

Ameloblastos

*Raquel Fernanda Gerlach
Sérgio Roberto Peres Line*

Os ameloblastos são células que produzem o esmalte dentário. Há diferenças importantes quando o esmalte é comparado aos demais tecidos mineralizados (osso, dentina e cimento). Uma diferença é sua origem: o esmalte é formado por células originárias do epitélio bucal primitivo e cujo ciclo de vida está intimamente relacionado ao esmalte. Uma vez diferenciados, os ameloblastos depositam a matriz orgânica do esmalte, participam da sua mineralização e protegem o esmalte até a erupção do dente. Eles exibem várias alterações morfológicas coincidentes com as diferentes funções que exercem na formação do esmalte. Ao final da amelogênese, há a involução funcional e diminuição do número de células. Quando o dente é visível na boca, o esmalte já está completamente formado e não existem mais ameloblastos. Outra diferença entre o esmalte e os demais tecidos mineralizados é que o esmalte perde a matriz orgânica durante sua formação, enquanto nos demais tecidos mineralizados grande parte da matriz orgânica permanece, mesmo após a mineralização.

Neste capítulo serão discutidos origem, aspectos morfológicos e aspectos funcionais dos ameloblastos. Faremos algumas considerações sobre as alterações físico-químicas que ocorrem no esmalte durante a mineralização e qual sua possível relação com as alterações morfológicas observadas nos ameloblastos durante esse período. Ao final, faremos um resumo das principais alterações patológicas que envolvem os ameloblastos.

• Ameloblastos: qual sua função?

A função primária dos ameloblastos é a formação do esmalte dentário, um processo também chamado amelogênese. Como se notará adiante, ameloblastos e mais três outros tipos celulares, de origem epitelial, formam o órgão dentário, resultado de processos de proliferação e diferenciação celular que precedem o início da deposição de matriz do esmalte. Essas outras células epiteliais auxiliam na formação do esmalte.

• Esmalte dentário – generalidades

O esmalte dentário é o tecido mais externo da coroa dos dentes. Olhando o interior da boca em um espelho, o esmalte é imediatamente reconhecido como a porção vítrea que recobre os dentes. Esse é o tecido mais mineralizado dos mamíferos, sendo constituído em mais de 95% por mineral. A maior parte do mineral é formada por cristais de hidroxiapatita, uma apatita de alta densidade. Os cristais do esmalte são os mais longos entre os já estudados, medindo $3 \times 4 \times 200$ nm em dentes humanos. Os cristais são organizados em feixes conhecidos como prismas de esmalte.

Os prismas ou bastões de esmalte são facilmente reconhecidos em um corte preparado por desgaste (Figura 8.1A). Constituem estruturas lineares que começam na dentina e seguem até a superfície do esmalte (dente humano). Os prismas são formados devido à variação na orientação dos cristais de hidroxiapatita. A diferença de orientação dos cristais entre dois prismas vizinhos faz que o limite entre estes seja visível. Os prismas, muitas vezes, não são retilíneos, mas sinuosos, formando uma trama intrincada (vamos chamar essa trama de arquitetura). Cada prisma é o produto da atividade de um ameloblasto. Portanto, ao se observar a arquitetura de prismas, na verdade se está observando a trajetória feita pelos ameloblastos que formaram aqueles prismas.

Forma, tamanho, orientação espacial e arquitetura dos prismas são extremamente diversos nas diferentes regiões de um dente, nos diferentes dentes de um mesmo indivíduo e, sobretudo, em dentes de diferentes espécies.

Acredita-se que a estrutura prismática foi uma aquisição importante para o desenvolvimento da mastigação nos mamíferos que apareceram há aproximadamente 250 milhões de anos. Os dentes dos répteis, dos quais os mamíferos se originaram, são pouco exigidos. Os répteis trocam a dentição muitas vezes durante sua vida (polifiodontes) e não mastigam, usam os dentes apenas para aprisionar e engolir os alimentos.



Figura 8.1A Dente humano preparado por desgaste. Pode ser observada a junção amelodentária (JAD) no canto superior esquerdo. No restante da imagem aparece o esmalte. A seta azul indica os prismas em corte longitudinal, enquanto a seta branca indica prismas em corte transversal. A sucessão de grupos de prismas cortados longitudinalmente e outros cortados transversalmente gera a imagem de bandas claras e escuras (Bandas de Hunter-Schreger). A seta preta indica linha incremental muito acentuada, compatível com a linha neonatal.

Já os dentes dos mamíferos são muito exigidos, pois estes animais possuem um estilo de vida bastante ativo. O processamento dos nutrientes pela mastigação é uma etapa importante para seu aproveitamento eficiente. Os mamíferos precisam alimentar-se com frequência e maximizar o aproveitamento da energia e dos nutrientes contidos nos alimentos. Como consequência, os dentes são frequentemente submetidos a forças de impacto e abrasão pelo contato oclusal entre os dentes opostos durante a mastigação. Além disso, os dentes dos mamíferos são usados durante longos períodos, pois estes possuem somente uma (monofiodontes) ou duas (difiodontes) dentições para serem usadas durante toda a vida (os humanos possuem duas dentições enquanto os roedores têm apenas uma). O desenvolvimento da mastigação só foi possível graças a adaptações evolutivas na estrutura do esmalte. A variação da ori-



Figura 8.1B Detalhe das bandas de Hunter-Schreger em maior aumento. Notar que grupos de prismas apresentam direções muito distintas, o que decorre da trajetória distinta dos ameloblastos que os formaram.

entação dos cristais de hidroxiapatita ajuda a distribuir as forças mastigatórias que incidem sobre o esmalte (Figura 8.1), melhorando as propriedades físicas desta estrutura. Nos mamíferos primitivos, os prismas eram paralelos entre si e seguiam retos da junção amelodental até a superfície do esmalte. Na maioria dos mamíferos modernos, o esmalte possui uma estrutura mais complexa, onde os prismas seguem um trajeto tortuoso. Além disto, grupos de prismas seguem direções distintas, formando as bandas de Hunter-Schreger (Figura 8.1B). Estas bandas, evolutivamente, apareceram pela primeira vez há aproximadamente 60 milhões de anos, num período que coincide com a diversificação das espécies de mamíferos. Até este período, os mamíferos eram seres pequenos que se alimentavam de insetos e viviam à "sombra" dos grandes dinossauros, que dominavam o nosso planeta (Figura 8.1C). A extinção dos dinossauros, há 65 milhões de anos, permitiu aos mamíferos ocupar os territórios deixados pelos antigos donos do planeta. Novas espécies surgiram, animais maiores e com novos tipos de dietas apareceram em um período relativamente curto. O aumento do tamanho causou um consequente aumento na força mastigatória (animal maior morde mais forte). Associado a este fator, dietas baseadas em fibras vegetais nos animais herbívoros ou a necessidade de triturar ossos nos animais carnívoros aumentaram o esforço sobre o esmalte dental, aumentando a possibilidade de fratura neste tecido. Acredita-se que as bandas de Hunter-Schreger surgiram nesta época, como uma adaptação para melhorar ainda mais as propriedades físicas do esmalte. As fraturas que normalmente ocorrem no esmalte dental são detidas quando chegam a regiões onde os grupos de prismas se cruzam (Figuras 8.1A e 8.1B).

Entre as características peculiares do esmalte está a enorme dureza. O esmalte é mais duro (resistente à pressão) do que o ferro, porém muito friável (quebradiço), pela grande

crystalinidade de sua estrutura mineral. A intrincada arquitetura dos prismas parece ser um recurso biológico, selecionado ao longo do processo evolutivo, para conferir mais coesão e resistência ao tecido.

Além da curiosidade estrutural, o interesse em estudar esmalte muitas vezes decorre do enigma que cerca um tecido tão mineralizado e suas células formadoras: quais seriam as características funcionais dos ameloblastos capazes de induzir tamanha mineralização? Respostas a questões como esta auxiliariam na compreensão do transporte de cálcio em vários outros tipos de células epiteliais, além de tornar menos distante o sonho de produzir bioapatitas sob medida.

