

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

CAROLINA BARRERA DE AZAMBUJA

ANÁLISE COMPARATIVA DA PERDA ÓSSEA ALVEOLAR INDUZIDA
POR LIGADURA EM RATOS WISTAR NAS FACES LIVRES E PROXIMAIS

Porto Alegre

2011

CAROLINA BARRERA DE AZAMBUJA

ANÁLISE COMPARATIVA DA PERDA ÓSSEA ALVEOLAR INDUZIDA
POR LIGADURA EM RATOS WISTAR NAS FACES LIVRES E PROXIMAIS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Odontologia pela Faculdade de
Odontologia da Universidade Federal
do Rio Grande do Sul, como requisito
parcial para obtenção do título de
Cirurgião-Dentista.

Orientador: Cassiano Kuchenbecker
Rösing

Porto Alegre

2011

CIP – Catalogação na Publicação

Azambuja, Carolina Barrera de

Análise comparativa da perda óssea alveolar induzida por ligadura em ratos Wistar nas faces livres e proximais / Carolina Barrera de Azambuja. – 2011.

26 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Curso de Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

Orientador: Cassiano Kuchenbecker Rösing

1. Perda óssea alveolar. 2. Rato. 3. Modelos animais. 4. Periodontite
5. Perda óssea proximal I. Rösing, Cassiano Kuchenbecker II. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Professor Cassiano Rösing, pela orientação deste trabalho bem como pelo apoio oferecido em todos os momentos necessários.

Ao Juliano, pelo incondicional auxílio neste trabalho e em todas as etapas da minha bolsa de iniciação científica. Ao Duda, da mesma forma, agradeço pelas intermináveis ajudas no decorrer deste tempo. Agradeço aos dois pela dedicação.

A toda a equipe da Periodontia, pela receptividade e disponibilidade apresentadas. Agradeço a convivência com todos os integrantes.

A todos os colegas que me acompanharam nesses cinco anos de graduação, tenho certeza que guardarei na memória um pouco de cada um de vocês. Sentirei saudades do convívio, da cumplicidade e da amizade de todos.

Por fim, agradeço aos meus pais Jacques e Lyane e aos meus irmãos Giovana e Gustavo. Ter uma família assim fornece motivação para seguir sempre em frente. Amo muito vocês.

A todos, meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

AZAMBUJA, Carolina Barrera de. **Análise comparativa da perda óssea alveolar induzida por ligadura em ratos Wistar nas faces livres e proximais**. 2011. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

O objetivo deste trabalho é comparar a perda óssea alveolar induzida por ligadura em ratos nas faces livres e proximais em molares superiores de ratos Wistar. Foram utilizadas 66 hemimaxilas (33 teste e 33 controle) nas quais foi induzida doença periodontal por meio de ligaduras colocadas na região do segundo molar superior direito. Após 30 dias os ratos foram mortos, as maxilas retiradas e os tecidos moles removidos com hipoclorito de sódio (9%). A junção amelocementária (JAC) foi corada com azul de metileno e a perda óssea alveolar das faces livres foi avaliada de maneira linear em cinco regiões por meio de fotografias digitais padronizadas. Para as faces proximais as hemimaxilas foram seccionadas e a JAC foi corada novamente e a perda óssea avaliada em três regiões de maneira linear. Todas as medidas foram realizadas por um examinador treinado, calibrado e cego para os grupos experimentais. O coeficiente de correlação intraclasse revelou valores de 0,96 e 0,89 para as faces livres e proximais respectivamente. O coeficiente de correlação de Pearson (ρ) entre as medidas de face livre e medidas de face proximal foi de 0,35 e 0,05 nos grupos teste com e sem ligadura, respectivamente. As melhores correlações entre as medidas de face livre e as medidas de face proximal foram observadas nos animais do grupo controle com ligadura ($\rho=0,59$) e grupo controle sem ligadura ($\rho=0,65$). Em modelos de destruição periodontal induzida por ligadura, há correlação entre a perda óssea medida em faces livres e proximais. A correlação é mais forte em animais que não foram submetidos à intervenção. Tanto nos lados com como nos lados sem ligadura é possível detectar perda óssea em faces livres e em faces proximais.

Palavras-chave: Perda óssea alveolar. Rato. Modelos animais. Periodontite. Perda óssea proximal.

ABSTRACT

AZAMBUJA, Carolina Barrera de. **Comparative analysis of ligature-induced alveolar bone loss in Wistar rats in buccal/palatal and proximal surfaces.** 2011. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

The aim of this study is to compare ligature-induced alveolar bone loss in buccal/palatal and proximal surfaces of upper molars in Wistar rats. 66 hemimaxillae (33 from test and 33 from control group) were used, in which periodontal breakdown was induced by ligatures on the right upper second molars. After 30 days, the rats were sacrificed, the maxillae were defleshed by sodium hypochloride (9%). The cement-enamel junction (CEJ) was stained with methylene blue and the alveolar bone loss in buccal/palatal surfaces was linearly measured in 5 points in standardized digital photographs. For the proximal sites, the hemimaxillae were sectioned and the CEJ was re-stained and the alveolar bone loss was linearly measured in 3 points. All measurements were performed by a trained and calibrated examiner, blinded to the experimental groups. The intra-class correlation coefficient revealed values of 0.96 and 0.89 for buccal/lingual and proximal surfaces, respectively. Pearson correlation coefficient (ρ) between measurements in buccal/palatal and proximal surfaces was of 0.35 and 0.05 for test groups with and without ligatures, respectively. The best correlations between buccal/palatal and proximal surfaces were observed in the control animals with ligatures ($\rho=0.59$) and control animals without ligatures ($\rho=0.65$). In ligature-induced periodontal breakdown models, there is correlation between alveolar bone loss in buccal/palatal and proximal surfaces. The correlation is stronger in animals that were not submitted to any intervention. Both sides with and without ligatures allow detection of alveolar bone loss in buccal/palatal and proximal surfaces.

Keywords: Alveolar bone loss. Rat. Animal Models. Periodontitis. Proximal bone loss.

