de capuz, fase de campânula, fase de coroa e fase de raiz**. (Peters e Balling, 1999; Kerr, 2000; Thesleff, 2003).

Fase de Gomo ou Botão

Após uma fase de proliferação uniforme, a lâmina dentária passa a apresentar, em alguns locais, actividades mitóticas diferenciais. Como resultado deste mecanismo começam a aparecer, em cada arco, a partir da oitava semana, dez pequenas condensações esféricas, ou globulares, que fazem protusão para o mesênquima (figura 12), representando o início da fase de gomo ou de botão. Estas estruturas constituem os primórdios do órgão do esmalte (Berkovitz, 2004).

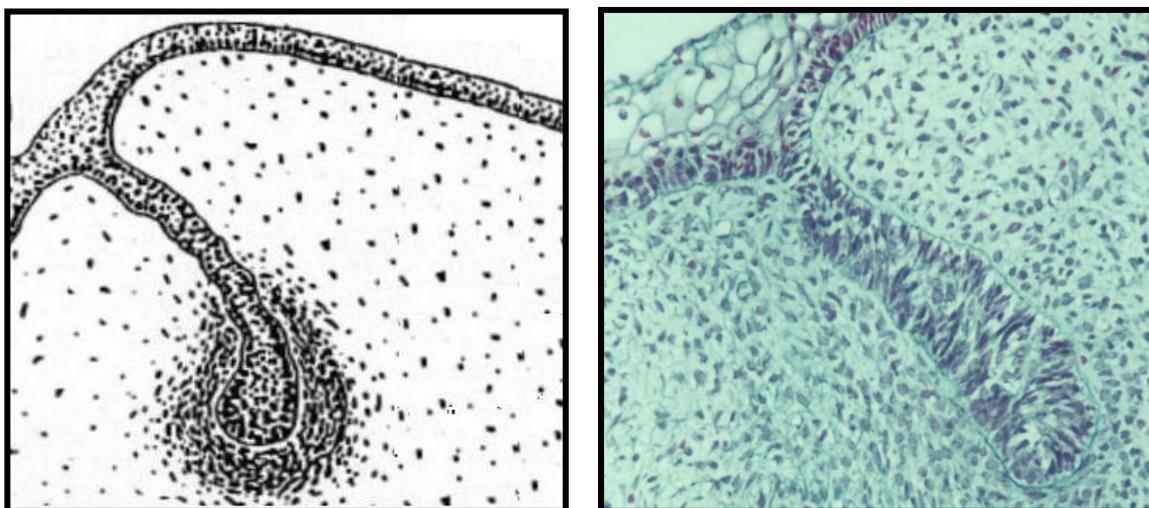


Figura 12: Representação esquemática (à esquerda) e aspecto histológico (à direita) do gérmen dentário em fase de gomo ou botão, apresentando-se constituído por uma porção epitelial (órgão do esmalte) em forma de gomo ou broto e por uma discreta condensação de células do ectomesênquima em seu redor.

Microscopicamente, a fase de botão (figura 13), é definida como uma projecção esferulóide da lâmina dentária, com todas as características de tecido epitelial, constituída perifericamente por células com morfologia de prismática baixa a cúbica (camada basal) que assentam directamente na membrana basal. A região central está formada por células poliédricas que correspondem às camadas supra basais do epitélio ectodérmico de origem. (Ten Cate, 2003; Berkovitz, 2004; Katchburian e Arana, 2004).



Figura 13: Aspecto em microscopia de luz de um gérmen dentário em fase de gomo, sendo notória a presença do epitélio oral, do epitélio do órgão do esmalte e a subjacente condensação de ectomesênquima (H.E. 10x no original).

No epitélio é frequente a observação de numerosas imagens mitóticas, reflectindo uma alta actividade proliferativa. Foi ainda demonstrado, nestas células, um conteúdo de RNA muito mais alto do que o que se verificava no epitélio oral adjacente. Este facto é também acompanhado por uma alta actividade enzimática e por um menor conteúdo em glicogénio.

Por sua vez, o ectomesênquima subjacente apresenta-se nesta fase ainda como uma discreta condensação de células, localizadas na parte mais profunda da formação epitelial.

Na fase de botão, como já foi referido, têm lugar, importantes processos de indução odontogénica (figura 14) levados a cabo através de moléculas bioactivas, com particular destaque para os FGFs e para as BMPs (Vainio et al, 1994; Ten Cate, 2003; Berkovitz, 2004; Katchburian e Arana, 2004; Thesleff, 2006).

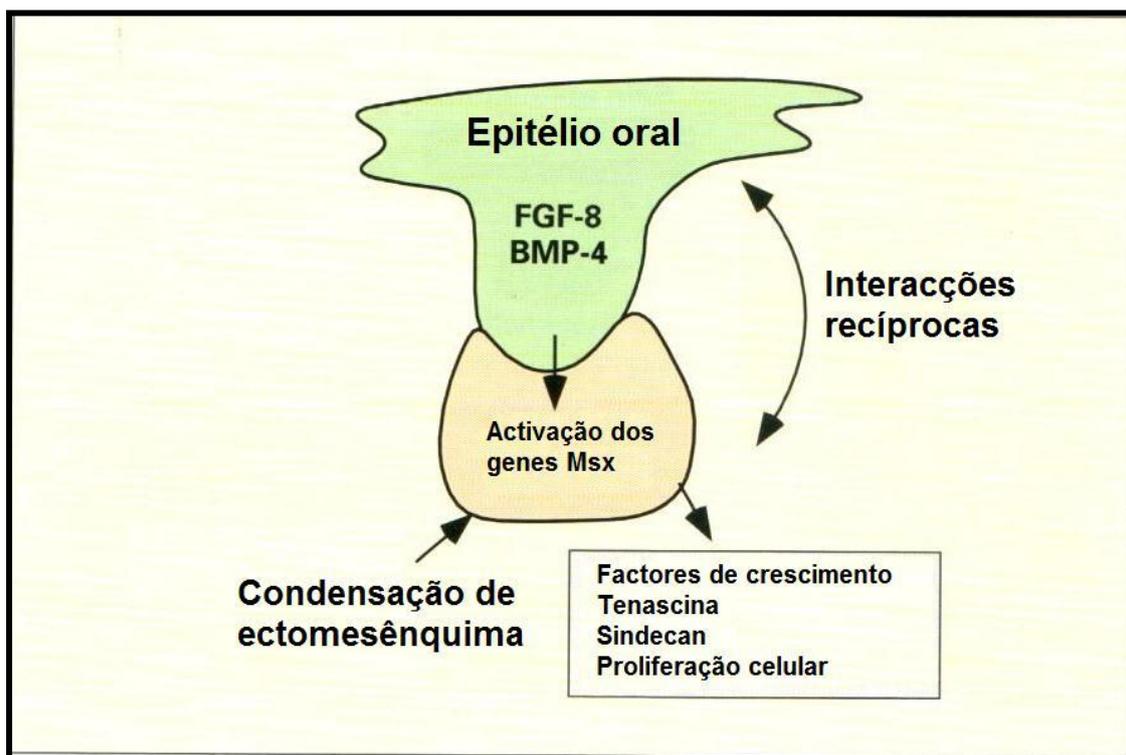


Figura 14: Representação esquemática do papel do FGF-8 e BMP-4 (sintetizados pelo epitélio oral) na activação da expressão do gene *Msx* e sua contribuição para a diferenciação das células do ectomesênquima subjacente. A actividade deste gene homeótico leva a uma maior condensação das células do ectomesênquima (aumento da tenascina e sindecana-1), à sua grande proliferação celular e à produção de outros factores de crescimento que vão exercer uma acção (recíproca) sobre o epitélio oral. Adaptada de Garrant, 2003.