Como última observação sobre o esmalte, vale lembrar que roedores têm incisivos de crescimento contínuo, sendo por essa razão os animais mais usados para estudo de esmalte e ameloblastos. No incisivo do rato, pode-se encontrar esmalte (e células formadoras do esmalte) em todas as diferentes fases de desenvolvimento do dente. Já em dentes de humanos (e na maioria dos demais mamíferos), o esmalte é formado bem antes do dente aparecer na boca. Por exemplo, a formação de incisivos centrais permanentes em humanos inicia-se ainda durante a vida intra-uterina e esses dentes irrompem apenas entre seis e sete anos de idade.

• Origem embrionária e aspectos de diferenciação dos ameloblastos

Em um embrião, a região em que se formarão os dentes é composta pelo epitélio bucal de revestimento da cavidade bucal primitiva e um tecido subjacente, o ectomesênquima (originário da migração de células da crista neural). O epitélio bucal origina as células epiteliais do germe dentário, entre elas os ameloblastos. O ectomesênquima origina as células que formarão os demais tecidos dentais e periodontais.

O germe dentário é a unidade funcional formadora de um dente. A formação do germe dentário começa pela proliferação localizada de células do epitélio bucal, que penetram no ectomesênquima. Essa estrutura epitelial é o botão epitelial ou lâmina dentária (Figura 8.2A). Pontos específicos da lâmina dentária correspondentes aos futuros germes dentários brotam em direção ao ectomesênquima. A presença desses brotos epiteliais caracteriza o *estágio de broto* (Figura 8.2B). Nesse estágio, as células epiteliais e do ectomesênquima apresentam pouca alteração de forma ou função e estão espacialmente muito próximas.

A partir daí, as células epiteliais exibem grande atividade proliferativa e formam uma estrutura semelhante a um capuz, razão por que esse estágio é conhecido como *estágio de capuz* (Figura 8.2C). As células epiteliais (do capuz) formam o que se conhece como órgão dentário. As células sob o capuz, facilmente identificadas por sua grande agregação, formam a papila dentária, responsável pela formação da dentina e da polpa. Finalmente, circundando o capuz e a papila sob o capuz, encontra-se o folículo dentário, estrutura que origina os tecidos periodontais. Portanto, na fase de capuz, pela primeira vez, se identificam distintamente os três elementos

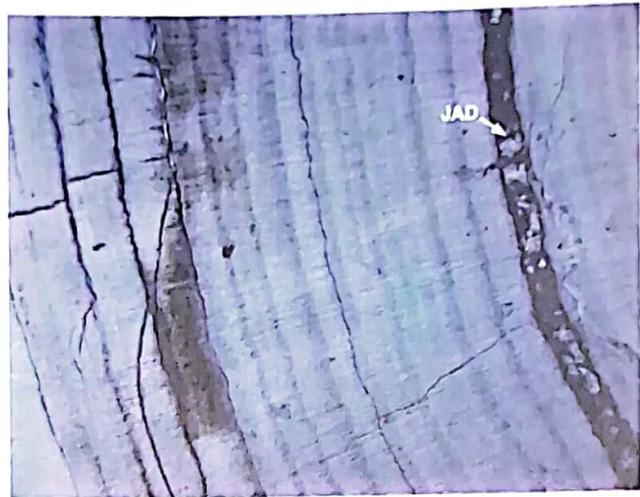


Figura 8.1C A imagem mostra um dente de dinossauro (*Titanosaurus piropo*) cortado transversalmente, em que pode ser vista a junção amelodentinária (JAD) à direita (banda escura e larga, onde o esmalte está separado da dentina). À esquerda da JAD está o esmalte, que apresenta duas características peculiares quando comparado com o esmalte de mamíferos modernos: não apresenta prismas e possui linhas incrementais mais pronunciadas. Esta última característica sugere que este dinossauro tenha sido animal exotérmico (com temperatura do corpo variável), uma vez que alterações maiores do metabolismo estão associadas a linhas incrementais mais acentuadas.

formadores dos tecidos dentais e periodontais: órgão dentário, papila dentária e folículo dentário.

O estágio seguinte é conhecido como *estágio de sino*, sendo assim chamado porque o órgão dentário passa a ter aparência de sino (Figura 8.2D e 8.2E). Isso ocorre pela constante proliferação nas bordas inferiores do órgão dentário (extremidade cervical). Progressivamente, o órgão dentário vai englobando um volume cada vez maior da papila subjacente.

Nessa fase, as células do órgão dentário se diferenciam em células com formas e atividades bem distintas, o que é conhecido como *histodiferenciação*. As células do epitélio interno do órgão dentário tornam-se células colunares baixas que acumulam grande quantidade de glicogênio, sendo também chamadas de *células do epitélio interno do órgão dentário*. As células epiteliais junto a elas se caracterizam por grande atividade de fosfatase alcalina e constituem o *estrato intermediário do órgão dentário*. Além deste, as células epiteliais passam a secretar grande quantidade de proteoglicanos na matriz, mas mantêm seus contatos intercelulares por desmossomos, do que resulta a aparência de uma rede de estrelas, o *retículo estrelado do órgão do esmalte*. Finalmente, na "superfície do sino", as células epiteliais são células cubóides e constituem o epitélio externo do órgão dentário (Figuras 8.2 e 8.3). O órgão dentário continua envolvido pela lâmina basal. Modificações no contorno do epitélio interno do órgão dentário estabelecem a forma básica da coroa do futuro dente, processo conhecido como *morfodiferenciação*. Essa forma decorre do limite estabelecido entre as células do epitélio interno do órgão dentário e as células da papila. Neste limite ficará localizada a junção amelodentinária (JAD). Portanto, a JAD já está estabelecida mesmo antes do início da secreção de matriz de esmalte e dentina.