APRESENTAÇÃO

O presente estudo trata-se de um estudo que compara duas medidas de perda óssea alveolar induzida por ligadura em modelo animal. Para tanto utilizará os espécimes do projeto intitulado “EFEITO DA DEPENDÊNCIA QUÍMICA DE ETANOL A 15% SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR INDUZIDA EM RATOS WISTAR” que foi protocolado e aprovado pelas Comissões de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (COMPESQ) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CEP).

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	METODOLOGIA	9
2.1	DESCRIÇÃO DA AMOSTRA	9
2.2	PREPARO DAS PEÇAS	9
2.3	ANÁLISE MORFOMÉTRICA DAS FACES LIVRES	10
2.4	ANÁLISE MORFOMÉTRICA DAS FACES PROXIMAIS	12
2.5	CEGAMENTO DO EXAMINADOR	13
2.6	REPRODUTIBILIDADE	13
2.7	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	15
2.8	ANÁLISE DOS DADOS	15
3	RESULTADOS	16
4	DISCUSSÃO	19
5	CONCLUSÃO	23
	REFERÊNCIAS	24

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença de natureza inflamatória crônica originada pelo acúmulo de bactérias no meio subgengival que culmina na destruição dos tecidos adjacentes ao dente. O não-tratamento pode ocasionar a perda dos dentes envolvidos pela doença (PAGE; KORNMAN, 1997).

Para o estudo da etiopatogenia das periodontites existem limitações para o uso de modelos de estudo que envolvem seres humanos, por razões éticas. Nesse sentido, modelos animais têm sido amplamente utilizados na literatura. Dentre os modelos experimentais para o estudo das doenças periodontais destrutivas, macacos, cães e animais de pequeno porte como ratos e camundongos têm sido utilizados. Os ratos são um dos modelos mais utilizados uma vez que possuem similaridades com os humanos. Essas similaridades referem-se à anatomia periodontal, desenvolvimento e composição dos biofilmes, histopatologia das lesões periodontais e imunobiologia (KLAUSEN, 1991; SUSIN; RÖSING, 2002).

O estudo da etiopatogênese das doenças periodontais em modelos animais tem sido realizado tanto através do acompanhamento da ocorrência natural da doença, como por meio de indução de doença, tanto com auxiliares de retenção física de biofilmes, como através da inoculação de supostos patógenos periodontais.

Após os períodos experimentais, é importante que se possa quantificar a destruição, para que se tenha, então, a possibilidade de entendimento do efeito de intervenções que tenham sido incluídas no desenvolvimento experimental da doença.

Para tanto, diferentes métodos para a medição da perda óssea alveolar em ratos foram propostos na literatura, como histométrico (SEMENOFF et al., 2008), morfométrico (DAUDT et al., 2011; LIBERMAN et al., 2011; CAVAGNI et al., 2005), através de medidas radiográficas convencionais (SEMENOFF SEGUNDO et al., 2010) e tomografia computadorizada (WILENSKY et al., 2005; PARK et al., 2007)

Diferentes estudos têm procurado demonstrar a capacidade de métodos de mensuração da destruição periodontal em efetivamente quantificar o efeito produzido pelos experimentos. Fernandes et al. (2007) compararam os métodos histométrico e morfométrico e encontraram que ambos são capazes de detectar perda óssea alveolar em ratos. Li, Amar (2007), da mesma forma, compararam os diferentes métodos: morfométrico isolado, histométrico e morfométrico associados e micro-tomografia computadorizada em 100 ratos machos, e seus achados mostraram que os três métodos apresentam acurácia na quantificação da perda óssea alveolar.

Além da capacidade de detecção da destruição, uma dúvida tem sido posta na literatura a respeito de qual o melhor local e a melhor forma para que se meçam os efeitos observados. Por exemplo, existem estudos comparando os métodos morfométricos com medições de área versus linear (LIBERMAN et al., 2011; SOUZA et al., 2010; KUHR et al., 2004), porém utilizando apenas medidas de perda óssea alveolar das faces lingual e vestibular dos dentes dos ratos. Estudos avaliando a perda óssea proximal são inexistentes na literatura até o presente momento.

Dessa forma, o objetivo deste estudo é comparar a perda óssea alveolar induzida por ligadura em ratos nas faces livres e proximais em molares superiores de ratos Wistar.

2 METODOLOGIA

2.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Para o presente estudo foram utilizadas 66 hemimaxilas provenientes do projeto intitulado “EFEITO DA DEPENDÊNCIA QUÍMICA DE ETANOL A 15% SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR INDUZIDA EM RATOS WISTAR”. O mesmo tratou-se de um estudo em modelo animal, prospectivo, randomizado, controlado e teve como objetivo avaliar a associação entre um modelo de doença periodontal induzida em ratos dependentes químicos de etanol e ratos não-dependentes químicos de etanol a 15%. Este modelo de indução de perda óssea alveolar consistiu na colocação de fio de seda 4-0 (Ethicon, Johnson & Johnson®, São Paulo, SP, Brasil) ao redor do segundo molar superior direito sendo o lado contralateral considerado controle intragrupo. Portanto, para o presente estudo foram utilizadas 66 hemimaxilas (33 com ligaduras e 33 sem ligaduras). A indução da perda óssea alveolar ocorreu por um período de quatro semanas.

Durante todo o período experimental, os animais permaneceram no Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CREAL). Conforme protocolo deste local, todos os animais permaneceram em caixas-moradias em salas climatizadas (20°C) sob o ciclo claro/escuro de 12 horas. Todos os animais receberam ração padronizada *ad libitum* durante o estudo.

2.2 PREPARO DA PEÇAS

Os procedimentos de preparo das peças e de análise morfométrica foram realizados no Laboratório de Periodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e seguiram metodologia proposta por Fernandes et al. (2007). Para a remoção dos tecidos moles, as maxilas foram imersas em hipoclorito de sódio com concentração de 9% de cloro ativo (Mazarollo, Gravataí, Rio Grande do Sul, Brasil), durante cinco horas e esses, então, removidos mecanicamente com o auxílio de pinça. Seguindo-se, as peças foram lavadas e secas. Para uma melhor visualização da junção

amelocementária, as peças foram coradas com azul de metileno a 1% durante um minuto. Na sequência, as peças foram lavadas e secas.