Com efeito o FGF-8 e a BMP-4 sintetizados pelo epitélio oral podem ser considerados como o principal “motor de arranque” do processo odontogénico, sendo responsáveis pela activação dos genes homeóticos como os genes *Msx*. A activação destes genes leva ao aparecimento de tenascina e sindecana (moléculas que contribuem para uma maior condensação de células do ectomesênquima) bem como à expressão de outros factores de crescimento (exercendo um efeito recíproco no epitélio). Neste âmbito encontra-se o padrão de expressão de BMP-4 que deixa de ser sintetizado pelo epitélio e passa a ser produzido pelo ectomesênquima. Ao mesmo tempo o potencial indutivo para a odontogénese passa a ser exercido pelo ectomesênquima subjacente ao órgão do esmalte em desenvolvimento. Por este motivo atribui-se ao BMP-4 um importante papel na capacidade indutiva do ectomesênquima para progressão normal da odontogénese (Vainio et al, 1994; Garrant, 2003; Ten Cate, 2003; Berkovitz, 2004; Katchburian e Arana, 2004; Thesleff, 2006).

Fase de Capuz

A transição da fase de botão (observada por volta da nona semana) para a fase de capuz (figura 15) decorre duma intensa mas desigual proliferação celular das células epiteliais, adoptando progressivamente o órgão do esmalte uma forma que se assemelha a um barrete frigido, razão pela qual esta etapa de desenvolvimento do órgão dentário é chamada de fase de capuz. Com efeito, as células presentes na porção mais central da estrutura epitelial (responsáveis mais tarde pela formação do nó do esmalte), apresentam uma menor actividade proliferativa, enquanto que as células localizadas nas porções laterais invaginam, cada vez mais profundamente, no ectomesênquima subjacente (Peters e Balling, 1999; Ferraris e Muñoz, 1999; Katchburian e Arana, 2004).

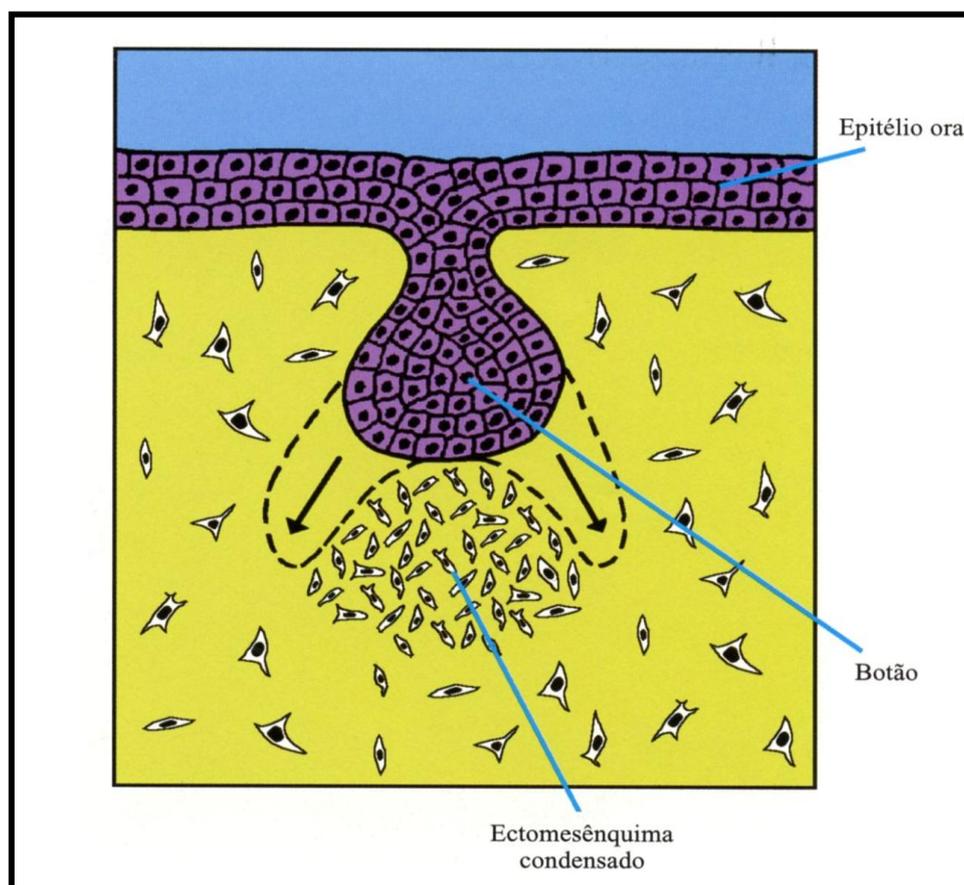


Figura 15: Progressão da fase de gomo ou botão para a fase de capuz. É também assinalada a condensação de células de ectomesênquima subjacente ao órgão do esmalte. Adaptada de Katchburian, 2004.

Na porção mais central da formação epitelial (figura 16) vai-se tornando cada vez mais nítida a presença de uma concavidade ocupada por uma condensação de células do ectomesênquima. Esta concentração celular é bastante maior do que a observada na fase de botão, designando-se no seu conjunto por *papila dentária*, devendo actuar como um factor mecânico, que pode contribuir em grande parte para o desenvolvimento da concavidade evidenciada no órgão do esmalte (Kerr, 2000; Ten Cate, 2001; Katchburian e Arana 2004).

Ainda nesta fase o ectomesênquima que rodeia tanto o órgão do esmalte quanto a papila dentária organiza-se, formando uma "cápsula" em torno do gérmen dentário em desenvolvimento (figura 16), separando-o do restante ectomesênquima do maxilar. Esta condensação periférica é denominada por *saco ou folículo dentário*, sendo responsável pela formação do periodonto de inserção (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar). O desenvolvimento de capilares no folículo dentário, contribui para a nutrição da porção epitelial do órgão do esmalte (Berkovitz, 2004).