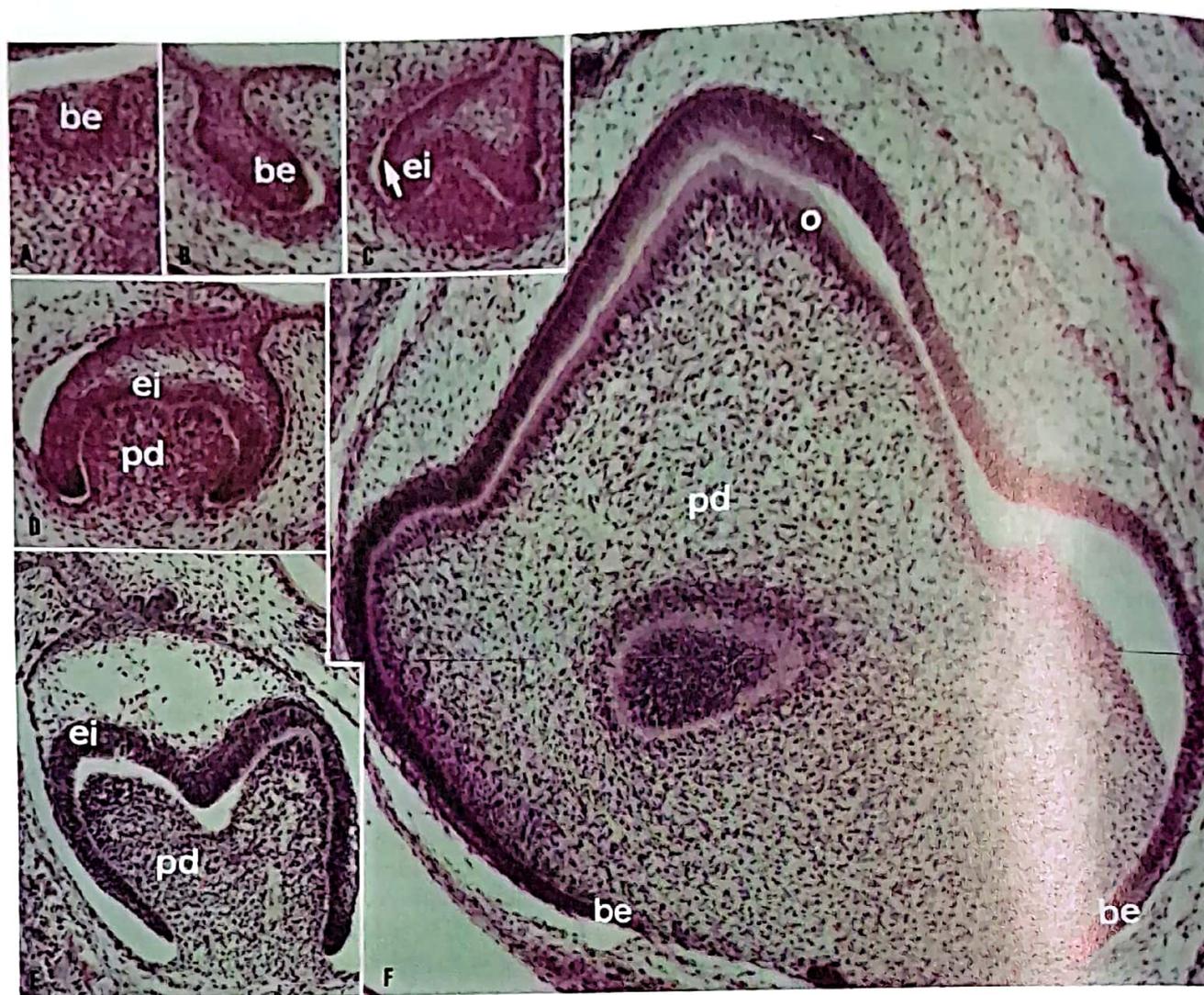


Figura 8.2 Etapas da odontogênese. **A e B.** Notar a proliferação progressiva do botão epitelial (**be**) e aumento da densidade de células mesenquimais ao redor desta estrutura. **C.** Fase de capuz. **D e E.** Notar a proliferação do epitélio nas bordas que circundam as células ecto-

mesenquimais delimitando a papila dental (**pd**). **F.** Sob a influência das células do epitélio interno (**ei**) as células periféricas da papila dental se diferenciam em odontoblastos (**o**). A diferenciação dos odontoblastos na região da raiz dental é feita pela bainha epitelial (**be**).

Depois que param de proliferar, as células do epitélio interno adquirem características de pré-ameloblastos nos pontos onde serão as futuras cúspides (pontos mais altos da coroa de um dente). Também nesses pontos as células da papila se diferenciam em odontoblastos e começam a secretar a matriz da dentina. A presença da matriz dentinária é o estímulo necessário para a diferenciação final dos ameloblastos.

A partir daí, a matriz do esmalte começa a ser depositada sobre a matriz de dentina já existente (Figura 8.2). Partindo da JAD, odontoblastos e ameloblastos se afastam em direções opostas, cada qual deixando atrás de si sua matriz, até se completar a deposição de toda a espessura de dentina e esmalte, respectivamente (Figura 8.3 e 8.5).

• Amelogênese: fases

Os eventos mais marcantes da amelogênese são a secreção da matriz orgânica rica em proteínas e água pelos ameloblastos (fase secretória) e a subsequente mineralização

desta matriz com remoção quase completa das proteínas e da água (fase de maturação).

Do ponto de vista de alterações morfológicas e de função, a amelogênese pode ser dividida em 5 estágios: o pré-secretório, o secretório, o estágio de transição, o estágio de maturação e o estágio de epitélio reduzido (ver diagrama representando esses estágios na Figura 8.3). Para facilitar a compreensão de alguns termos do texto, observar a Figura 8.4.

1 – O estágio pré-secretório: é aquele que antecede a deposição de matriz do esmalte. Nesse estágio ocorrem os eventos de diferenciação de pré-ameloblastos e pré-odontoblastos. Na fase de capuz, os pré-ameloblastos são células alongadas (15 a 20 μm) que possuem pequena quantidade de retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi pouco desenvolvido. O núcleo dessas células migra para a porção proximal e elas adquirem mais características de células secretórias.

A concentração dos núcleos na porção proximal também é conhecida como polaridade reversa, em razão de ser o oposto do que é visto na maioria das células epiteliais (em que os

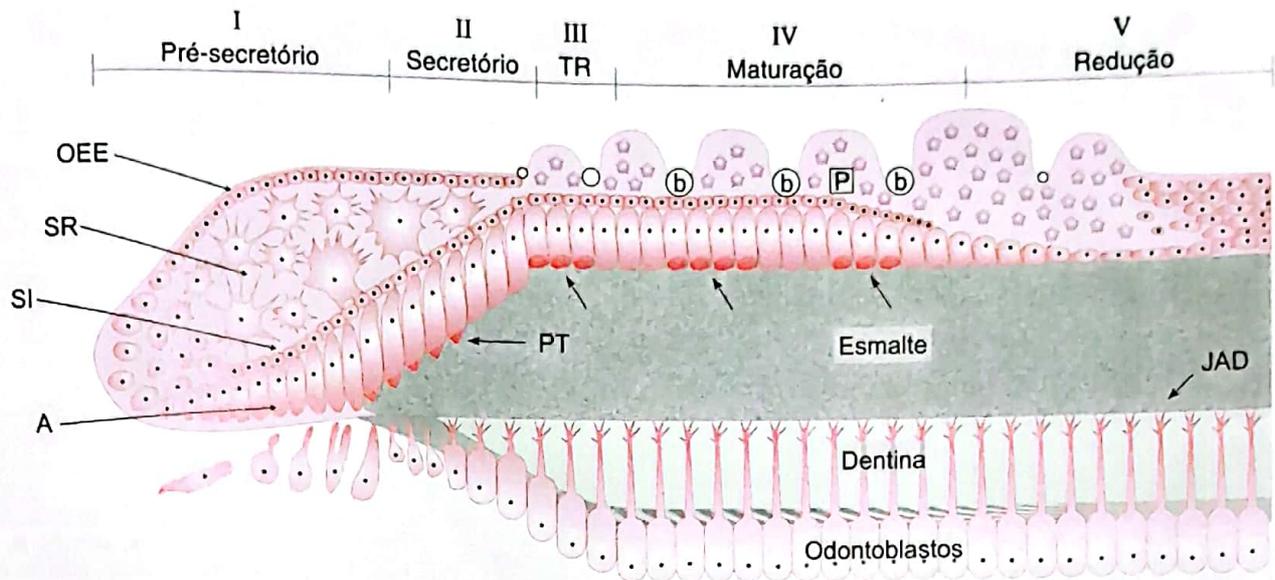


Figura 8.3 Desenho esquemático de órgão dentário de incisivo de rato publicado por Sorkin *et al.* *J Histochem & Cytochem* 48:397-406, 2001), reproduzido e modificado com permissão dos autores e da editora. Os 5 estágios do ciclo de vida dos ameloblastos estão indicados, assim como as principais alterações morfológicas. Estágios: I, pré-secretório; II,

secretório; III, de transição (TR); IV, de maturação; e V, de epitélio reduzido. OEE, epitélio externo do órgão dentário; SR, retículo estrelado; SI, estrato intermediário; A, ameloblastos; P, células papilares; b, capilares; PT, processo de Tomes; JAD, junção amelodentinária.

núcleos se concentram na região próxima à lâmina basal). Notar que a terminologia utilizada para ameloblastos é diferente da maioria das outras células epiteliais. Por convenção chama-se de região basal de uma célula epitelial aquela próxima à membrana basal, enquanto nos ameloblastos essa é a região denominada distal ou apical (Figura 8.4). Depois da deposição da pré-dentina pelos odontoblastos, a lâmina basal começa a ser degradada.