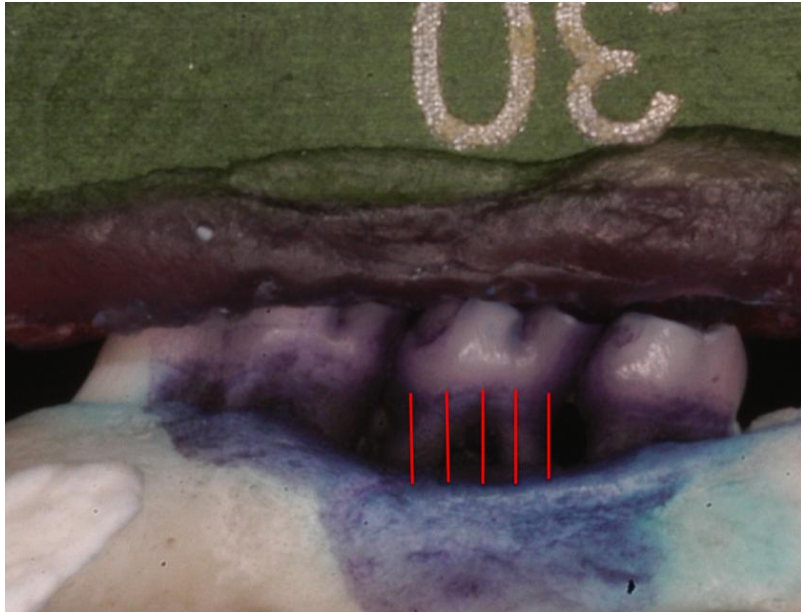
2.3 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DAS FACES LIVRES

A análise morfométrica conduzida no presente estudo foi realizada por meio da avaliação de fotografias digitais das hemimaxilas. Para a tomada das fotografias utilizou-se uma câmera fotográfica digital de 6.1 megapixels modelo D100 (Nikon® Coolpix, Ayutthaya, Ayutthaya, Tailândia), com lente macro 100, acoplada a um tripé com distância focal mínima, de modo que o cone ficasse o mais paralelo possível em relação ao solo.

Confeccionou-se um aparato utilizando pasta pesada de Silicona de Adição (3MESPE®, Seefeld, Alemanha) para promover fixação de uma régua endodôntica a uma posição perpendicular em relação ao solo. As peças foram fixadas à régua através de um fragmento de cera 07 (Newwax® 7, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), de modo que o plano oclusal da peça ficasse paralelo ao solo. Foram realizadas fotografias das faces vestibular e palatina de cada uma das hemimaxilas.

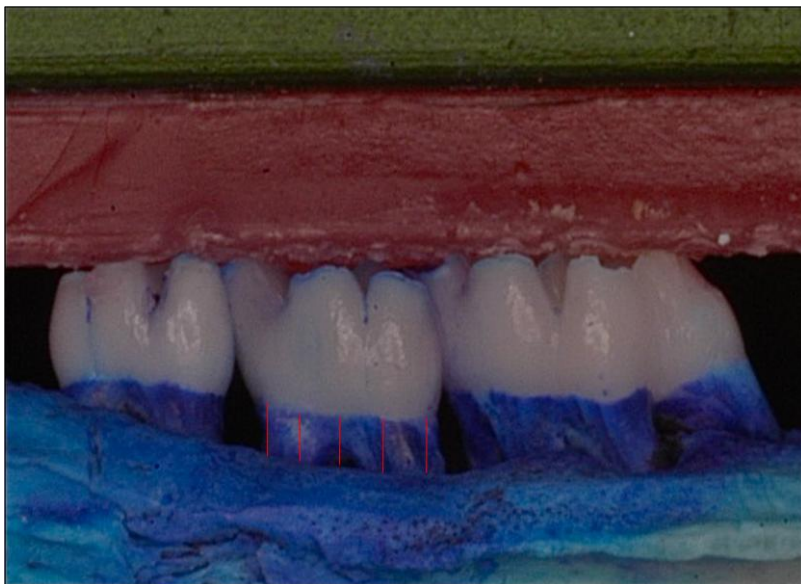
Um examinador, calibrado e cego aos grupos experimentais, calculou as medidas das distâncias lineares da junção amelocementária à crista óssea através programa Image Tool 3.0. (UTHSCPA, San Antonio, TX, USA). Foram realizadas cinco mensurações em cada face (duas na raiz distal, duas na raiz mesial e uma na região de furca). As medidas, realizadas em pixels, foram posteriormente convertidas em milímetros utilizando como referência as marcações da régua endodôntica em que as hemimaxilas foram fixadas. As Figuras 1 e 2 demonstram espécimes e a realização das medidas em faces livres para os lados com e sem ligadura respectivamente.

Figura 1 - Medidas lineares realizadas em fotografia digital da face livre de hemimaxila fixada em régua endodôntica no lado com ligadura.



Fonte: do autor

Figura 2 - Medidas lineares realizadas em fotografia digital da face livre de hemimaxila fixada em régua endodôntica no lado sem ligadura.

