



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



LUANA ELIS SABINO

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PARÂMETROS NA ANÁLISE
POR MICROTOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA (MICRO CT) NA DOENÇA
PERIODONTAL INDUZIDA EM RATOS**

Araraquara

2017



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



LUANA ELIS SABINO

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PARÂMETROS NA ANÁLISE
POR MICROTOMOGRÁFIA COMPUTADORIZADA (MICRO CT) NA DOENÇA
PERIODONTAL INDUZIDA EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia Área de concentração – Biociências, Biomateriais e Ciências Forenses, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

**Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosemary Adriana
Chiéríci Marcantonio**

**Araraquara
2017**

Sabino, Luana Elis

Avaliação da influência de diferentes parâmetros na análise por microtomografia computadorizada (Micro CT) na doença periodontal induzida em ratos / Luana Elis Sabino. -- Araraquara: [s.n.], 2017

44 f.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Biociências, Biomateriais e Ciências Forenses) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia Orientadora: Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio Co-orientador: Prof. Dr. Rubens Spin Neto

1. Microtomografia por Raio-x
2. Doenças periodontais
3. Osteogênese
4. Reabsorção

LUANA ELIS SABINO

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PARÂMETROS NA ANÁLISE
POR MICROTOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA (MICRO CT) NA DOENÇA
PERIODONTAL INDUZIDA EM RATOS**

Comissão Julgadora

Dissertação para obtenção do grau de mestre

Presidente e Orientadora: Rosemary Adriana C. Marcantonio (FOAr)

2º Examinador: Guilherme José Lopes Pimentel de Oliveira

3º Examinador: Rafael Silveira Faeda

Araraquara, 04 de agosto de 2017

DADOS CURRICULARES

LUANA ELIS SABINO

NASCIMENTO: 20-07-1983 Araraquara – SP

FILIAÇÃO: Osvaldo Miguel Sabino
Leonice de Azevedo Sabino

2009-2012: Graduação em Ciências Biológicas
Universidade de Araraquara – UNIARA
São Paulo, Brasil

2015- atual: Pós-Graduação em Odontologia – de Área de concentração
Biociências, Biomateriais e Ciências Forenses – nível Mestrado
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade
de Odontologia de Araraquara - UNESP, São Paulo, Brasil

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu pai Osvaldo Miguel Sabino, minha mãe Leonice de Azevedo Sabino (*in memória*) e aos meus sobrinhos Maria Fernanda, Safira e Lucas, por serem o meu porto seguro em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço a Deus por estar sempre presente em minha vida, renovando minhas forças diariamente.

À minha orientadora Dra. Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio pela confiança, apoio e generosidade recebidos bem antes do início deste trabalho. Muito obrigada por tudo.

Ao meu co-orientador Rubens Spin Neto pela fundamental colaboração na execução deste trabalho.

Ao meu amigo Cássio Scardueli por toda sua ajuda, parceria singular e amizade durante a realização deste trabalho e também por suas histórias engraçadas e risadas que demos juntos no laboratório.

Ao meu amigo Anderson Cunha por todo seu companheirismo, ajuda e esclarecimentos quando estive diante de dúvidas, você foi e é um amigo que veio de Salvador no momento certo.

Às minhas colegas de pós-graduação Paula Macedo e Sâmara Tfaile pela efetiva colaboração na primeira etapa do trabalho.

À minha avó Lindaura Azevedo por toda sua entrega e amor ao longo da minha vida. Seu exemplo de vida me faz querer seguir em frente sempre. Te amo.

AGRADECIMENTOS

Às minhas queridas amigas Fabricia Borges e Juliana Damieli por todo amor e companheirismo há quase uma década de amizade. Vocês são minha minhas irmãs de alma. Amo vocês.

À toda minha família pelo exemplo de união e empatia ao próximo. Vocês são minha base.

À Claudinha pelos momentos descontraídos, pelos conselhos e por toda partilha de conhecimentos.

Aos funcionários da Seção da Pós-Graduação, José Alexandre e Cristiano por todo comprometimento com o trabalho que vocês exercem.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela verba concedida para aquisição do Microtomógrafo (processo 2009/54080-0).