2 – O estágio secretório: caracteriza-se pela deposição e mineralização parcial de matriz do esmalte pelos ameloblastos. O núcleo das células está na região proximal (Figuras 8.4 a 8.6) e os ameloblastos exibem as características mais marcantes de células em intensa atividade secretória: núcleos claros (predominância de eucromatina), retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi muito desenvolvidos, além de muitas vesículas na região supranuclear (Figuras 8.7 a 8.9).

Nessa fase, os ameloblastos atingem sua altura máxima. Também, nessa fase, são notadas grandes diferenças morfológicas entre ameloblastos de diferentes espécies animais,

as quais refletem diferenças na velocidade de formação do esmalte entre diferentes espécies. Os ameloblastos mais altos (70 μm) e com o maior número de organelas são encontrados em incisivos de roedores, dentes de crescimento contínuo, em que a amelogênese ocorre em grande velocidade. Outra particularidade de incisivos de roedores reside no fato de as mitocôndrias se concentrarem na região proximal das células (Figura 8.7).

No início da secreção de matriz do esmalte, a membrana plasmática apical tem uma superfície plana que toca na dentina. Isso faz a orientação dos cristais da primeira camada de esmalte depositada ser perpendicular à superfície da junção amelodentinária, formando uma camada homogênea conhecida como esmalte aprismático (sem prismas). Depois da deposição dessa matriz inicial, forma-se, na porção apical de cada ameloblasto, um processo conóide, sendo a base do cone voltada para o ameloblasto, conhecido como processo de Tomes. A existência do processo de Tomes é determinante para a orientação dos cristais no esmalte, isso porque a deposição de

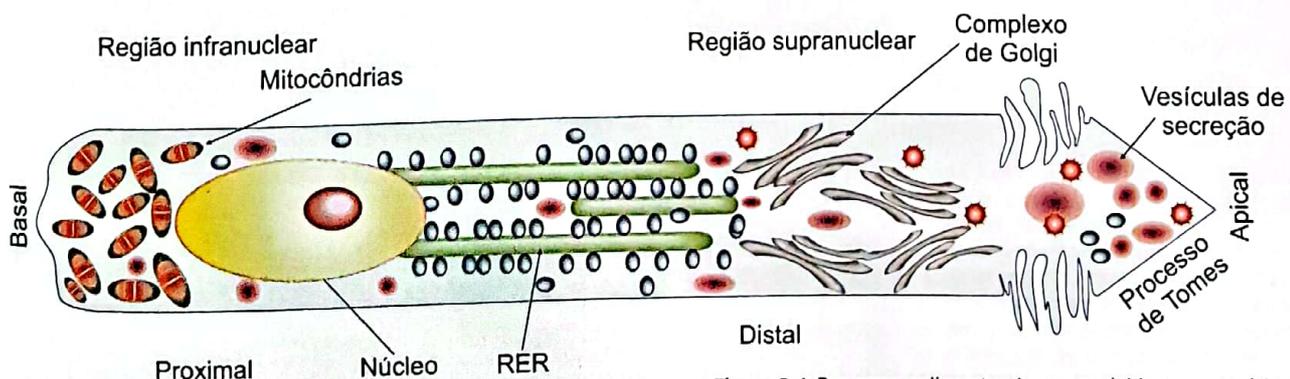


Figura 8.4 Esquema rudimentar de um ameloblasto secretório para facilitar a compreensão dos termos utilizados ao longo do texto.

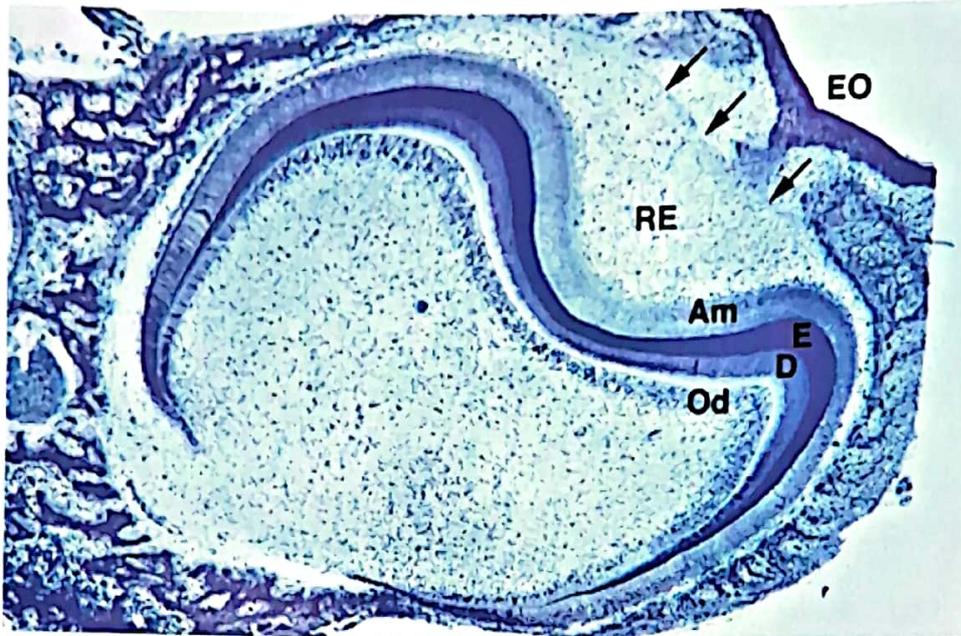


Figura 8.5 Germe dentário do 1º molar inferior de rato no 5º dia de vida. Podem ser observados todos os elementos presentes no início da amelogênese. As setas indicam o limite superior do germe dentário, que ainda está ligado ao epitélio oral, **EO**. Neste limite se encontram as células do epitélio externo do órgão dentário. Notar a grande separação espacial das células do retículo estrelado, **RE**. Não estão indicadas as células do estrato intermediário. **Am**, ameloblastos. **E**, esmalte. **D**, dentina. **Od**, odontoblastos. Azul de toluidina. Cortesia de Luciana Barros Sant'anna e Darcy Tosello.

matriz orgânica ocorre a partir das superfícies do processo de Tomes (laterais e apical). A orientação dos cristais é relativamente perpendicular à superfície celular secretora, o que ocorre em consequência da organização da matriz protéica secretada, conforme explicaremos adiante. A secreção de matriz do esmalte, nas regiões laterais, dos processos de Tomes gera a impressão de que os processos de Tomes estão localizados em depressões na matriz. Essa secreção de esmalte, a partir das regiões laterais, forma o esmalte interprismático, caracterizado por apresentar cristais orientados obliquamente em relação ao longo eixo do processo de Tomes. Já a matriz secretada na face apical do processo de Tomes induz à precipitação de cristais com orientação perpendicular à face secretora e, normalmente, paralela ao longo eixo do processo de Tomes. Isso significa que há uma massa de cristais orientados paralelamente no centro do trajeto do processo de Tomes de cada ame-

loblasto, o esmalte prismático, que é circundado por áreas em que os cristais têm orientações espaciais distintas, que caracterizam o esmalte interprismático. Portanto, a visualização de prismas de esmalte decorre da orientação distinta dos cristais nas regiões de esmalte prismático e interprismático, e isso só acontece porque processos de Tomes estavam presentes no momento da secreção da matriz do esmalte (Figuras 8.10 e 8.11).

As diferenças na forma dos prismas observadas nas diferentes espécies animais é atribuída, em parte, às diferenças na forma do processo de Tomes entre as espécies. O processo de Tomes é separado do restante do citoplasma do ameloblasto pela trama terminal distal, uma rede de filamentos da proteína actina. O processo de Tomes não apresenta organelas, mas muitas vesículas secretórias a caminho da secreção para a matriz (Figuras 8.10 e 8.11). Na região dos

Figura 8.6 Maior aumento de uma região do germe dentário visto na Figura 8.5. As células do órgão dentário podem ser observadas. Da direita para a esquerda: **D**, dentina; **E**, esmalte; **PT**, processos de Tomes; **Am**, ameloblastos; as setas indicam a linha "transameloblástica" que se deve às pronunciadas zônulas de adesão do complexo junclonal proximal durante a fase secretória. **Ei**, estrato intermediário. **C**, capilar. Algumas células do retículo estrelado podem ser vistas entre o estrato intermediário e os capilares. **F**, fibroblastos. Azul de toluidina. Cortesia de Luciana Barros Sant'anna e Darcy Tosello.