Pode pois afirmar-se que na fase de capuz se verifica uma organização do ectomesênquima em duas linhas diferentes: uma condensação central que forma a papila dentária (que vai originar a polpa, as células odontoblásticas e a dentina) e uma camada periférica (que vai originar os tecidos periodontais).



Figura 16: Representação esquemática (à esquerda) e aspecto histológico (à direita) do gérmen dentário em fase de capuz. Órgão do esmalte (1), papila dentária (2) e folículo dentário (3).

Uma vez estabelecida a fase de capuz, é possível distinguir no órgão do esmalte a presença de distintos componentes epiteliais: epitélio interno, epitélio externo e retículo estrelado. O *epitélio interno* constituído por células cúbicas

encontra-se localizado na concavidade do capuz, apenas separado do ectomesênquima adjacente (papila dentária) pela membrana basal. O *epitélio externo* é formado pelas células que se encontram dispostas perifericamente, na convexidade externa, em contacto directo com o folículo dentário (Ten Cate, 1995).

Os elementos celulares da região central do órgão do esmalte (ocupando toda a área situada entre o epitélio interno e o epitélio externo) adquirem um aspecto estrelado (com longos prolongamentos citoplasmáticos) e deste modo uma morfologia em rede, designada no seu todo, por retículo estrelado. As células assumem esta forma reticular por apresentarem entre si amplos espaços preenchidos por uma abundante quantidade de proteoglicanos. Uma vez que estes compostos são altamente hidrofílicos conferem ao retículo estrelado uma consistência almofadada que mais tarde vai proteger o epitélio interno e apoiar a sua diferenciação. (Aranha, 1996; Ferraris e Muñoz, 1999; Ten Cate, 2001). Estes elementos histológicos tornam-se ainda mais evidentes na fase de câmpanula (figura 17 e 18).

No final desta fase começa a observar-se, junto ao epitélio interno, uma concentração de células que irá ser designada por nó do esmalte (primário). Esta estrutura, ainda que temporária, vai ter uma importância crucial no mecanismo de evolução do gérmen dentário para as fases seguintes, bem como na determinação da forma da coroa. Com efeito, o tamanho e forma do dente começam a esboçar-se nesta fase de capuz atingindo uma definição final na fase de campânula, sendo este processo regulado pelo nó do esmalte (Wang, 2004; Nonaka, 2006; Jarvinen, 2008; Suomalainen, 2010).

O nó do esmalte representa um pré requisito necessário ao desenvolvimento dentário, constituindo um centro sinalizador que expressa pelo menos dez tipos diferentes de moléculas de sinalização pertencentes às famílias FGFs, BMPs, Shh, e proteínas Wnt, também presentes, como já foi descrito na fase de iniciação. Numerosas mensagens e sinais provenientes deste centro activam a proliferação e crescimento das áreas epiteliais adjacentes (mas não das células constituintes do nó do esmalte) determinando os locais de pregueamento do epitélio que vão corresponder directamente às futuras cúspides do dente em formação (Wang, 2004; Nonaka, 2006; Jarvinen, 2008; Suomalainen, 2010).

O nó do esmalte pode, pois, ser considerado como uma estrutura que estabelece uma estreita interacção entre o epitélio e o mesênquima, fazendo ao mesmo tempo a ligação entre morfogénese e diferenciação celular do gérmen dentário. Assim, ao mesmo tempo que contribui para a determinação da forma da coroa (morfogénese), funciona como um indutor da diferenciação odontoblástica (histo-diferenciação).

Fase de Campânula

Nesta nova fase, (observada por volta da decima quarta semana) a parte epitelial do germe dentário (órgão de esmalte) apresenta o aspecto de um sino ou câmpanula (figura 17) com uma concavidade mais acentuada e, conseqüentemente, com as suas margens mais aprofundadas. Essa aparência morfológica outorga a denominação de campânula a esta fase (Ten Cate, 2003).

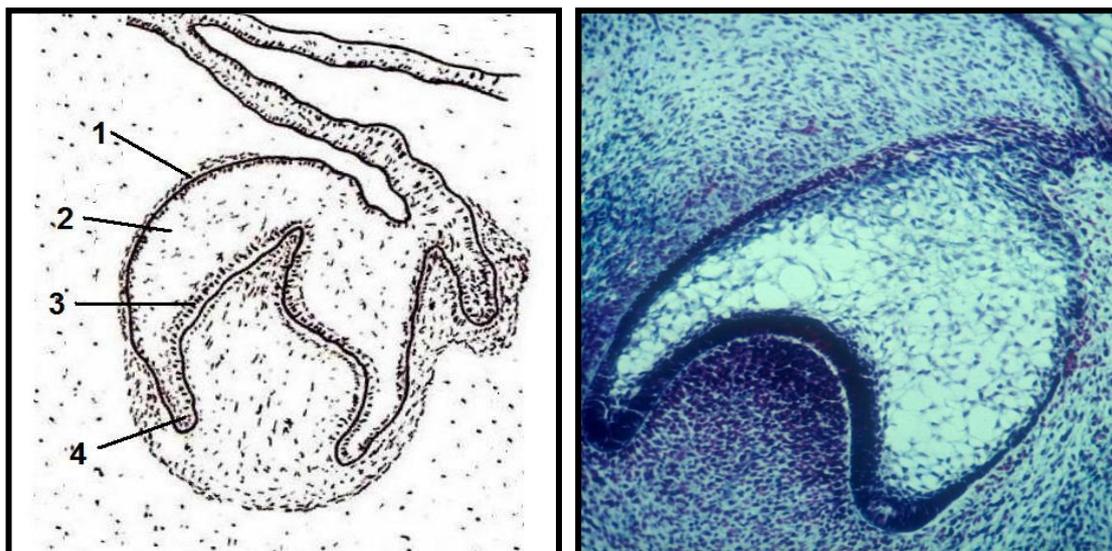


Figura 17: Representação esquemática (à esquerda) e aspecto histológico (à direita) do gérmen dentário em fase de câmpanula. O órgão do esmalte apresenta-se nesta etapa constituído por um epitélio externo (1), retículo estrelado (2), estrato intermediário (3) e epitélio interno (4).

No estágio de câmpanula precoce o órgão do esmalte (figura 18) apresenta quatro camadas distintas: epitélio externo, retículo estrelado, estrato intermediário e epitélio interno (Katchburian e Arana, 2004).

As células do epitélio externo do órgão do esmalte achatam-se e tornam-se pavimentosas.

A região central, que correspondente ao retículo estrelado, continua a crescer em volume. Este fenómeno, já atrás descrito, é provocado pela maior quantidade de água, associada aos proteoglicanos, aí existentes.

As células do epitélio interno crescem, constituindo células cilíndricas baixas com núcleo central.

Nesta fase de câmpanula aparecem, entre o epitélio interno e o retículo estrelado, duas ou três camadas de células pavimentosas que constituem o estrato intermediário, participando também, acredita-se, na formação do esmalte.