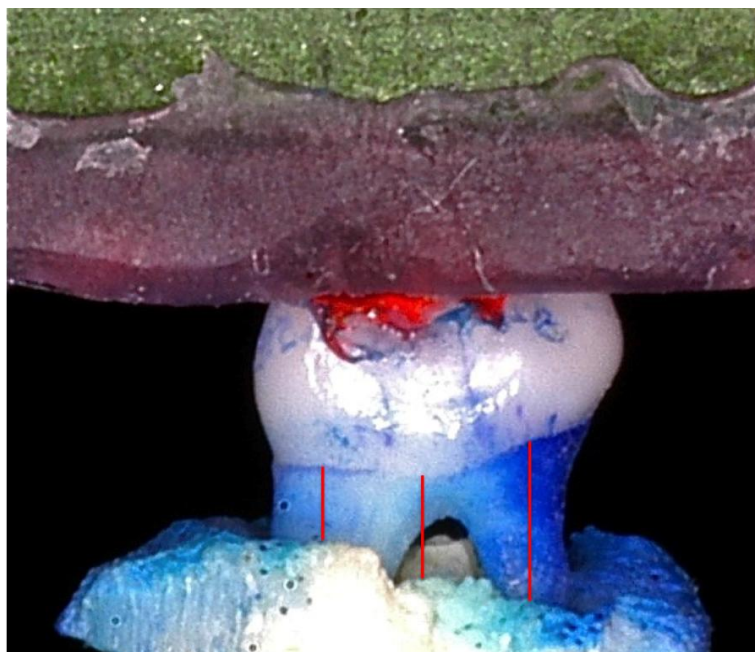


Fonte: do autor

2.4 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DAS FACES PROXIMAIS

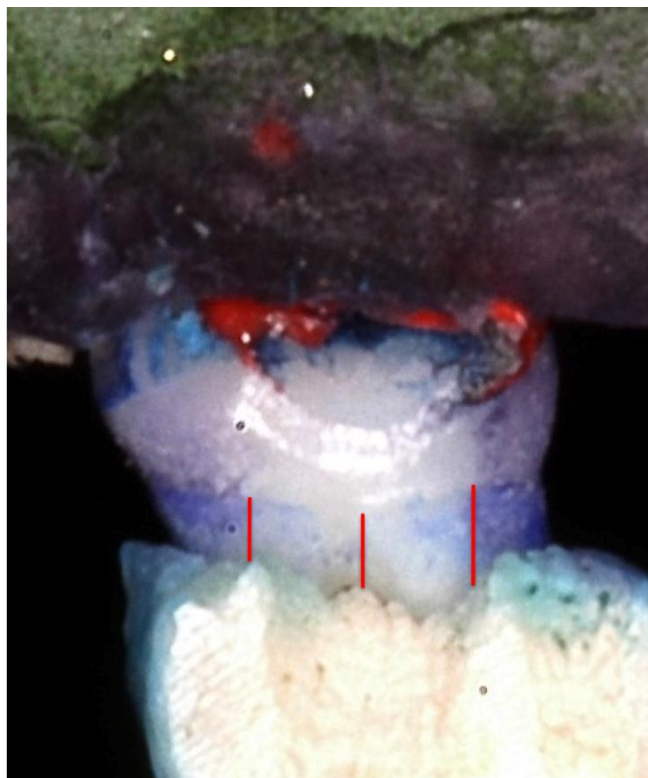
Após a tomada das fotografias para a realização da análise morfométrica das faces livres (vestibular e palatina), as hemimaxilas foram cortadas com auxílio de uma caneta de alta rotação e pontas diamantadas sob refrigeração, nas regiões mesial e distal ao segundo molar, preservando a crista óssea. Cuidados foram tomados para não causar lesão ao tecido ósseo e ao dente a ser avaliado. A junção amelocementária foi corada novamente com azul de metileno a 1% e a perda óssea alveolar avaliada em três regiões (raiz vestibular, centro da face proximal e raiz palatina) de cada face proximal (mesial e distal). Foi realizada uma marcação para identificar a face mesial da peça antes do procedimento de corte com tinta esmalte. As Figuras 3 e 4 ilustram a realização das medidas para os lados com e sem ligadura, respectivamente.

Figura 3 - Medidas lineares realizadas em fotografia digital da face proximal de hemimaxila fixada em régua endodôntica no lado com ligadura.



Fonte: do autor

Figura 4 - Medidas lineares realizadas em fotografia digital da face proximal de hemimaxila fixada em régua endodôntica no lado sem ligadura.



Fonte: do autor

2.5 CEGAMENTO DO EXAMINADOR

O cegamento do examinador ocorreu antes da análise morfométrica. Após as tomadas fotográficas, todas as fotos foram codificadas através de um sorteio numérico por outro pesquisador do estudo, de modo que o examinador não pudesse saber, no momento da análise, a que grupo pertencia cada peça.

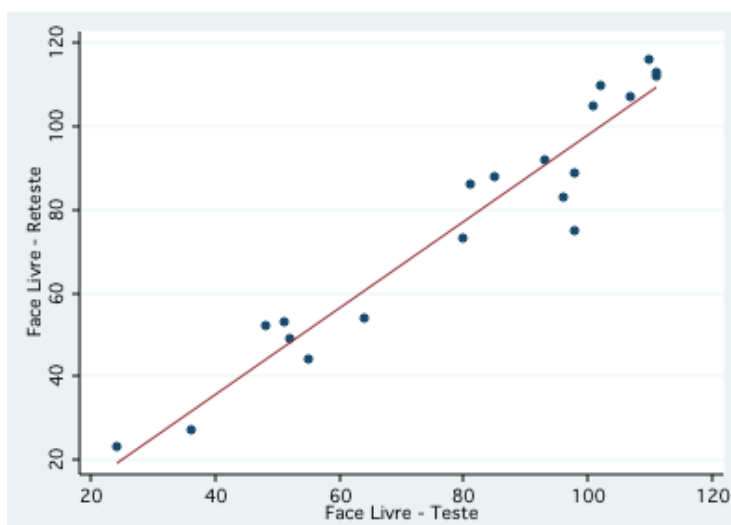
Após a conclusão das medidas, o código foi quebrado e as fotos renomeadas de acordo com o grupo experimental para posterior análise estatística.

2.6 REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade das medidas foi aferida por meio de teste e reteste com intervalo de uma semana entre as medidas. De forma aleatória, foram realizadas medidas das faces livres e das faces proximais em 10% da amostra.