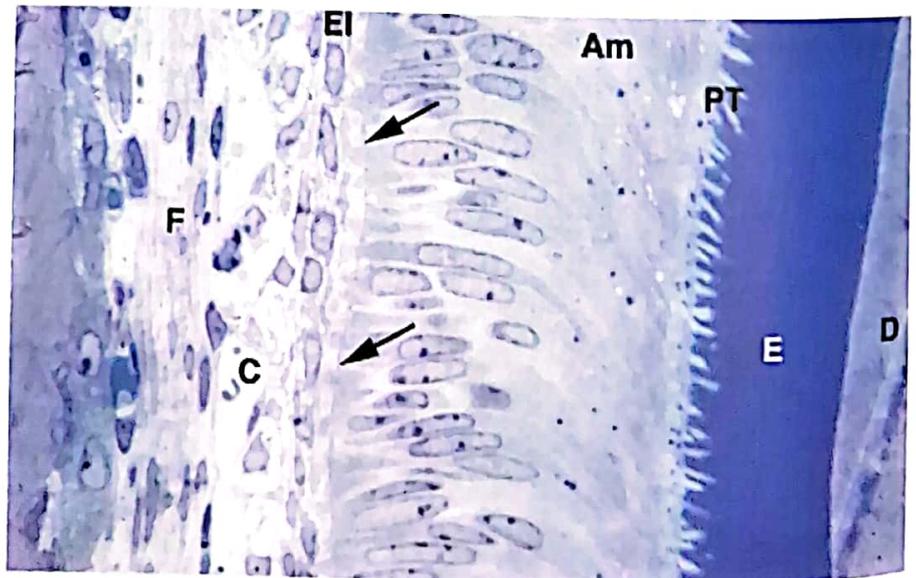




Figura 8.7 Órgão dentário do incisivo de rato. Na região inferior da figura podem ser observados os ameloblastos da fase secretória: células colunares altas, exibindo polarização dos núcleos e mitocôndrias. Acima dos ameloblastos pode-se observar uma única camada de células cubóides formando o estrato intermediário. Na região superior esquerda da figura podem ser vistas células com múltiplas projeções citoplasmáticas separadas por grande quantidade matriz extracelular: são as células do retículo estrelado. Cortesia de Luciana Barros Sant'anna e Darcy Tosello.

processos de Tomes, são visíveis interdigitações em ameloblastos vizinhos que podem contribuir para a adesão. Depois de ter-se completado a deposição de matriz do esmalte, o processo de Tomes desaparece e uma última camada de esmalte aprismático é depositada na superfície.

3 – *O estágio de transição*: período breve, em que os ameloblastos sofrem intensas alterações morfológicas, como:



Figura 8.8 Detalhe da região infranuclear de ameloblastos da fase secretória (incisivo de rato), em que podem ser vistos o retículo endoplasmático rugoso e o complexo de Golgi bem desenvolvidos, além de grande quantidade de vesículas. Cortesia de Luciana Barros Sant'anna e Darcy Tosello.

apresentam redução de tamanho (altura) concomitante com a mudança na superfície distal, que volta a ser lisa no final da fase secretória, sem os processos de Tomes. Nessa fase uma lâmina basal é depositada sobre o esmalte imaturo. Essa lâmina basal recobrirá a superfície do esmalte durante toda a maturação.

Vinte e cinco a 50% dos ameloblastos sofrem morte celular programada nesse período e os ameloblastos restantes passam por uma reestruturação de suas organelas que resulta na redução do tamanho do retículo endoplasmático rugoso e do complexo de Golgi. O número de vesículas no citoplasma da célula também diminui. Essa redução no aparato secretor se dá pela autofagia das organelas.

Na maioria das espécies, é nesta fase que vasos penetram no órgão dentário (Figura 8.3). Morte celular programada também é freqüente nas três demais camadas de células do órgão dentário: o epitélio externo, o retículo estrelado e o estrato intermediário. As células remanescentes dessas camadas se transformam em células da camada papilar (Figura 8.3), as quais recobrem os ameloblastos da fase de maturação e são assim chamadas pela grande quantidade de projeções citoplasmáticas que apresentam.

4 – *O estágio de maturação*: aquele em que a mineralização do esmalte aumenta gradativamente até o esmalte adquirir as características de esmalte maduro. É nessa fase que a matriz perde a maior parte das proteínas e da água. Os cristais de esmalte da fase secretória, finos e compridos, expandem-se nessa fase, ocupando praticamente todo o espaço da matriz, embora o número de cristais permaneça o mesmo.

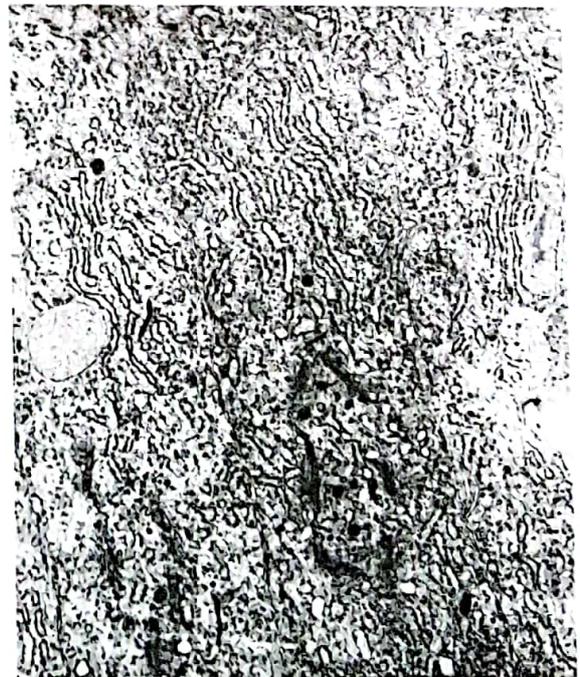


Figura 8.9 Detalhe da região infranuclear dos ameloblastos da fase secretória (incisivo de rato). O retículo endoplasmático rugoso é abundante e está disposto no sentido do longo eixo da célula. No núcleo da célula inferior podem ser vistos dois nucléolos, achados freqüentemente nos ameloblastos da fase secretória. Notar que não há contato entre as membranas plasmáticas de células adjacentes na maior parte desta região. Cortesia de Luciana Barros Sant'anna e Darcy Tosello.

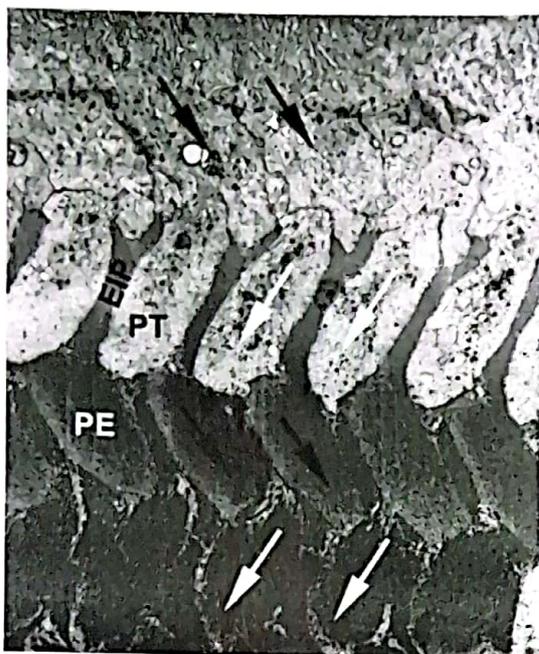


Figura 8.10 Região distal dos ameloblastos da fase secretória (incisivo de rato). A matriz do esmalte se encontra na parte inferior da figura e, conforme dito no texto, já é parcialmente mineralizada desde o momento da secreção. O processo de Tomes (PT) está circundado por esmalte interprismático (EIP). A matriz do esmalte é depositada à medida que o PT migra para proximal. O esmalte interprismático (EIP) é depositado antes do esmalte prismático (PE). A orientação ao longo do eixo dos cristais de esmalte em alguns prismas (PE) é a mesma da orientação de alguns dos processos de Tomes (ver setas brancas para a orientação de um conjunto de processos de Tomes/prismas e setas pretas para a orientação de outro conjunto de processos de Tomes/prismas). Como se pode notar, há interdigitação de prismas de esmalte formados por processos de Tomes de orientação oposta.