*Depois de escalar uma montanha muito alta, descobrimos que há
muitas outras montanhas por escalar
(Nelson Mandela)*

Sabino LE. Avaliação da influência de diferentes parâmetros na análise por microtomografia computadorizada (Micro CT) na doença periodontal induzida em ratos [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017.

RESUMO

Trabalhos in vivo têm utilizado a microtomografia computadorizada para avaliar a qualidade e quantidade de tecido ósseo presente durante o desenvolvimento de doença periodontal induzida. No entanto, ainda não foram estudados quais os melhores e mais confiáveis padrões estabelecidos para o adequado uso da técnica de Micro CT. O objetivo deste estudo foi avaliar a geração de artefatos e ruídos durante o escaneamento de biópsias ósseas bem como, analisar a influência de diferentes parâmetros estabelecidos durante a mensuração de área e volume ósseo, em modelo experimental de doença periodontal induzida em ratos. Para análise dos diferentes parâmetros de escaneamento com o Micro CT foram utilizados 05 animais aleatoriamente selecionados e submetidos a inserção de ligaduras na região subgengival dos segundos molares superiores. Após o período de 7 dias os animais foram eutanasiados e as biópsias ósseas escaneadas utilizando resoluções de 9 μm e 18 μm , com diferentes filtros: alumínio (0,2 mm, 0,5 mm e 1 mm) e cobre+alumínio (Cu 0,04 mm + Al 0,5 mm). Posteriormente foram definidas duas regiões de interesse (ROI's) ao redor dos segundos molares, de modo que foi somente analisado o tecido ósseo. Após determinação da área de interesse, a quantidade de tecido ósseo foi avaliada e quantificada por meio do software CTAn, a partir de 5 valores de thresholds: 255-75, 255-80, 255-85, 255-70, 255-65. Quando diferentes *thresholds* foram analisados dentro de um mesmo filtro, somente o filtro de Al 0,2 mm apresentou diferença estatística para todas comparações (9 μm e 18 μm). Já quando diferentes filtros foram comparados com o

mesmo *threshold*, apenas a comparação Al 0,2 mm x Cu + Al apresentou diferenças estatísticas para todas as comparações, com exceção para comparações entre Al 0,1 mm x Al 0,2 mm (*threshold* 255-65 com resolução de 18 μm). Diante dos resultados apresentados, conclui-se que, avanços e padronizações utilizadas em análises microtomográficas para a avaliação de perda óssea em doença periodontal induzida devem ser realizadas com objetivo de maior fidelização dos dados, podendo serem assim, compatíveis com outras análises com avaliações histomorfométricas.

Palavras-chave: Microtomografia por Raios-X. Doenças periodontais. Osteogênese. Reabsorção óssea.

Sabino LE. Evaluation of different parameters of the computerized microtomography analysis in experimental periodontitis in rats [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017

ABSTRACT

In vivo studies have used a computerized microtomography (Micro CT) to assess a quality and amount of tissue present in the development of induced periodontal disease. However, have not yet studied which are the most reliable standards established for the proper use of the Micro CT technique. The objective of this study was to evaluate the generation of artifacts during biopsy scanning, as well as the analysis of different parameters defined in an area and bone volume measurement in an experimental model of periodontal disease induced in rats. To analyze the different detection parameters of microcomputers with selected animals and submitted to insertion of ligatures in the subgingival region of the upper second molars. After the 7-day period the animals were used as bone biopsies scanned using resolutions of 9 μm and 18 μm , with different filters: aluminum (0.2 mm, 0.5 mm and 1 mm) and copper + aluminum (Cu 0.04 mm + 0.5 mm). Subsequently, two regions of interest (ROI's) were defined around the second molars, in the way the bone tissue was analyzed. After determining the area of interest, the amount of bone tissue was evaluated and quantified using the CTAn software, from 5 threshold values: 255-75, 255-80, 255-85, 255-70, 255-65. When different thresholds were analyzed within the same filter, only the 0.2 mm Al filter presented statistical difference for all comparisons (9 μm and 18 μm). Already when the different filters with the same threshold were compared, it is only one comparison Al 0.2 mm x Cu + Al presented statistical difference for all

comparisons, except for comparisons between Al 0.1 mm x 0.2 mm (threshold 255 - 65 with resolution of 18 μ m). It was concluded that advances and standardization in microtomographic analysis to evaluate bone loss in induced periodontal disease should be performed with the objective of greater fidelity of the data, thus being compatible with other analyzes with histomorphometric evaluation.