Por outro lado na região onde os epitélios externo e interno se encontram acentuam-se as características da ansa cervical (Katchburian, 2004).

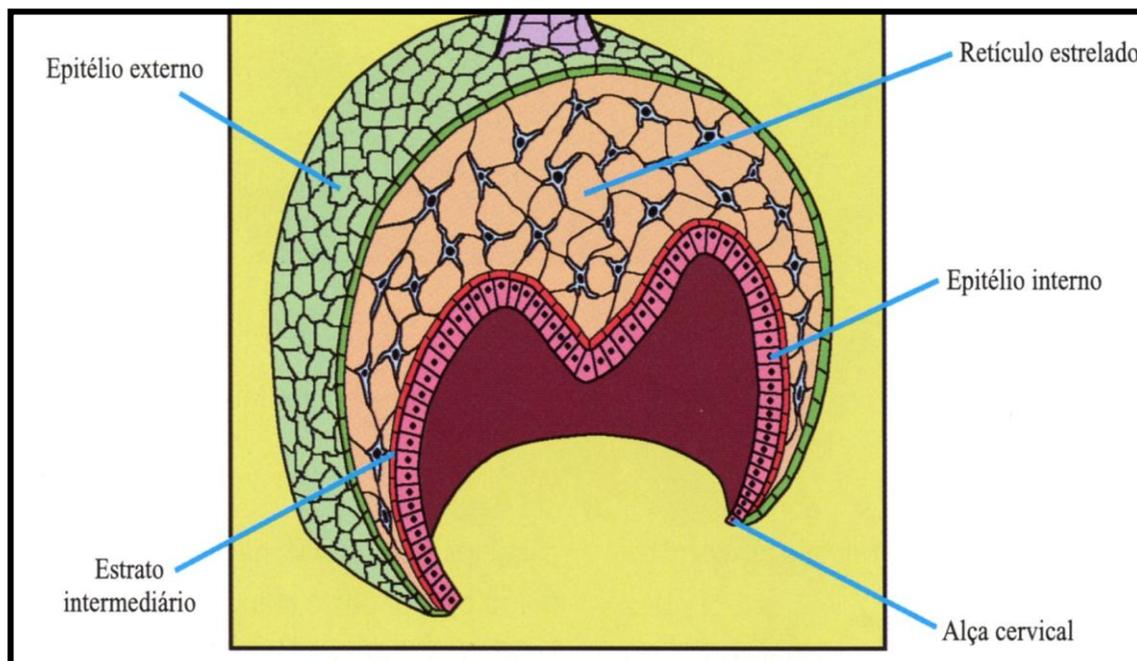


Figura 18: Gérmen dentário de um molar numa fase precoce do estágio de campânula. Adaptada de Katchburian, 2004.

A diferenciação da papila dentária é menos marcante que a do órgão do esmalte. De facto, até ao estágio avançado de coroa a papila dentária apresenta-se constituída em células bastante indiferenciadas.

Durante a fase de câmpanula, a lâmina dentária começa a desintegrar-se, perdendo o órgão de esmalte a sua conexão com o epitélio oral, que lhe deu origem. Ao mesmo tempo, a lâmina dentária que possa ainda existir entre germens dentários sofre também degenerescência. Porém, alguns remanescentes destas formações podem permanecer na mucosa, como aglomerados de células (em processo de queratinização e hialinização) sendo designadas como pérolas epiteliais de Serres. Estas estruturas podem estar envolvidas na etiopatogenia dos quistos (Ten Cate, 2003; Berkovitz, 2004).

Fase de coroa

O estágio avançado de câmpula muitas vezes designado por fase de coroa (começando por volta da décima oitava semana) está associado à formação dos tecidos duros do dente (figura 19, 20 e 21) verificando-se sempre que o aparecimento da dentina precede a formação do esmalte.

Nesta fase, verificam-se ainda alguns fenómenos morfogenéticos que levam à determinação final da forma da coroa do futuro dente. Este aspecto é devido à formação de dobras no epitélio interno do órgão do esmalte (nos locais onde as primeiras células cessam a sua actividade mitótica) e também devido ao facto da ansa cervical permanecer fixa. Toda esta sequência é maioritariamente da responsabilidade do nó do esmalte, já atrás descrito.

Nos dentes posteriores, aparecem num estágio avançado de câmpula nós do esmalte secundários, determinando os locais das pontas das cúspides. Estes nós, como já foi referido, são também locais de menor proliferação celular, de onde são libertados vários factores (com particular relevo para os FGFs e BMPs), que estimulam a proliferação celular nas outras áreas do órgão do esmalte (Ten Cate, 2003; Berkovitz, 2004; Katchburian, 2004).

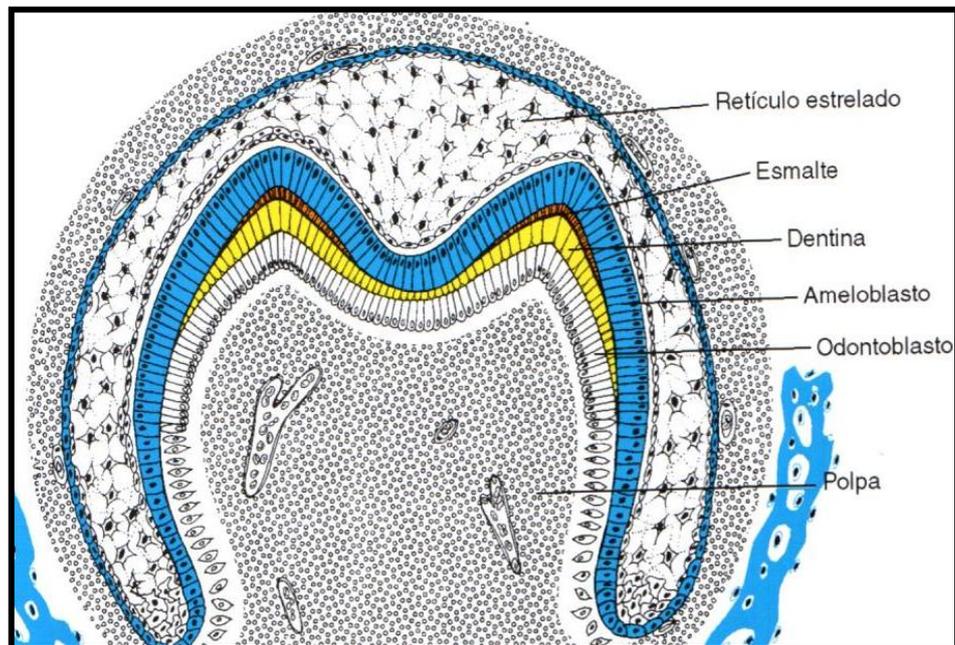


Figura 19: Representação esquemática de um molar em estágio de câmpula avançada. Adaptada de Ferraris e Muñoz, 2002.