O achado mais característico dessa fase diz respeito às características ultra-estruturais de grupos de ameloblastos, que apresentam ora borda apical lisa, ora borda apical pregueada, novamente borda apical lisa e depois pregueada, e assim sucessivamente durante toda a fase de maturação (Smith, 1998). Curiosamente, esses dois tipos morfológicos não refletem duas populações distintas de ameloblastos. O que ocorre é que um mesmo grupo de ameloblastos se modifica ciclicamente conforme a passagem de uma "onda" que induz essas modificações. Essa onda parte da região do esmalte em fase de transição e se propaga em direção ao esmalte maduro com uma velocidade precisa.

O tempo durante o qual esse grupo de células exibe um ou outro tipo de borda apical é estimado em cerca de 8 horas. Além de morfológicamente distintos em relação à borda apical, os ameloblastos de borda lisa ou borda pregueada também são distintos em relação às junções celulares, morfologia da região lateral e quanto ao pH da matriz à qual estão aderidos. A Figura 8.11 mostra ameloblastos da fase de maturação com borda apical pregueada.

Não há diferenças em relação às organelas celulares entre ameloblastos com uma ou outra aparência morfológica. Em geral, são células colunares com o núcleo na região central ou proximal, com retículo endoplasmático liso e rugoso, complexo de Golgi e mitocôndrias distribuídas no sentido do maior



Figura 8.11 Detalhe da região do processo de Tomes e esmalte interprismático visto na Figura 8.10. Notar que não há organelas no PT, mas grande quantidade de vesículas secretórias.

eixo da célula. Em certas espécies animais, há concentração de mitocôndrias na região distal dos ameloblastos com borda pregueada. Vesículas densas e multilobuladas são descritas nessas células e associadas à presença de lisossomos. A região apical dos ameloblastos de borda lisa e as projeções citoplasmáticas dos ameloblastos com borda pregueada que tocam no esmalte apresentam hemidesmossomos que conectam as células à lâmina basal, que recobre o esmalte.

Enquanto a fase secretória usualmente dura algumas semanas a meses, a maturação do esmalte é um dos processos mais longos de formação de um tecido, podendo levar até 4 anos em alguns dentes de mamíferos.

5 - *Estágio de epitélio reduzido*: quando a maturação do esmalte se completou, as células do órgão dentário estão todas aglomeradas sobre esmalte recém-formado. Os ameloblastos restantes são células colunares baixas e estão intimamente relacionadas com as células remanescentes da camada papilar. Esse epitélio reduzido (em número de células e com células de tamanho reduzido) irá colaborar na formação do epitélio que fica em contato com o esmalte na região cervical do dente depois de sua erupção, o epitélio juncional (Figuras 8.12 e 8.13).

• Junções celulares nos ameloblastos

As junções celulares parecem ter um papel crucial na formação do esmalte. No estágio secretório, há junções comunicantes entre ameloblastos e células do estrato intermediário (vias de transporte de nutrientes e íons) e entre ameloblastos adjacentes (possivelmente vias de sinalização). Há desmossomos garantindo a ancoragem de ameloblastos a células do estrato intermediário e a ameloblastos vizinhos. Algumas interdigitações de membrana podem ser vistas oca-

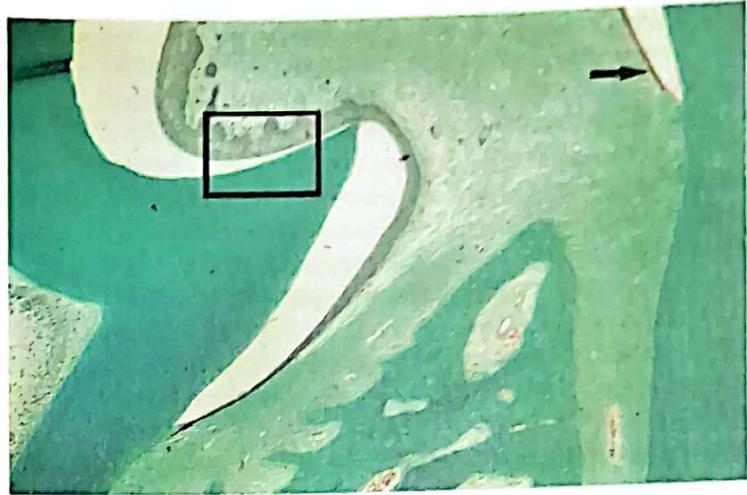


Figura 8.12 Corte histológico da região da boca de gambá preparado por descalcificação. À esquerda pode ser visto um dente não irrompido, e à direita, um dente irrompido. Notar que o esmalte foi totalmente removido pelo processamento e o espaço do esmalte aparece em branco. Há epitélio reduzido do esmalte recobrimdo todo o esmalte do dente não irrompido. Notar ainda o epitélio juncional (seta), que fica em contato com o esmalte na região cervical do dente depois de sua erupção. Cortesia de Paulo Tambasco de Oliveira.

sionalmente entre ameloblastos adjacentes e os complexos juncionais distal e proximal são bastante pronunciados.

As zônulas de oclusão formam um cinturão em torno das células e impedem a passagem de moléculas entre ameloblastos (a passagem entre células vizinhas é conhecida como via paracelular). O fluido da matriz do esmalte tem uma composição bem diferente daquela do soro. A concentração de cálcio livre na fase secretória, por exemplo, é 10 vezes menor no fluido do esmalte. Além disso, o transporte de íons através das células (via transcelular) parece ser o que dá a elas a capacidade de regular o processo de mineralização, e isso também depende do isolamento físico da matriz do esmalte. Por esses motivos acredita-se ser importante a capacidade dos ameloblastos de manter controle da via paracelular (pelas zônulas de oclusão).

As zônulas de adesão são estruturas que também formam um cinturão nas células, mas são permeáveis. Sua função é promover a adesão entre células adjacentes e a interação de suas membranas com filamentos de actina do citoesqueleto. As zônulas de adesão são tão pronunciadas nessa fase que podem ser vistas inclusive em microscopia de luz como uma

linha de união entre ameloblastos, a qual é perpendicular ao longo eixo dessas células (Figura 8.6, observar setas).

Na fase de maturação, os ameloblastos também apresentam junções comunicantes e desmossomos. Os ameloblastos de *borda pregueada* apresentam zônulas de adesão e oclusão extensas na *região distal*, não apresentando essas junções na *região proximal*. Já os ameloblastos com *borda lisa* apresentam zônulas de adesão e oclusão extensas na *região proximal*, e não apresentam junções na *região distal*. Além disso, no intervalo em que um grupo de ameloblastos com *borda lisa* passa a exibir *borda pregueada*, a função de barreira fica comprometida e componentes do soro parecem ter acesso à matriz do esmalte.