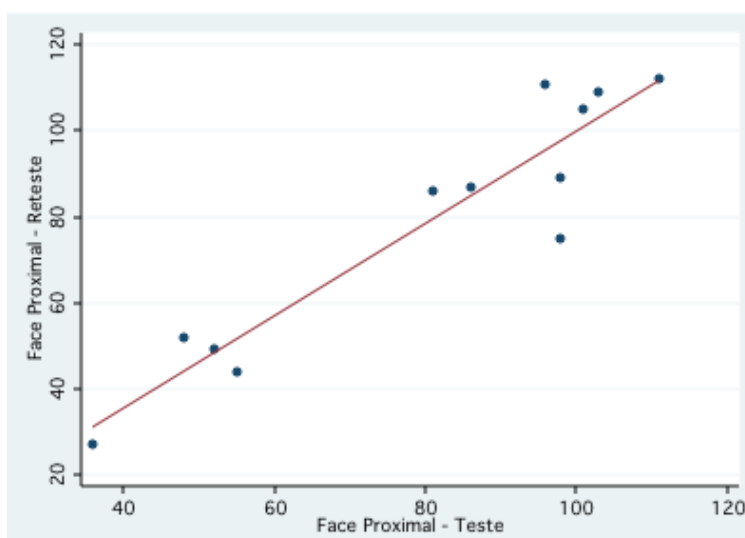
Gráficos tipo Scatter e Coeficiente de Correlação Intraclasse (CCI) foram gerados para avaliar a reprodutibilidade. Nos Gráficos 1 e 2 podem-se observar correlações positivas/ascendentes e de intensidade forte entre as medidas repetidas de faces livres e de faces proximais. O CCI dessas medidas foi de 0,96 nas faces livres e de 0,89 nas faces proximais. É importante ressaltar que os valores obtidos para o CCI tanto das medidas de faces livres quanto proximais são considerados excelentes pela literatura.

Gráfico 1 - Gráfico tipo Scatter correlacionando as medidas de face livre



Fonte: do autor

Gráfico 2 - Gráfico tipo Scatter correlacionando as medidas de face proximal



Fonte: do autor

2.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul tendo sua aprovação registrada sob o número 18979. O mesmo obedeceu às normas propostas pela Declaração Universal dos Direitos dos Animais (UNESCO – 27 de janeiro de 1978) e das Orientações Éticas Internacionais para Pesquisa Biomédica Envolvendo Animais (Council for International Organizations of Medical Sciences – CIOMS).

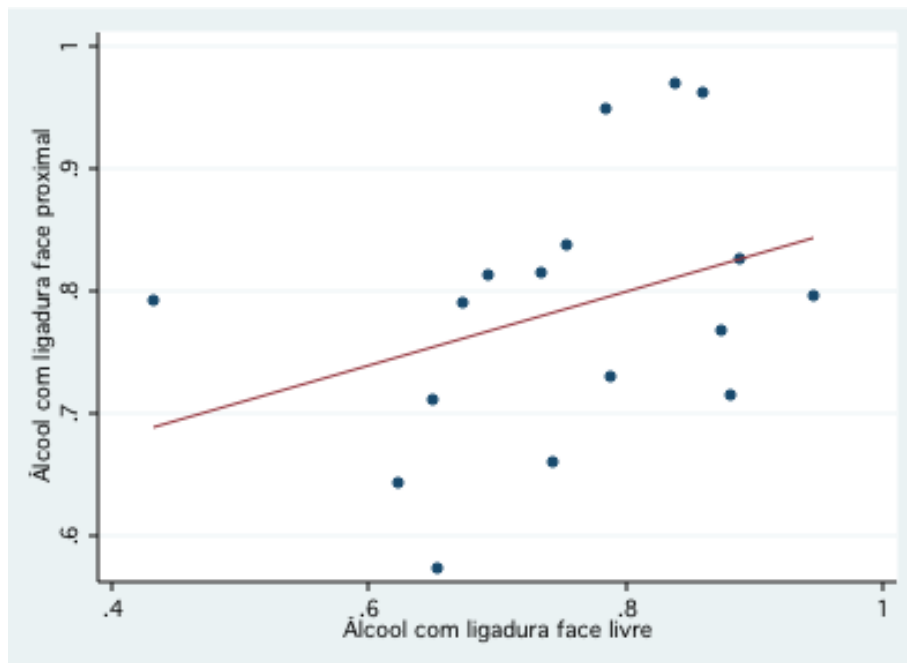
2.8 ANÁLISE DOS DADOS

Testes paramétricos foram utilizados para determinar as possíveis correlações e diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, uma vez que os dados apresentaram uma distribuição normal. O Coeficiente de Correlação de Pearson (ρ) foi utilizado para determinar o grau de correlação entre as medidas de face livre e as medidas de face proximal. Assumiram-se os seguintes pontos de corte para o ρ ($> 0,70$ forte correlação; $0,30$ a $0,70$ moderada correlação; $< 0,30$ baixa correlação).

3 RESULTADOS

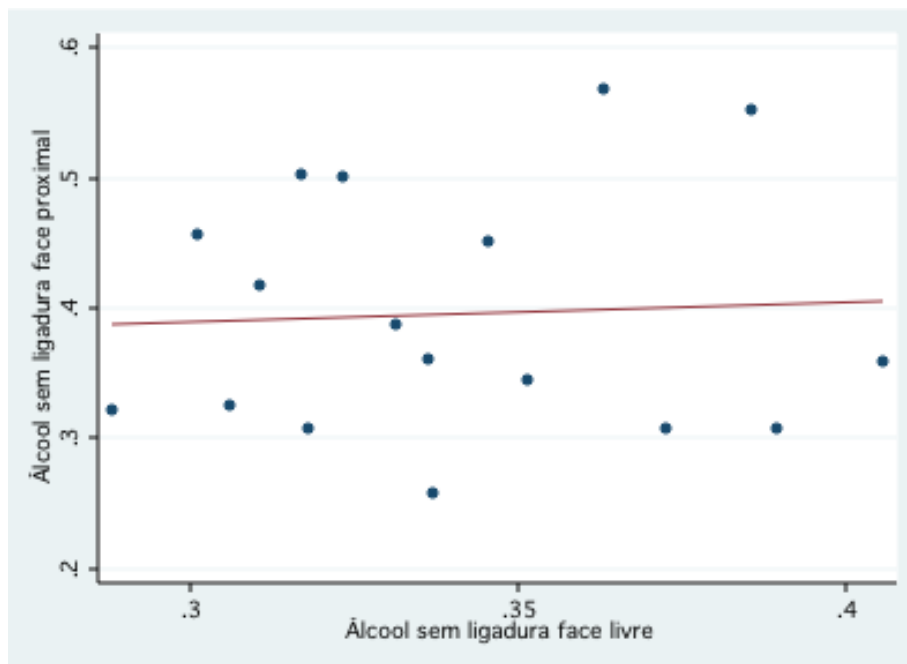
Em todas as comparações realizadas, a correlação entre as variáveis apresentou direção positiva/ascendente (Gráficos 3-6). No entanto, o Coeficiente de Correlação de Pearson (ρ) apresentou índice moderado (Gráficos 3, 5, 6) e baixo (Gráfico 4). O ρ entre as medidas de face livre e medidas de face proximal foi de 0,35 e 0,05 nos grupos teste com e sem ligadura, respectivamente. Entre os grupos experimentais avaliados, os que mostraram as melhores correlações entre as medidas de face livre e as medidas de face proximal foram observados nos animais do grupo controle com ligadura (Gráfico 5, $\rho=0,59$) e grupo controle sem ligadura (Gráfico 6, $\rho=0,65$).