Keywords: X-Ray Microtomography. Periodontal diseases. Osteogenesis, Bone reabsorption.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 PROPOSIÇÃO.....	18
2.1 Hipótese.....	18
2.1.1 Hipótese nula	18
2.1.2 Hipótese alternativa	18
2.2 Objetivo geral	18
2.2.1 Objetivos específicos	18
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 Indução da doença periodontal	19
3.2 Análise por microtomografia computadorizada (Micro CT)	20
3.3 Análise estatística.....	23
4 RESULTADOS	24
5 DISCUSSÃO.....	34
6 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40
ANEXO	44

1 INTRODUÇÃO

O osso é um tecido conjuntivo altamente especializado que possui a capacidade de se remodelar em diversas condições, sejam elas patológicas, funcionais ou regenerativas. Informações sobre as alterações microestruturais ósseas são de grande importância no campo das pesquisas odontológicas e biomédicas. (Kido et al.¹⁴,2014).

A mensuração da quantidade e qualidade do tecido ósseo pode ser realizada por meio de diferentes técnicas, incluindo procedimentos radiográficos, análises histológicas, morfométricas e reações imuno-histoquímicas (Pavone et al.²²,2014; Perussi²¹,2012; Nociti¹⁸,2002). No entanto, além de permitir apenas uma avaliação linear ou bidimensional (2D), estas técnicas apresentam desvantagens como a destruição das amostras teciduais, dificuldade na padronização de inclusão das amostras em parafina, presença de artefatos e dificuldade para estabelecer um padrão radiográfico entre as imagens. (Basillais et al.¹,2007).

Para melhorar e complementar os resultados obtidos com os métodos convencionais, a microtomografia computadorizada (Micro-CT) tem sido utilizada para avaliação tridimensional (3D) dos tecidos duros (Hanson¹¹,2004; Ritman²³,2011). Trata-se de uma técnica não destrutiva que permite a reconstrução em 3D das imagens, possibilitando maior reprodutibilidade e acurácia durante a avaliação de estruturas anisotrópicas, como o tecido ósseo. Associado a isso, com a análise de Micro CT é possível obter informações sobre a geometria, porosidade, densidade mineral, área e

volume dos ossos trabeculares e corticais (Basillais et al.¹, 2007; Buxsein², 2010; Davis⁵, 1996).

Inúmeros estudos in vivo têm utilizado a microtomografia computadorizada para mensurar a perda óssea alveolar durante o processo de periodontite experimental em ratos (Park et al.²⁰, 2007; Liu¹⁶, 2010; Coimbra⁴, 2011). Em 2005, Wilensky et al.²⁷ analisaram o volume de perda óssea alveolar em ratos submetidos à indução de doença periodontal. Os dados foram analisados pelos métodos histomorfométricos convencionais e por Micro CT (μ CT 40, Scanco Medical AG, Bassersdorf, Suíça). Segundo os autores, diferenças significantes entre os grupos controle (sem doença) e doença experimental (injeção de *P. gingivalis*) foram detectadas somente por meio da análise de Micro CT. O grupo de pesquisadores atribuiu a diferença entre os resultados à grande acurácia e sensibilidade da análise com o Micro CT e às limitações da técnica histológica/histométrica. Outra vantagem também relatada pelos autores neste estudo foi a necessidade de um menor número de animais para cada grupo experimental.

Trabalhos como os realizados por Uchiyama et al.²⁵, 1997 e Müller et al.¹⁷, 1997, também compararam a análise histomorfométrica com o Micro CT (Nittetsu Elex, Osaka, Japão e μ CT 40, Scanco Medical AG, Bassersdorf, Suíça, respectivamente). Em ambos os estudos houve alta correlação entre as técnicas, no entanto, os autores relataram que a avaliação em 3D das imagens mostrou maior precisão e novas possibilidades de mensurações e conhecimento das estruturas dos tecidos ósseos (Yeom²⁸, 2008).