Sob a influência indutora destas formações (nós do esmalte primário ou secundário), bem como dos pré-ameloblastos em desenvolvimento, as células mais superficiais do ectomesênquima da papila sofrem alterações que vão conduzir à diferenciação dos odontoblastos. Os odontoblastos iniciam a formação de pré-dentina e posteriormente a sua mineralização. A presença de dentina constitui um elemento necessário à diferenciação final dos ameloblastos. De facto, quando os odontoblastos começam a produzir matriz dentinária, a membrana basal existente entre a papila dentária e os pré-ameloblastos começa a degradar-se e verifica-se a deposição da primeira camada de matriz de esmalte e sua posterior mineralização (Ten Cate, 2003; Berkovitz, 2004; Katchburian, 2004).

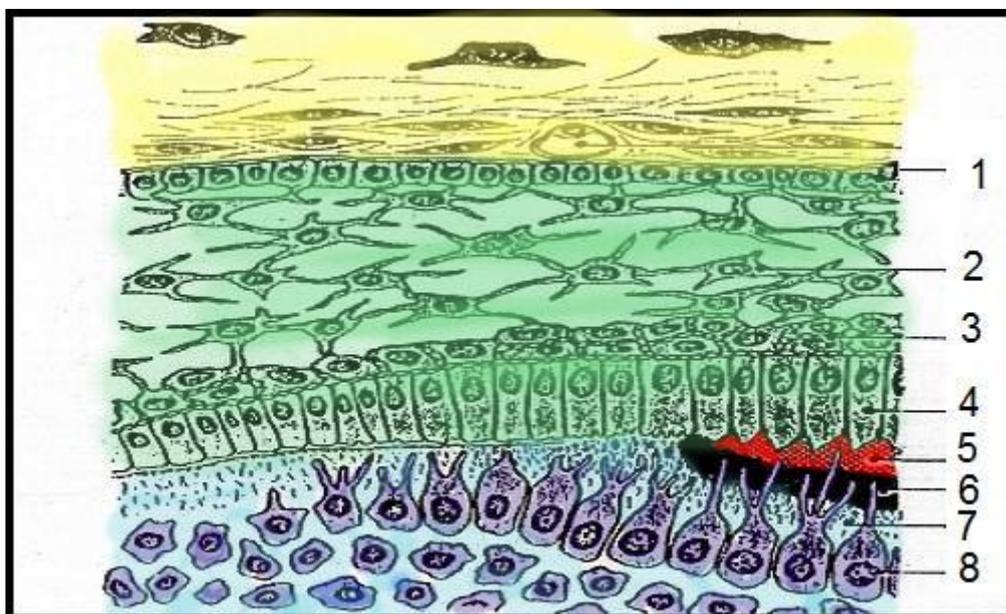


Figura 20: Esquema representativo dos principais componentes do órgão do esmalte e da papila dentária, bem como do processo de diferenciação dos ameloblastos e dos odontoblastos. 1- epitélio externo do esmalte, 2 - retículo estrelado, 3 - estrato intermediário, 4 - ameloblastos em fase secretora, 5 - esmalte, 6 - dentina, 7 - pré-dentina, 8 - odontoblastos. Adaptada de Mjor 1991.

A forma da coroa fica definitivamente estabelecida quando as células do epitélio interno do órgão do esmalte e da papila dentária se diferenciam em ameloblastos e odontoblastos (Mjor 1991).

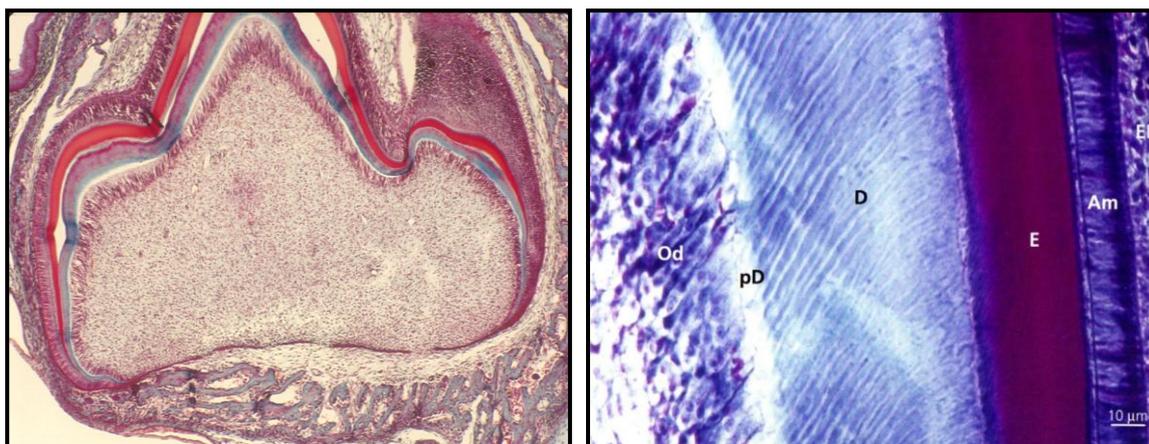


Figura 21: Gérmem dentário de um molar de ratinho numa fase avançada de câpanula (à esquerda) – H.E. 4x. Maior ampliação (20x) de uma região da cúspide em formação, pondo em evidência as características histológicas do estrato intermediário (EI) do órgão de esmalte, os ameloblastos (Am), a matriz do esmalte recém formada (E), a dentina (D), os túbulos dentinários, a pré-dentina (pD) e os odontoblastos (Od). É ainda visível (à esquerda) a bainha epitelial radicular de Hertwig/ diafragma epitelial.

De referir mais uma vez que ainda que o órgão do esmalte e as células do epitélio interno manifestem mais precocemente uma nítida diferenciação celular a dentinogénese (formação da dentina) inicia-se sempre antes da amelogénese (formação do esmalte). Com efeito, os ameloblastos após adquirirem características de células secretoras de proteínas permanecem aparentemente inactivos até os odontoblastos sintetizarem a primeira camada de dentina, primeiro tecido mineralizado a surgir no órgão dentário (Ten Cate, 2003; Berkovitz, 2004; Katchburian, 2004).

O crescimento da dentina ocorre de uma forma centrípeta (em direcção à polpa), enquanto que o esmalte é centrifuga (em direcção ao epitélio oral).

Fase de Raiz

Uma vez completa a forma da coroa inicia-se a formação e desenvolvimento da raiz. Os tecidos que compõem o periodonto de inserção são também formados nesta fase, acompanhando de perto o crescimento da raiz do dente.

O órgão do esmalte desempenha um papel fundamental no desenvolvimento da raiz, através da bainha radicular epitelial de Hertwig, que vai induzir a formação da dentina radicular e moldar a forma das raízes. Esta formação resulta da ansa cervical.