• Funções durante as diferentes fases

Na fase secretória, é depositada a maior parte das proteínas da matriz do esmalte. Mesmo durante essa fase, já há mineralização da matriz (em torno de 30%). Entre as proteínas secretadas nessa fase, estão amelogeninas (uma família heterogênea que corresponde a cerca de 90% das proteínas da

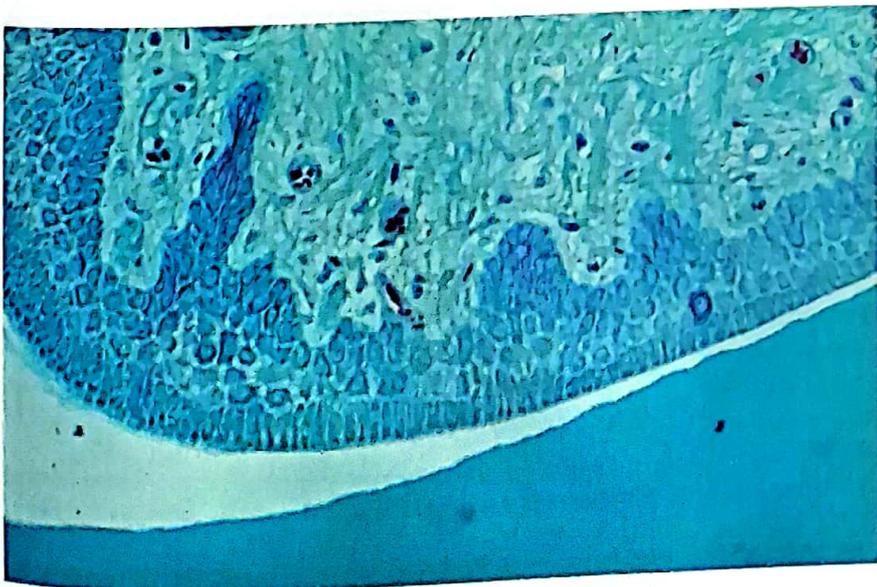


Figura 8.13 Em maior aumento, a região delimitada pelo retângulo na figura anterior. A proximidade física entre o epitélio reduzido do esmalte e a dentina (bem corada, embaixo) é um artefato, uma vez que o esmalte desapareceu com a descalcificação. As células junto ao esmalte (espaço) são células colunares baixas, os ameloblastos remanescentes. Cortesia de Paulo Tambasco de Oliveira.

matriz), enamelinina, tuftelina, ameloblastina e duas enzimas do esmalte caracterizadas até o momento, a EMSP-1 (serina-proteinase da matriz do esmalte 1) e a MMP-20 (metalo-proteinase da matriz 20). Por imunocitoquímica, várias dessas proteínas foram localizadas nas vesículas de secreção dos ameloblastos e na matriz do esmalte.

As amelogeninas são proteínas predominantemente hidrofóbicas, que possuem curtas regiões hidrofílicas apenas em suas extremidades. Em meio aquoso, como o fluido do esmalte, pensa-se que as amelogeninas formem agregados (nanosferas) pelas interações das regiões hidrofóbicas, enquanto um "gancho" hidrofílico as prenderia às regiões laterais dos cristais durante a precipitação destes. Além disso, as amelogeninas possuem um domínio semelhante a lectina que poderia mantê-las orientadas em direção ao glicocálce da face secretora do processo de Tomes, o que orientaria espacialmente as nanosferas e, em última instância, os cristais, que se precipitariam nos espaços livres de proteínas. Segundo esse modelo, as proteínas e os minerais são depositados ao mesmo tempo, já no início da fase secretória. Os ameloblastos migrariam, deixando atrás de si as proteínas que instantaneamente formariam os agregados. Esse arcabouço protéico orientado favoreceria o crescimento da maior parte dos cristais no sentido do eixo de migração dos ameloblastos por ocupar espaços entre os cristais. Esse modelo também permite imaginar que os cristais finos e longos possam receber incrementos de mineral nas suas regiões laterais à medida que os agregados protéicos hidrofóbicos forem removidos por proteólise.

Está demonstrado que as proteinases presentes na matriz do esmalte degradam as proteínas estruturais da matriz do esmalte em polipeptídeos muito pequenos. Esse processo ocorre mesmo que os ameloblastos sejam removidos da matriz após a fase secretória. Acredita-se que a degradação do arcabouço protéico seja um passo inicial para liberar espaço para o crescimento dos cristais em espessura.

Os ameloblastos da fase de maturação continuam sintetizando proteínas, embora em menor quantidade. Apesar de haver descrições detalhadas sobre os aspectos morfológicos dessas células, não há consenso sobre o papel dos ameloblastos durante a maturação do esmalte. Ameloblastos com borda apical pregueada apresentam grandes quantidades de bombas de íons, o que sugere um papel na regulação do transporte de íons. O controle do ingresso de íons parece fundamental para permitir o crescimento organizado dos cristais. O ingresso de cálcio parece ser muito bem regulado e há evidências de que ele seja transportado pela via transcelular nos ameloblastos. O cálcio não fica livre no citoplasma da maior parte das células transportadoras de íons, pois ele seria muito tóxico. Normalmente grandes quantidades de cálcio ficam estocadas no interior de compartimentos isolados por membranas, como retículo endoplasmático liso e rugoso, espaço perinuclear, mitocôndrias, complexo de Golgi, lisossomos e vesículas. Enzimas transportadoras de cálcio o importariam para esses compartimentos na região proximal. O cálcio poderia se mover até a região apical dos ameloblastos por um sistema de

canais formados pelas organelas descritas, sendo aí liberado das vesículas secretórias para a matriz extracelular.

Evidências experimentais mostram que os aspectos físico-químicos da superfície do esmalte sob ameloblastos de borda pregueada são diferentes daqueles sob ameloblastos com borda lisa. A matriz é mais hidratada nas regiões sob ameloblastos com borda lisa, enquanto há muito mais cálcio localizado nas regiões subjacentes a ameloblastos com borda pregueada. O fluido do esmalte das regiões subjacentes aos ameloblastos com borda lisa tem pH entre 7,2 e 7,4, enquanto o fluido de áreas com ameloblastos de borda pregueada tem pH entre 6,1 e 6,8.

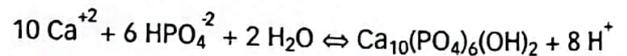
Após ter-se completado a maturação do esmalte, os ameloblastos e as células da camada papilar (epitélio reduzido) têm função protetora até a erupção do dente.

• Como se forma um tecido mineral?

Os minerais presentes nos tecidos não são produzidos e secretados pelas células na sua forma acabada, como acontece com muitas moléculas orgânicas encontradas na matriz extracelular. Pelo contrário, os minerais se formam na própria matriz a partir de condições ideais.

É preciso relembrar noções básicas de precipitação de sais para entender como minerais são formados, ou melhor, "depositados" ou "precipitados". É preciso lembrar da experiência do tempo de escola, na qual sal de cozinha é adicionado a água e misturado, até o momento em que não há mais dissolução e cristais do sal são vistos no fundo do recipiente (quando a solução ficou supersaturada em relação ao sal e houve precipitação). Com os minerais acontece o mesmo: um mineral "precipita" em soluções aquosas quando o meio fica supersaturado em íons que o compõem. O inverso também ocorre: se a solução ficar subsaturada em relação aos íons componentes do mineral, o mineral já precipitado passa a se "dissolver", para que o meio volte ao equilíbrio. Por esse motivo, minerais já precipitados ganham ou perdem elementos conforme a saturação do meio aquoso em que se encontram.

A fórmula da unidade básica da hidroxiapatita é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. A reação de formação de hidroxiapatita se encontra a seguir:



Os fosfatos que formam a hidroxiapatita são obtidos a partir de fosfatos monoácidos, enquanto as hidroxilas são obtidas a partir da água. Essa noção permite concluir que:

- a deposição de hidroxiapatita necessariamente libera prótons; e
- prótons podem dissolver hidroxiapatita, pois, na ausência de outros tampões, os fosfatos incorporam prótons, movendo a reação no sentido inverso.

Do item A, deduz-se que a mineralização potencialmente diminui muito o pH do fluido do esmalte, pois 8 prótons (H^+) são liberados para cada unidade de hidroxiapatita formada. Não está estabelecido ainda qual o sistema responsável por

tampouco esse ácido produzido durante a mineralização, mas parece que, em parte, os ameloblastos com borda pregueada secretariam bicarbonato e, em parte, o fluido do esmalte faria trocas com o soro durante os períodos em que as zônulas de oclusão estão incompletas. Portanto, a manutenção de barreiras impermeáveis nos ameloblastos da fase de maturação induziria uma acidificação por represar o ácido que está sendo formado na matriz durante a mineralização.