A técnica de Micro CT pode ainda ser utilizada para quantificar a neoformação óssea em defeitos críticos confeccionados na região de calota,

Song ²⁴ ,2014, avaliou a formação óssea ao redor de implantes durante os estágios de osseointegração (Li ¹⁵ ,2014; Finelle ⁹ ,2015) e lesões periapicais (Kalatzis¹³ ,2017). Devido ao uso crescente do Micro (Efeoglu⁸ ,2017; Efeoglu et al.⁷ , 2009) hoje há no mercado diferentes marcas e modelos de microtomógrafos, o que resultou em diferentes *softwares* para escaneamento, reconstrução e aquisição das imagens, bem como para sua análise e interpretação dos resultados obtidos. Deste modo, o grande desafio no uso da Micro CT tem sido estabelecer os corretos padrões para escaneamento e tratamento das imagens, o que impossibilita que se obtenha o máximo desempenho do equipamento e dificulta a comparação dos achados entre diferentes estudos.

Embora seja uma técnica promissora com inúmeras aplicações, diversos fatores podem influenciar a análise por Micro CT, e entre os mais importantes estão: resolução, distância entre o objeto e a fonte de radiação, presença de artefatos, uso de diferentes tipos de filtros e resoluções durante o escaneamento da amostra, definição da região de interesse (ROI) e adequado ajuste do *threshold* (Ding ⁶ ,1999; Palacio ¹⁹ ,2014).

Um dos poucos trabalhos desenvolvidos com o objetivo de avaliar a influência de um desses parâmetros foi realizado por Chang et al.³ ,2013. Neste estudo in vivo, os autores avaliaram qual seria o método de definição de tons de cinza (*threshold*) mais confiável e compatível com a análise histomorfométrica durante a avaliação da perda óssea periodontal. Após análise dos resultados, os autores concluíram que diferentes *thresholds* podem influenciar a correta quantificação de tecido ósseo presente e que a

maior correlação entre o Micro CT e análise histométrica foi obtida por meio de um *threshold* definido pelos autores (*local algorithm*) (Chang et al.³, 2013).

Com a aquisição do microtomógrafo SkyScan (SkyScan 1176 Bruker MicroCT, Aatselaar, Bélgica, 2003) por meio do projeto Multiusuário da FAPESP (Processo **2009/54080-0**), estudos com análise tridimensional de amostras de calota de ratos estão sendo desenvolvidos na Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP e os resultados preliminares obtidos mostraram que mudanças nos parâmetros de uso do Micro CT interferem diretamente nas avaliações de área, volume e densidade mineral de tecido ósseo neorformado em diferentes regiões. Mesmo diante de tantos estudos publicados utilizando análise por microtomografia, não existe na literatura trabalhos que descrevam quais os melhores e mais confiáveis padrões desenvolvidos para a técnica de Micro CT, desde o escaneamento até o uso dos *softwares* disponíveis para quantificar e analisar o tecido ósseo presente em determinada região.

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Hipótese

2.1.1 Hipótese nula

A utilização de diferentes parâmetros (thresholds, filtros e resoluções) durante o escaneamento, não alteram a análise do volume ósseo.

2.1.2 Hipótese alternativa

Quando diferentes parâmetros são utilizados durante o escaneamento, a análise do volume ósseo pode ser influenciada.

2.2 Objetivo geral

Ao se utilizar Micro CT, a definição de diferentes parâmetros de escaneamento e análise podem influenciar as mensurações de área e volume de tecido ósseo presente em regiões com doença periodontal induzida.

2.2.1 Objetivos específicos

Avaliar a influência de diferentes parâmetros durante o escaneamento em modelo experimental de doença periodontal induzida em ratos de acordo com: a) resolução utilizada, b) os diferentes tipos de filtros aplicados; c) variações de *thresholds*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (CEUA 29/2014), estando de acordo com regulamentos exigidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (Anexo).

Para este estudo, foram utilizados 05 ratos (*Rattus Norvegicus*), variação *albinus*, *Holtzman*, adultos, pesando em média 300 gramas, provenientes do Biotério da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP onde foram alimentados com ração sólida e com acesso a água *ad libitum*, antes e durante todo o período experimental, mantidos em ambiente com luz e temperatura controladas.