Gráfico 3 - Gráfico tipo scatter correlacionando as faces livres e proximais nos grupos teste com ligadura.



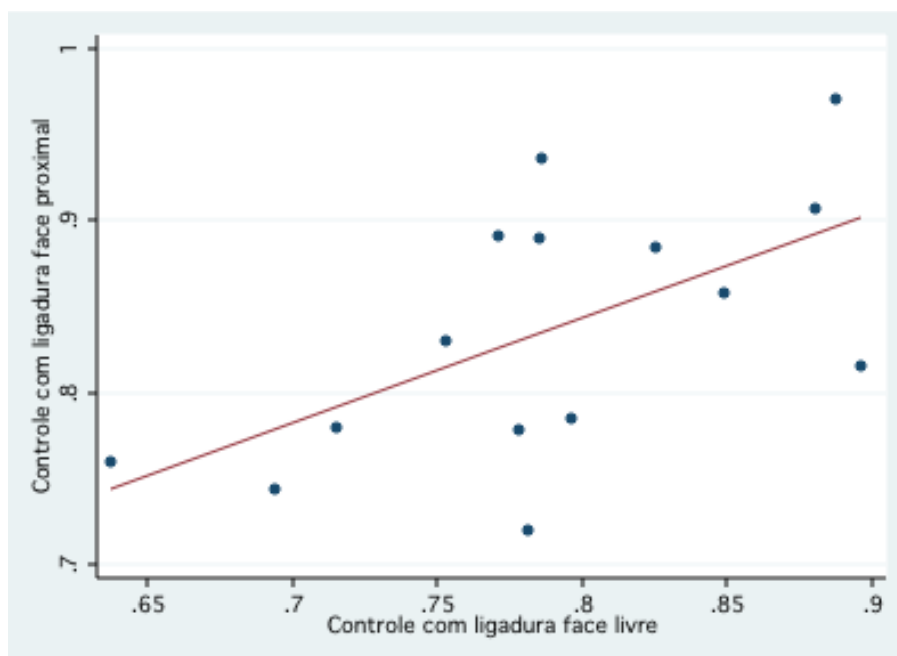
Fonte: do autor

Gráfico 4 - Gráfico tipo scatter correlacionando as faces livres e proximais nos grupos teste sem ligadura.



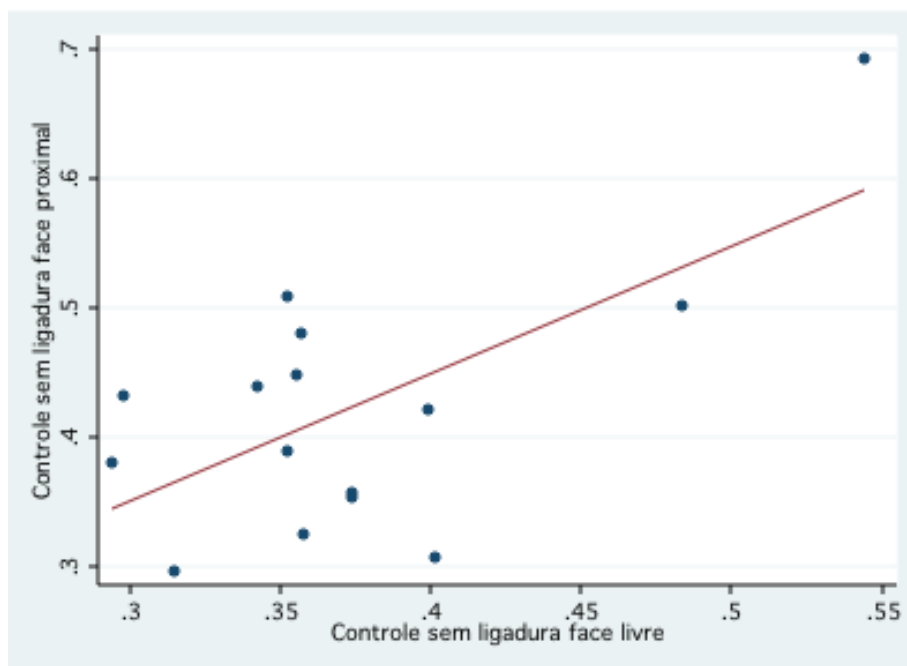
Fonte: do autor

Gráfico 5 - Gráfico tipo scatter correlacionando as faces livres e proximais nos grupos controle com ligadura.



Fonte: do autor

Gráfico 6 - Gráfico tipo scatter correlacionando as faces livres e proximais nos grupos controle sem ligadura.



Fonte: do autor

4 DISCUSSÃO

O presente estudo objetivou avaliar comparativamente medidas de perda óssea alveolar induzida por ligadura em ratos Wistar, em faces livres e proximais, obtidas a partir de espécimes de um estudo experimental controlado. Observou-se que, para o grupo controle, o qual não foi submetido a nenhuma intervenção, as medidas obtidas apresentaram boa correlação.

Estudos experimentais em animais são fundamentais no contexto da pesquisa da etiopatogênese dos processos mórbidos. Essa situação está embasada na necessidade de conhecimento de diferentes interferências na cadeia causal das doenças, as quais dificilmente conseguem ser diretamente realizadas em humanos por razões éticas e, também, por impossibilidade de isolamento de variáveis, possíveis em modelos animais (SUSIN; RÖSING, 2002; GRAVES et al., 2008).