Do item B, deduz-se que, se o fosfato da hidroxiapatita for usado como tampão, cada vez que o pH diminuir em uma unidade haverá um aumento de 10 vezes na solubilidade do esmalte. Isso vale também para a hidroxiapatita do esmalte maduro dos dentes na boca, pois o mineral é o mesmo e para dissolver mineral basta o meio estar subsaturado em relação aos íons componentes. Embora a saliva da maioria das pessoas tenha concentrações supersaturantes de cálcio e fosfato, o esmalte pode ser dissolvido por bebidas ácidas ou pelos ácidos produzidos por bactérias (o que explica a cárie dentária). Este processo também explica o efeito remineralizante da saliva quando o pH volta a subir.

Na amelogênese, as variações de pH observadas sob os ameloblastos da fase de maturação podem interferir na precipitação de mineral (embora não se conheçam os detalhes desta reação pela dificuldade técnica de determinar as concentrações de íons livres na matriz do esmalte nesta fase). A diminuição cíclica do pH parece paralisar a precipitação, o que sugere que as transições entre um pH levemente ácido e o pH fisiológico sejam uma estratégia importante para conseguir formar um tecido tão mineralizado de uma forma tão perfeita. Enquanto o pH está baixo, os níveis de cálcio e fosfato podem estar altos, sem haver precipitação abrupta de mineral. Isso permitiria a difusão uniforme de cálcio e fosfato em toda a profundidade do esmalte (lembrar que a espessura do esmalte chega a 1 mm em alguns dentes). A remoção experimental dos ameloblastos e a neutralização do fluido parecem confirmar esta hipótese, visto que neste experimento o cálcio acumulado se deposita imediatamente e fica concentrado na superfície do esmalte antes recoberta por ameloblastos com borda pregueada. As alterações de pH da matriz poderiam também servir como um sinal para as células modificarem suas características morfológicas.

Em suma, a maturação do esmalte parece ser um processo em que se forma o mineral mais cristalino dos mamíferos por meio de ajustes nas junções celulares e alterações no transporte seletivo de íons ao longo de um grande espaço de tempo. As alterações cíclicas dos ameloblastos possibilitam o grande acúmulo de minerais no esmalte porque permitem a difusão de íons até os pontos mais distantes da matriz antes da precipitação destes íons.

• Marcas observadas no esmalte e aspectos patológicos

O esmalte talvez seja o melhor registro da história das células formadoras de um tecido, pois a maior parte dele não sofre alterações depois de sua formação. Isso não ocorre com

a matriz extracelular de tecidos moles nem com a matriz extracelular de tecidos mineralizados como o osso, que sofre remodelação constante.

Pequenas alterações no ritmo circadiano de secreção de matriz pelos ameloblastos podem ser detectadas como marcas no esmalte. Em esmalte humano, essas marcas são encontradas a cada 4 μm , indicando a quantidade de matriz depositada diariamente pelas células. Alterações mais pronunciadas são vistas a intervalos maiores, indicando uma interrupção na atividade dos ameloblastos a cada semana. Essas marcas mais visíveis são chamadas de estrias de Retzius ou linhas incrementais (Figura 8.1A). Processos diversos, como carências nutricionais e febres, normalmente causam alterações transitórias em várias células do organismo, em especial nas metabolicamente mais ativas. Também essas alterações ficam registradas como linhas no esmalte. Particularmente notória é a linha neonatal, uma marca que reflete as alterações sofridas pelos ameloblastos no período do nascimento. Além das alterações celulares, também outros tipos de registros podem ser encontrados no esmalte, como a presença de metais pesados, que são incorporados ao esmalte se estiverem presentes no organismo durante o período de formação dos dentes.

Existem também várias doenças hereditárias que apresentam alterações no esmalte. São dignas de nota as que envolvem alterações do epitélio, como as displasias ectodérmicas e a epidermólise bolhosa. Nos casos de epidermólise bolhosa, algumas das alterações genéticas conhecidas ocorrem em genes de componentes da lâmina basal, de desmossomos e de hemi-desmossomos. Há também uma doença que envolve primariamente a formação do esmalte, conhecida como amelogênese imperfeita. Os genes relacionados à amelogênese imperfeita descritos até o momento são genes de proteínas estruturais da matriz do esmalte.

Há vários tumores (hamartomas, neoplasias benignas e malignas) relacionados a tecidos dentais cuja origem celular ainda é discutida. Em alguns destes há produção de esmalte e dentina, às vezes de forma organizada, às vezes desorganizada. Nestes tumores, a diferenciação de ameloblastos ocorre conforme a descrição feita no início deste capítulo.

Existe um tumor chamado ameloblastoma que é raro, normalmente benigno, mas localmente muito invasivo. As células epiteliais neoplásicas do ameloblastoma são parecidas com células do órgão dentário. As células colunares presentes provavelmente representem pré-ameloblastos originários da proliferação e da diferenciação neoplásicas da lâmina dentária ou de seus resquícios. Como não há presença de dentina e odontoblastos, não há a diferenciação final dos ameloblastos. Além disso, as células neoplásicas de ameloblastomas sofrem divisões mitóticas frequentes, enquanto ameloblastos são fruto da diferenciação pós-mitótica dos pré-ameloblastos. Há várias moléculas reguladoras da morte celular programada que parecem estar elevadas nos estágios iniciais da formação do germe dentário e que estão ausentes nos ameloblastos. Algumas dessas moléculas são expressas em ameloblastomas e podem estar relacionadas à contínua proliferação celular e formação desses tumores.

BIBLIOGRAFIA

1. Dabelsteen, E. (1998) "Molecular biological aspects of bullous diseases". *Crit Rev Oral Biol Med* 9:62-168.
2. Eisenmann, D.R. (1998) "Amelogenesis". In: Ten Cate, A.R. *Oral Histology: development, structure and function*. Mosby-Year Book.
3. Hubbard, M.J. (2000) "Calcium transport across the dental enamel epithelium". *Crit Rev Oral Biol Med* 11:437-66.
4. Line, S.R.P. (2000) "Incremental markings of enamel in ectothermal vertebrates". *Arch Oral Biol* 45:363-8.
5. Moradian-Oldak, J. (2001) "Amelogenins: assembly, processing and control of crystal morphology". *Matrix Biol* 20:293-305.
6. Scobe, Z.; Stern, D.N. & Probst, K.S. (1995) "The cell biology of amelogenesis". In: Robin, C.; Kirkham, J. & Shore, R. *Dental enamel: formation to destruction*. CRC Press, Boca Raton.
7. Simmer, J.P. & Fincham, A.G. (1995) "Molecular mechanisms of dental enamel formation". *Crit Rev Oral Biol Med* 6:84-108.
8. Sorkin, B.C. et al. (2000) "The cadherin-catenin complex is expressed alternately with the APC protein during rat incisor amelogenesis". *J Histochem Cytochem* 48:397-406.
9. Smith, C.E. (1998) "Cellular and chemical events during enamel maturation". *Crit Rev Oral Biol Med* 9:128-61.
10. Thesleff, I. (1995) "Differentiation of ameloblasts and its regulation by epithelial-mesenchymal interactions". In: Robin, C.; Kirkham, J. & Shore, R. *Dental enamel: formation to destruction*. CRC Press, Boca Raton.
11. Wright, J.T. (1995) "Hereditary defects of enamel". In: Robin, C.; Kirkham, J. & Shore, R. *Dental enamel: formation to destruction*. CRC Press, Boca Raton.

• Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer a Mary Stracke e Ralph Isenburg pela ajuda no preparo das figuras e aos professores Jaime Aparecido Cury, José Merzel e Paulo Tambasco de Oliveira pela leitura e sugestões feitas a este texto.