A bainha radicular epitelial de Hertwig é constituída apenas pelos epitélios externo e interno do esmalte, sem a interposição do estrato intermediário e do retículo estrelado. A presença desta bainha vai induzir a diferenciação das células odontoblásticas e a síntese e mineralização da dentina da raiz. Assim que a primeira camada de dentina for depositada, a bainha epitelial começa a desintegrar-se perdendo a sua íntima relação com a superfície do dente. Os restos epiteliais de Malassez originam-se da fragmentação da bainha epitelial de Hertwig.

A desintegração da bainha epitelial radicular de Hertwig permite o contacto do folículo dentário com a dentina radicular em formação. Após contactar com a dentina, as células do ectomesênquima constituintes do folículo dentário diferenciam-se em cementoblastos, células responsáveis pela formação da matriz do cimento. Por sua vez as células mais periféricas do folículo dão origem a osteoblastos, formando o osso alveolar propriamente dito, enquanto as da região central se diferenciam em fibroblastos, responsáveis pelos diferentes feixes de fibras de colagénio do ligamento periodontal.

Uma vez que todas estas estruturas (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar) se formam ao mesmo tempo, as fibras de colagénio do ligamento periodontal ficam inseridas tanto no cimento como no tecido ósseo denominando-se neste caso por fibras de Sharpey. As células que constituem o ligamento periodontal juntamente com o osso alveolar são responsáveis pela grande actividade que caracteriza estes tecidos.

O cimento, o ligamento periodontal e o osso alveolar, estruturas todas derivadas do saco ou folículo dentário são, no seu conjunto, responsáveis pela ancoragem do dente aos alvéolos dentários, evoluindo de maneira integrada e coordenada com a formação da raiz do dente (Ten Cate, 2003; Berkovitz, 2004; Katchburian, 2004).

Conclusões finais

Pode sintetizar-se o processo de odontogénese como uma sequência de eventos que se iniciam histologicamente pela formação da banda epitelial primária e da lâmina dentária. Este processo é desencadeado por uma troca de "mensagens" moleculares que passam entre o epitélio e o ectomesênquima e que vão determinar mudanças crescentes de complexidade nos componentes de cada uma destas camadas celulares.

A activação de certos genes homeóticos, associada a determinadas vias de sinalização tem um papel crítico e fundamental no aparecimento e especificação posicional (correcta localização, identidade, tamanho e forma) dos dentes, nas respectivas arcadas.

O desenvolvimento da lâmina dentária dá origem a estruturas globulares individuais que fazem protusão para o mesênquima. Por sua vez, as células mesênquimatosas começam a proliferar e condensar-se em redor desta formação epitelial.

Posteriormente, este gomo epitelial cresce e dobra-se, adquirindo progressivamente uma forma de capuz ou barrete frígido, envolvendo o mesênquima subjacente, que nesta fase se designa por papila dentária.

É também na fase de capuz que um conjunto de células começa a fazer-se notar na extremidade do órgão do esmalte, constituindo o nó do esmalte (um centro de sinalização transitório situado imediatamente sobre a papila dentária). Este centro representa um pré-requisito indispensável para a determinação da forma da coroa (morfogénese) e para a diferenciação odontoblástica. Pouco tempo depois da fase de capuz, o nó do esmalte (primário) degenera por apoptose.

O mesênquima que reveste o conjunto do gérmen dentário forma o folículo dentário.

Durante a etapa subsequente, fase de campânula o gérmen dentário sofre um processo de morfo e histodiferenciação.

Os nós do esmalte (secundários) começam, nesta altura, a evidenciar-se nos locais das futuras cúspides dos dentes molares, determinando as dobras do epitélio dentário e, deste modo, a forma da coroa destes dentes. Entretanto, a diferenciação dos odontoblastos e posteriormente dos ameloblastos bem como o aparecimento da dentina e do esmalte começa a ser evidente nas extremidades das cúspides.

Uma vez completa a formação da coroa dentária inicia-se o desenvolvimento da raiz, constituindo a bainha epitelial de Hertwig uma estrutura fundamental neste processo. As células do folículo dentário dão origem aos cementoblastos que

revestem a dentina radicular. Paralelamente começam também a diferenciar-se os fibroblastos do ligamento periodontal e os osteoblastos do osso alveolar.

Em jeito de conclusão, as figuras 22 e 23, pretendem ilustrar e fazer uma pequena sinopse dos principais aspectos morfofuncionais e moleculares da odontogênese.

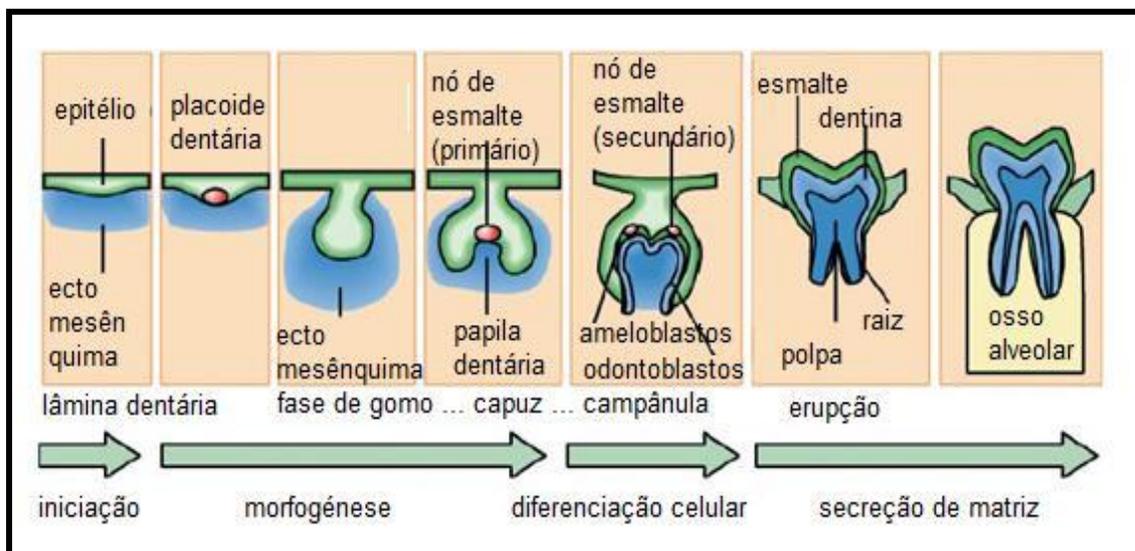


Figura 22: Representação esquemática da evolução sequencial (em termos morfológicos) do processo de odontogênese. Adaptada de Jarvinen, 2008.