O estudo da doença periodontal em modelos animais tem sido realizado há bastante tempo. Obviamente, tem por objetivo conhecer parte do processo relacionado ao desfecho final da doença periodontal destrutiva: a perda óssea, que será responsável pela perda dentária. Entretanto, é importante que se tenha claro que os dados obtidos de estudos em animais são um passo na construção do conhecimento e, portanto, não devem ser diretamente extrapolados para situações clínicas (OZ; PULEO, 2011)

Um dos aspectos importantes a serem ressaltados no presente estudo é que os potenciais benefícios do entendimento da patogênese da destruição periodontal em ratos podem transcender a odontologia. Na área da saúde, é bastante difícil, com medidas objetivas e reproduzíveis, quantificar inflamação. Isso tem sido realizado, predominantemente, por análises de quantidade e intensidade de infiltrado inflamatório. No caso específico da doença periodontal, o processo inflamatório tem como efeito uma destruição tecidual quantificável por critérios objetivos. Nesse sentido, os modelos experimentais de indução de doença periodontal em animais têm potencial de serem também aproveitáveis para estudo de outros processos inflamatórios crônicos do organismo, se o objetivo é entender a cadeia de eventos e isolar variáveis. Essas medidas são reproduzíveis e, no presente estudo, tanto nas faces livres como nas faces proximais, os coeficientes de correlação intraclasse

aproximaram do valor de 0,9, o que é considerado excelente. Modelos experimentais como o do presente estudo são úteis na medida em que permitem o adequado cegamento do examinador, além de análises repetidas, o que aumenta a qualidade da informação gerada no contexto etiopatogênico.

No entanto, uma série de discussões permeia o estudo da etiopatogenia das doenças periodontais destrutivas. Uma das discussões vincula-se ao modelo de indução de doença. Diferentes formas de indução de doença periodontal têm sido propostas e utilizadas, incluindo a colocação de ligaduras no sulco gengival, inoculação bacteriana, ou de seus produtos finais como lipopolissacarídeos (OZ; PULEO, 2011). As ligaduras têm sido amplamente utilizadas e, contrariamente ao senso comum, estudos demonstram que a presença de ligaduras em ratos livres de infecção e/ou que tomaram antibióticos, redundou em perda óssea insignificante (ROVIN; COSTICH; GORDON, 1966). Nesse sentido, é possível inferir que a ligadura é um método confiável para representar o desafio que vai desencadear o processo inflamatório, resultando em destruição periodontal.

Também é importante ressaltar que a forma como se mede o desfecho desse modelo experimental é motivo de discussão. É possível medir a destruição periodontal por exames histométricos, morfométricos e, também por recursos de imagem. Estudos de Fernandes et al. (2007), Park et al. (2007) e Wilensky et al. (2005) demonstraram que todas essas formas de medição do desfecho são possíveis e têm capacidade de diferenciar intervenções. É importante que se tenha em mente que as medidas morfométricas, dentre as apresentadas, são as que são menos sujeitas a vieses no posicionamento dos cortes/imagens.

Assumindo-se que as formas supracitadas de avaliação permitem detecção de perda óssea, outra discussão surge, relativa à qual seria o local mais adequado para medição do desfecho. Nesse sentido, a literatura também tem procurado, a partir de análises comparativas, verificar se existem diferenças importantes dependendo da forma de análise. Liberman et al. (2011) compararam análises de medidas lineares e de área em faces livres de ratos submetidos à indução de destruição periodontal por ligadura e observaram que ambas as formas são passíveis de utilização.

Diferentes estudos têm abordado a medição de formas distintas. Por exemplo, alguns estudos têm medido a destruição na área da furca, outros em sítios proximais, outros em áreas vestibulares e linguais, alguns com uma única medida, outros com medidas repetidas, etc. (SOUZA et al., 2010; MITSUTA; HORIUCHI; SHINODA, 2002; BARROS et al., 2003; BJÖRNSSON et al., 2003; DUARTE et al., 2004; CESAR-NETO et al., 2005; NIIKURA; TAKESHITA; CHIDA, 2005; VACAS et al., 2008; FINE et al., 2009). Uma busca na literatura publicada no Medline realizada por esse grupo de pesquisa não encontrou estudos em ratos que houvessem comparado a perda óssea alveolar induzida por ligadura entre faces livres e proximais. Ainda que a medição da perda óssea alveolar por ligadura em faces proximais seja de mais difícil execução, a idéia baseou-se nas diferenças demonstradas na prevalência e extensão da doença periodontal nas faces proximais (ALBANDAR; BRUNELLE; KINGMAN, 1999). Da mesma forma como os estudos que medem a perda óssea alveolar em ratos em áreas de furca, sugerindo que essa seria a melhor área para medição, em função da maior destruição nessa área, o que permitiria mais facilmente detectar diferenças, a média em faces proximais poderia revelar situação semelhante.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram, nos grupos que não foram submetidos a nenhuma intervenção (somente ligadura), tanto no lado com como no lado sem ligadura, uma correlação positiva entre as medidas de faces livres e proximais. No grupo que foi submetido a uma intervenção, essas correlações foram de menor intensidade. Isso pode ser explicado pelo fato de que, quando se tem um fator modificador, mais facilmente fatores outros podem interferir nos desfechos. É interessante ressaltar que alguns estudos têm demonstrado diferenças entre os grupos somente no lado sem ligadura (LIBERMAN et al., 2011). Isso tem sido objeto de reflexão na pesquisa de etiopatogênese das doenças periodontais em animais e explicações ainda são escassas. Apesar disso, observa-se que a presença de ligadura é capaz de induzir destruição periodontal nas faces livres, proximais e na furca. Em nosso estudo, para o grupo controle, no lado com ligadura, verificou-se um $p=0,59$, e no lado sem ligadura, o valor foi de $p=0,65$. Esse maior valor do coeficiente de correlação corrobora que, sem interferências, as chances de maiores associações entre as medidas aumentam.