3.1 Indução da doença periodontal

Os animais foram anestesiados por uma combinação de Cloridrato de Quetamina e Cloridrato de Xilazina nas seguintes proporções: 0,08 ml/100 g e 0,04 ml/100 g de massa corporal, respectivamente. Em seguida os animais foram colocados em uma mesa operatória para possibilitar a retração da boca e livre acesso a região maxilar. Aleatoriamente, um dos segundos molares superiores (direito ou esquerdo) foi selecionado para inserção subgengival de ligaduras (fios de algodão, nº 24), com o auxílio de duas pinças hemostáticas e sondas clínicas no tamanho infantil. Após o período de permanência das ligaduras de 7 dias os animais foram eutanasiados com sobredose anestésica. As hemimaxilas foram removidas e submersas em paraformaldeído tamponado 4%, durante 48 horas.

Após este período, as amostras foram lavadas em água corrente por 24 horas e armazenadas em álcool 70% para a realização do escaneamento.

3.2 Análise por microtomografia computadorizada (Micro CT)

A análise de Micro CT foi feita por meio do microtomógrafo Skyscan 1176, Aatselaar, Bélgica, 2003 (Processo **2009/54080-0** FAPESP - Programa Equipamentos Multiusuários 3) no laboratório de Microtomografia in vivo da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

As hemimaxilas de cada animal foram posicionadas no equipamento e as imagens tomográficas foram obtidas com diferentes configurações. As amostras foram escaneadas com os diferentes filtros de alumínio (Al 0,2 mm; Al 1 mm; Al 0,5 mm) e cobre+alumínio (Cu 0,04 mm+Al 0,5 mm) disponíveis no aparelho de microtomografia. Todas as amostras foram escaneadas com cortes de 9 µm e 18 µm de espessura, com passo de rotação de 0.5 mm e *frame averaging* 3.

Após obtenção das imagens com diferentes parâmetros de uso do Micro CT, as imagens foram reconstruídas utilizando o software NRecon (SkyScan, 2011; Versão 1.6.6.0), orientadas e padronizadas de acordo com três planos (transversal, longitudinal e sagital) por meio do software Data Viewer (SkyScan, Versão 1.4.4 64-bit). Em seguida, utilizando o software CTAnalyser – CTAn (2003-11SkyScan, 2012 Bruker MicroCT Versão 1.12.4.0) foram determinadas duas regiões de interesse (ROIs) utilizando as imagens 2D no sentido transaxial.

Os ROIs foram definidos:

ROI-1 – área que abrangeu o tecido ósseo e raízes dos segundos molares compreendida entre o tecido ósseo vestibular/palatino e as raízes do primeiro/terceiro molares (Figura 1 A).

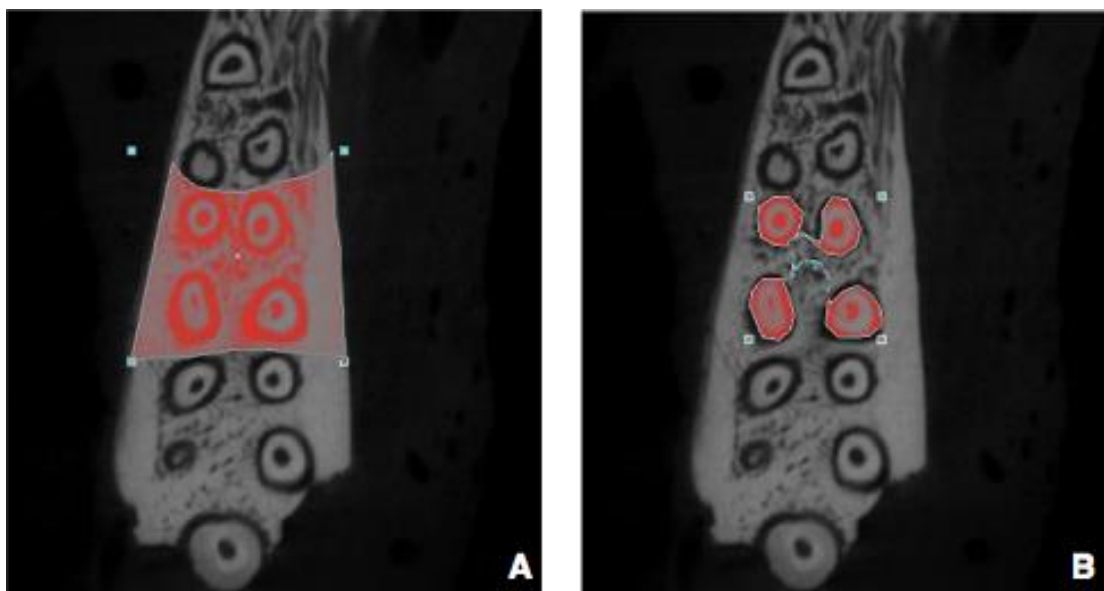
ROI-2 – área correspondente as raízes dos segundos molares (Figura 1 B)