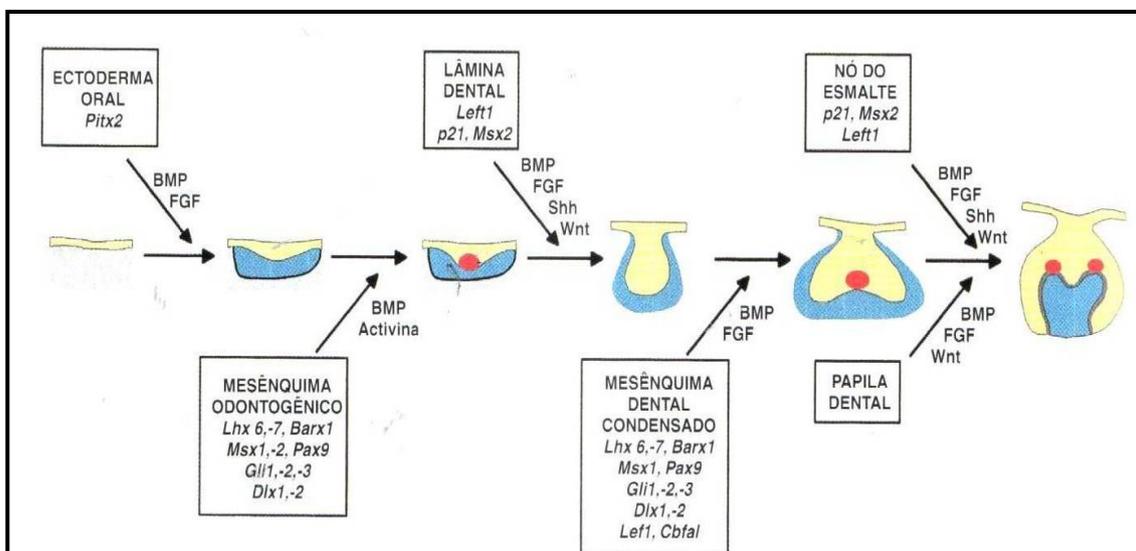


Figura 23: Diagrama que sintetiza e localiza a sequência cronológica da ativação de alguns genes *homeobox* e factores de crescimento responsáveis pelas interações epitélio-mesênquima que ocorrem durante os vários estádios de desenvolvimento do órgão dentário. Adaptada de Berkovitz, 2004.

Parte C - Bibliografia

Adams, AE. An experimental study of the development of the mouth in the amphibian embryo. *J. Exp. Zoot.* 1924; 40: 311-379.

Akitaya, T. & Bronner-Fraser, M. Expression of cell adhesion molecules during initiation and cessation of neural crest cell migration. *Dev. Dyn.* 1992; 194: 12-20.

Alappat S., Zhang Z.Y. and. Chen Y.P, Msx homeobox gene family and craniofacial development. *Cell Res* 13 2003: 429-442.

Allard, B., Magloire, H., Couble, M. L., Maurin, J. C., Bleicher, F. Voltage-gate sodium channels confer excitability to human odontoblasts: possible role in tooth pain transmission. *J. Biol. Chem.* 2006; 281: 29002-29010.

Aranha, F.L. Bioquímica odontológica. São Paulo: Sarvier, 1996. 102p.

Basch, M. L., Bronner-Fraser, M., Garcia-Castro, M. I. Specification of the neural crest occurs during gastrulation and require *Pax7*. *Nature* 2006; 441: 218-222.

Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. Desenvolvimento Inicial do dente. In: Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. *Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal*. Artmed, Terceira edição 2004; 290-303.

Bialek P, Kern B, Yang X, Schrock M, Sosic D, Hong N, Wu H, Yu K, Ornitz DM, Olson EN, Justice MJ, Karsenty G. A twist code determines the onset of osteoblast differentiation. *Dev Cell.* 2004 Mar;6(3):317-8

Bronner-Fraser, M. Analysis of the early stages of trunk neural crest migration in avian embryos using monoclonal antibody HNK-1. *Dev. Biol.* 1986; 115: 44-55.

Bronner-Fraser, M & Fraser, S. E. Cell lineage analyses reveals multipotency of some avian neural crest cells. *Nature* 1988; 335: 161-164.

Chai, Y. & Maxson, R. E. Recent advances in craniofacial morphogenesis. *Dev. Dyn.* 2006; 235: 2353-2375.

Cobourne MT. The genetic control of early odontogenesis. *Br J Orthodontics* 1999; 26:21-8.

Cobourne MT, Sharpe PT. Tooth and jaw: molecular mechanisms of patterning in the first branchial arch. *Arch Oral Biol* 2003; Jan 48(1):1-14

Crossley, P. H., Minowada, G., Macarthur, C. A., Martin. Roles for FGF8 in the induction, initiation, and maintenance of chick limb development. *Cell* 84: 1996; 127-136.

Ferguson CA, Tucker AS, Sharpe PT. Temporospatial cell interactions regulating mandibular and maxillary arch patterning. *Development* 2000; 127:403-412

Ferraris, M. E. G.; Muñoz, A. C. Histología y embriología bucodental. Espanha: Editorial Médica Panamericana, 1999. 387p.

Ferraris ME, Muñoz A. Embriología Dentária (Odontogénese). In: Ferraris ME, Muñoz A. *Histología y Embriología Bucodental*. Editorial Medica Panamericana, Segunda Edición 2002: 83-109.

Fonseca JAC, Caracterização fenotípica de famílias com hipodontia no Hospital Universitário de Brasília, Brasília-DF. *Tese de Mestrado* 2008; ed Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Gans, C. & Northcutt, R. G. Neural crest and the origins of the vertebrates: a new head. *Science* 1983; 220: 268-274.

Garcez R. Influencia dos fatores de transcrição Hoxa2 e Six2 no desenvolvimento crânio facial e dos fatores de crescimento EGF e FGF2 na diferenciação dos derivados truncais da crista neural. *Tese de Mestrado* 2009; ed Centro de Ciências Biológicas Universidade Federal de Santa Catarina

Garrant PR. Early Tooth Development. In: Garrant PR. *Oral Cells and Tissues*. Quintessence Publishing Co, Inc 2003; 1-23

Grigoriou M, Tucker AS, Sharpe PT, Pachnis V. Expression and regulation of Lhx6 and Lhx7, a novel subfamily of LIM homeodomain encoding genes, suggests a role in mammalian head development. *Development* 1998; 125:2063-2074.

Helms, J. A. New insights into craniofacial morphogenesis. *Development* 2005; 132: 851-861.

Hunt, P., Gulisano, M., Cook, M., Sham, M. H., Faiela, A., Wilkinson, D., Boncinelli, E., Krumlauf, R. A distinct *Hox* code for the branchial region of the vertebrate head. *Nature* 1991; 353: 861-864.

Järvinen E. Mechanisms and Molecular Regulation of Mammalian Tooth Replacement. *Dissertação Acadêmica* 2008. Ed. Faculty of Biosciences, University of Helsinki

Jernvall J, Thesleff I. Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mech. 2000; Dev. 92*, 19-29.

Kalchauer, C. Basic fibroblast growth factor stimulates survival of nonneuronal cells developing from trunk neural crest. *Dev. Biol. 1989; 134*: 1-10.