Assim, os resultados do presente estudo são desafiadores e demonstram que tanto nas faces livres quanto nas proximais é possível detectar, após período experimental, destruição do periodonto. Assim, é facultado ao pesquisador fazer a medição no lugar que achar mais adequado para sua hipótese de pesquisa. Com os resultados do presente estudo, dispensam-se análises em faces livres e proximais no mesmo estudo.

5 CONCLUSÃO

Em modelos de destruição periodontal induzida por ligadura, há correlação entre a perda óssea medida em faces livres e proximais. A correlação é mais forte em animais que não foram submetidos à intervenção. Tanto nos lados com, como nos lados sem ligadura, é possível detectar perda óssea em faces livres e em faces proximais.

REFERÊNCIAS

- ALBANDAR, J.M.; BRUNELLE, J.A.; KINGMAN, A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. **J. Periodontol.**, Copenhagen, v. 70, no.1, p. 13-29, Jan. 1999.
- BARROS, S.P. et al. Parathyroid hormone protects against periodontitis-associated bone loss. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 82, no.10, p. 791-795, Oct. 2003.
- BJÖRNSSON, M.J. et al. The influence of diet consistence, drinking water and bedding on periodontal disease in Sprague-Dawley rats. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v. 38, no. 6, p. 543-550, Dec. 2003.
- CAVAGNI, J. et al. The effect of dexamethasone in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar rats. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 19, no. 4, p. 290-294, Oct.-Dec. 2005.
- CESAR-NETO, J. B. et al. Smoking cessation may present a positive impact on mandibular bone quality and periodontitis-related bone loss: a study in rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 76, no. 4, p. 520-525, Apr. 2005.
- DAUDT, L.D. et al. Effect of inhaled corticosteroid on TNF- α production and alveolar bone loss in Wistar rats. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 56, no. 11, p. 1398-1403, Nov. 2011.
- DUARTE, P.M. et al. Effect of an estrogen-deficient state and its therapy on bone loss resulting from an experimental periodontitis in rats. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v. 39, no. 2, p. 107-110, Apr. 2004.
- FERNANDES, M. I. et al. Comparison of histometric and morphometric analyses of bone height in ligature-induced periodontitis in rats. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 21, no. 3, p. 216-221, July/Sept. 2007.
- FINE, D.H. Of mice and men: animal models of human periodontal disease. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 36, no. 11, p. 915-921, Nov. 2009.
- FINE, D.H. et al. An improved cost-effective, reproducible method for evaluation of bone loss in a rodent model. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 36, no. 2, p. 106-113, Feb. 2009.
- GRAVES, D.T. et al. The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 35, no. 2, p. 89-105, Feb. 2008.
- KLAUSEN, B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 62, no. 1, p. 59-73, Jan. 1991.

- KUHR, A. et al. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. **J. Periodontol. Res.**, Copenhagen, v. 39, no. 2, p. 101-106, Apr. 2004.
- LI, C.H.; AMAR, S. Morphometric, histomorphometric, and microcomputed tomographic analysis of periodontal inflammatory lesions in a murine model. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 78, no. 6, p. 1120-1128, June 2007.
- LIBERMAN, D.N. et al. Low concentration alcohol intake may inhibit spontaneous alveolar bone loss in Wistar rats. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 56, no. 2, p. 109-113, Feb. 2011.
- LIBERMAN, D.N. et al. Comparison of two methods for alveolar bone loss measurement in an experimental periodontal disease model in rats. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 25, no. 1, p. 80-84, Jan./Feb. 2011.
- MITSUTA, T.; HORIUCHI, H.; SHINODA, H. Effects of topical administration of clodronate on alveolar bone resorption in rats with experimental periodontitis. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 73, no. 5, p. 479-486, May 2002.
- NIKURA, K. TAKESHITA, N. CHIDA, N. A novel inhibitor of vacuolar ATPase, FR202126, prevents alveolar bone destruction in experimental periodontitis in rats. **J. Toxicol. Sci.**, Sapporo, v. 30, no. 4, p. 297-304, Dec. 2005.
- OZ, H.S.; PULEO, D.A. Animal models for periodontal disease. **J. Biomed. Biotechnol.**, Akron, 2011. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/jbb/2011/754857/>>. Acesso em: 28.nov.2011.
- PAGE, R.C.; KORNMAN, K.S. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. **Periodontol. 2000**, Copenhagen, v. 14, p. 9-11, June 1997.
- PARK, C.H. et al. Three-dimensional micro-computed tomographic imaging of alveolar bone in experimental bone loss or repair. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 78, no. 2, p. 273-281, Feb. 2007.
- ROVIN, S.; COSTICH, E.R.; GORDON, H.A. The influence of bacteria and irritation in the initiation of periodontal disease in germfree and conventional rats. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v. 1, no. 3, p. 193-204, 1966.
- SEMENOFF SEGUNDO, A. et al. Methodological model of chronic stress associated with ligature-induced periodontitis in rats: a radiographic study. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 24, no. 4, p. 455-459, Oct./Dec. 2010.
- SEMENOFF, T.A. et al. Histometric analysis of ligature-induced periodontitis in rats: a comparison of histological section planes. **J. Appl. Oral Sci.**, Bauru, v. 16, no. 4, p. 251-256, July/Aug. 2008.
- SOUZA, D.M. et al. Evaluation of two morphometric methods of bone loss percentages caused by periodontitis in rats in different locations. **J. Appl. Oral Sci.**, Bauru, v. 18, no. 5, p. 493-497, Sept./Oct. 2010.

SUSIN, C.; RÖSING, C.K. O rato como modelo para o estudo das repercussões do estresse nas doenças periodontais. **Periodontia.**, Rio de Janeiro, v. 13, no. 6, p. 7-17, 2002.

VACAS, M.I. et al. Influence of submandibulectomy on alveolar bone loss in rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 79, no. 6, p. 1075-1080, June 2008.

WILENSKY, A. Three-dimensional quantification of alveolar bone loss in Porphyromonas gingivalis-infected mice using micro-computed tomography. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 76, no. 8, p. 1282-1286, Aug. 2005.