A extensão dos 2 ROIS no sentido corono/apical compreendeu 50 cortes a partir do teto da furca.

Após a delimitação da região de interesse em imagens de 2D, a análise do volume ósseo foi realizada nas imagens em 3D (Figura 2), pela soma coletiva de todos os ROIs de um conjunto contíguo de fatias de imagens coronais, onde foi obtido o porcentual de volume do tecido ósseo presente nas áreas de interesse previamente delimitadas (ROIs). A partir da obtenção dos ROI's, 5 escalas de cinza pré-definidas (*thresholds*) de acordo com a similaridade com tecido ósseo (255-75, 255-80, 255-85, 255-70, 255-65) foram propostos para obtenção dos volumes ósseos. Diante da obtenção de valores numéricos, uma fórmula foi utilizada para obtenção de valores de tecido ósseo do redor das raízes:

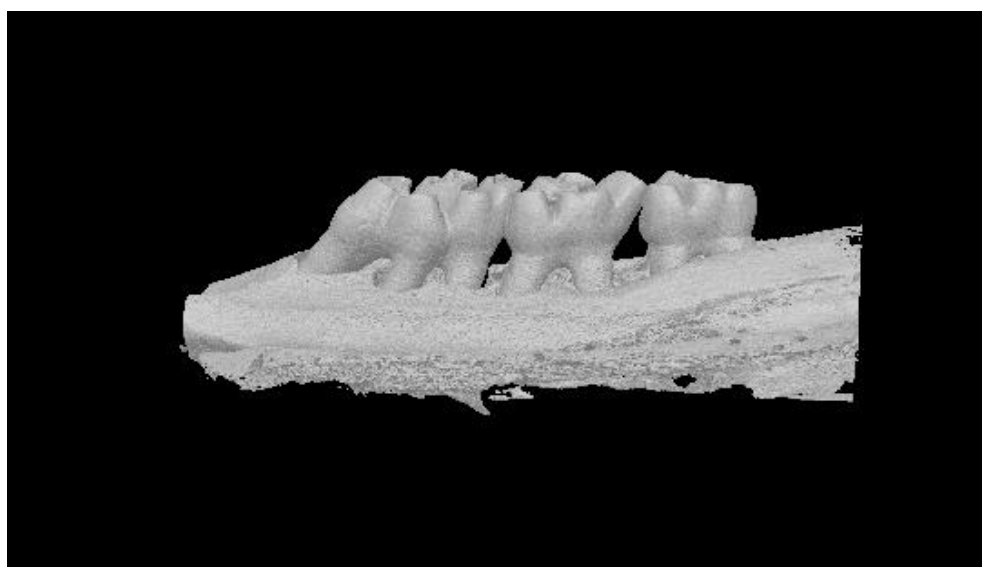
$$(ROI-1) - (ROI-2) = \text{volume tecido ósseo ao redor raízes}$$

Figura 1 - Determinação dos ROI's no software *CTAnalyser – CTAn* (2003-11SkyScan, 2012 *Bruker MicroCT Versão 1.12.4.0*). Imagem A- ROI referente a quantificação total (tecido ósseo e raízes); Imagem B- ROI referente a quantificação de raízes.