Katchburian, E.; Arana, V. Histologia e embriologia oral – texto, atlas, correlações clínicas. São Paulo: Medicina Panamericana do Brasil, 1999.

Katchburian E, Arana V. Odontogênese. In: Katchburian E, Arana V, editors. *Histologia e Embriologia Oral, Texto-Atlas-Correlações clínicas*. Segunda edição ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan SA. 2004; 149-178

Kerr, J. B. Atlas de histologia funcional. São Paulo: Artes Médicas, 2000. 402p.

Kollar EJ, Baird G.R. Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs. I. Reorganization of the dental epithelium during tooth-germ reconstruction. *J. Embryol. Exp. Morphol* 1970; 24: 159-171.

Kollar EJ. Histogenetic aspects of dermal-epidermal interactions. In *Developmental Aspects of Oral Biology* (Eds. H.C, Slavkin and L.A. Bavelta). *Academic Press, London* 1972; 125-149.

Kubota, Y. and K. Ito. Chemotactic migration of mesencephalic neural crest cells in the mouse. *Dev. Dyn. 2000; 217*: 170-179.

Lofberg, J., Nynas McCoy, A., Olsson, C., Jonsson, L., Perris, R. Stimulation of initial neural crest cells migration in the axolotl embryo by tissues graft and extracellular matrix transplanted on microcarriers. *Dev. Biol. 1985; 107*: 442-459.

Lumsden AGS. Paltern formation in the molar dentition of the mouse. *J.Biol. Buccale* 1979; 7: 77-103

Magloire, H., Couble, M-L., Romeas, A., Bleicher, F. Odontoblast primary cilia: facts and hypotheses. *Cell Biol. Int. 2004; 28*: 93-99.

Mallat, J. The origin of the vertebrate jaw: Neoclassical ideas versus newer, development-based ideas. *Zoolg. Sci. 2008; 25*: 990-998.

McCollum MA, Sharpe PT. Developmental genetics and early hominid craniodental evolution. *BioEssays*. 2001; 23:481-93

Mjor IA, Fejerskov O. Odontogênese In: Mjor IA, Fejerskov O. *Embriologia e histologia oral humana*. Ed. Panamericana, São Paulo 1991: 31-49.

Murphy, M., K. Reid, M. Ford, J. B. Furness And P. F. Bartlett. FGF2 regulates proliferation of neural crest cells, with subsequent neuronal differentiation regulated by LIF or related factors. *Development* 1994; 120: 3519-3528.

Nonaka C, Expressão imuno-histoquímica de colagenase-1 e gelatinases A e B em mixomas odontogênicos e papilas de germes dentários. *Tese de Mestrado* 2006; ed Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Osborn JW. Morphogenetic gradients: fields versus clones. In *Development, Function and Evolution of Teeth* (Eds. P.M. Buller and K.A. Joysey). Academic Press 1978, London, pp. 171-201.

Peters, H.; Balling, R. Teeth – where and how to make them. *Trends Gen*, v.15, n.2, p.59-65, 1999.

Raven CP. Zur entwicklung der ganglienleiste. I. Die kinematik der ganglienleistenentwicklung bei den urodelen. *W. Raux Arch. Entw.Mech. Org.* 1931;125:210-292.

Schmitt R, Ruch JV. In vitro synchronization of embryonic mouse incisor preodontoblasts and preameloblasts: repercussions on terminal differentiation. *Eur J Oral Sci* 2000; 108: 311-319.

Seifi M, Kazemi B, Golkar P. The role of MSX1 in tooth agenesis in Iranians. *Int J Paediatr Dent*. 2007 Jul; 17(4):254-8.

Shah, N. M., A. K. Groves And D. J. Anderson. Alternative neural crest cell fates are instructively promoted by TGFbeta superfamily members. *Cell* 1996; 85: 331-343.

Silva ER, Alves JB. A Genética da Odontogênese. *Bioscience Journal* 2008, Vol. 24, No 2

Slavkin HC, Diekwisch T. Evolution in tooth developmental biology: of morphology and molecules. *Anat Rec Ju* 1996; 245(2):131-50

Stone LS. Further experiments on the extirpation and transplantation of mesectoderm in *Ambystoma punctatum*. *J. Exp. Zool.* 1926 44: 95-131.

Suomalainen, M. Fine-tuning of the signalling network controlling morphogenesis and stem cell development in teeth. *Tese de Doutorado* 2010. Ed. Faculty of Biosciences, University of Helsinki

Suzuki, T., Sakai, D., Osumi, N., Wada, H., Wakamatsu, Y. Sox genes regulate type 2 collagen expression in avian neural crest cells. *Dev. Growth Differ.* 2006; 48: 477-486.

Ten Cate, AR. The experimental investigation of odontogenesis. *Int. J. Dev* 1995; 39: 5-11

Ten Cate AR, Sharpe P, Roy S, Nanci A. Development of the Tooth and its Supporting Tissues. In: Nanci A. Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function. Mosby; 6 edition 2003; 79-110.

Thesleff I, Vaahtokari A, Vainio S and Jowett A. Molecular mechanisms of cell and tissue interactions during early tooth development. *Anat. Rec.* 1996; 245:151-161

Thesleff I, Keranen S, Jernvall J. Enamel knots as signaling centers linking tooth morphogenesis and odontoblast differentiation. *Adv Dent Res* 2001; 15:14-18

Thesleff I. The genetic basis of tooth development and dental defects. *Am J Med Genet A* 2006; Dec 1;140(23):2530-5.

Thesleff I, Tummers M. Tooth organogenesis and regeneration. *StemBook* 2009, ed. The Stem Cell Research Community, StemBook

Tucker AS, Sharpe PT. Molecular genetics of tooth morphogenesis and patterning: the right shape in the right place. *J Dent Res* 1999; Apr; 78(4):826-34.

Vainio S, Karavanova I, Jowett A, Thesleff I. Identification of BMP-4 as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissues during early tooth development. *Cell* 1994; 75: 45-58.

Vastardis H, Karimbux N, Guthua S, Seidman JG, Seidman CE. A human *MSX1* homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet* 1996; 13(4):417-21

Vastardis H. The genetics of human tooth agenesis: new discoveries for understanding dental anomalies. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2000; 117:(6): 650-5

Vieira AR, Meira R, Modesto A, Murray JC. *MSX1*, *PAX9* and *TGFA* contribute to tooth agenesis in humans. *J Dent Res* 2004 Sep; 83 (9):723-7

Wang X. Molecular Mechanisms Underlying Tooth Morphogenesis and Cell Differentiation. *Dissertação Académica* 2004. Ed. Faculty of Biosciences, University of Helsinki

Yoshikawa OK, Kollar EJ. Recombination experiments on the odontogenic roles of mouse dental papilla and dental sac tissues in ocular grafts *Arch. Oral Bioi.* 1981; 26: 303-307.