Fonte: Arquivo pessoal do autor

Figura 2 - Ilustração do modelo 3D de uma hemimaxila



Fonte: Arquivo pessoal do autor

3.3 Análise estatística

Para as análises estatísticas foi utilizado o programa *Graphpad 5.0* (Graphpad Prism version 5.00 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA). Os dados foram avaliados estatisticamente através do teste de normalidade de D'Ágostino & Pearson. E os dados paramétricos foram avaliados pelo teste ANOVA complementado por Tukey. Em todas as análises foi aplicado o nível de significância de 95%.

4 RESULTADOS

Os dados foram distribuídos para análises dentro de um mesmo filtro: Alumínio (Al 0,5 mm; Al 0,1 mm; Al 0,2 mm) e Cobre + Alumínio (Cu 0,04mm + Al 0,5mm) e resoluções (9 μ m e 18 μ m), comparados com diferentes thresholds (255-65; 255-70; 255-75; 255-80; 255-85). Os dados foram também comparados com o mesmo threshold e para os diferentes filtros e resoluções.

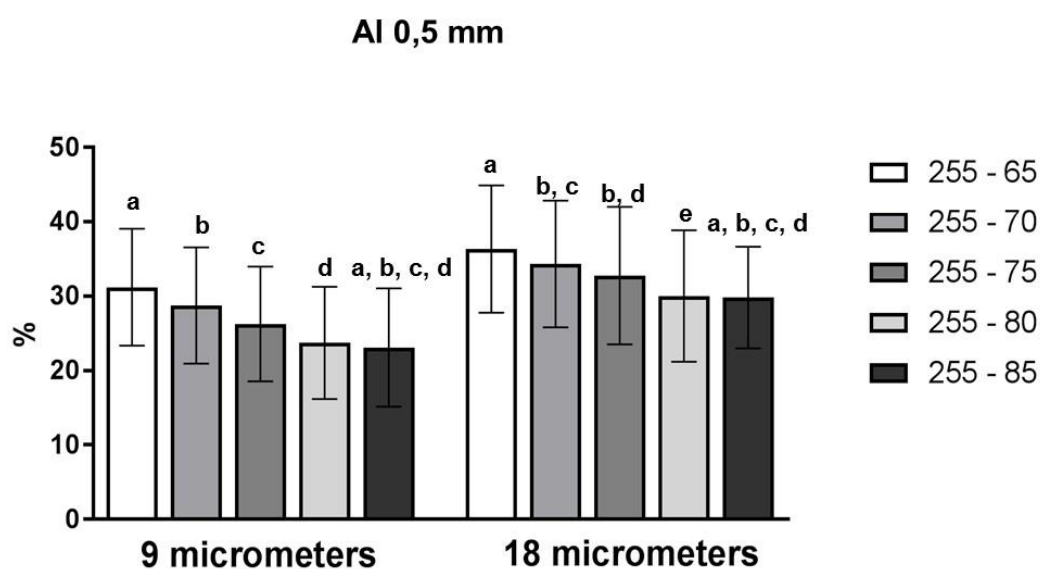
Em uma comparação com filtro de Al 0,5mm e resolução de 9 μ m com diferentes thresholds os dados se apresentaram com diferenças estatísticas entre si, com exceção para uma comparação entre 255-65 x 255-85, 255-70 x 255-85, 255-75 x 255-85, e 255-80 x 255-85 (Tabela 1). Diferentemente, quando usado o mesmo filtro, porém com uma resolução de 18 μ m, os dados também se mostraram diferentes, porém com uma maior ausência de diferença estatística (255-65 x 255-85; 255-70 x 255-75; 255-70 x 255-85; 255-75 x 255-85; 255-80 x 255-85), como demonstrado na Tabela 1. O Gráfico 1 mostra a distribuição dos dados.

Tabela 1 - Valores de p dos resultados de thresholds comparados aos cortes de 9 μm e 18 μm e filtro Al 0,5mm.

Al 0,5 mm					
9 μm					
thresholds	255-65	255-70	255-75	255-80	255-85
255-65		0,0003***	0,0005***	0,0006***	0,0779
255-70			0,0007***	0,0007***	0,2094
255-75				0,0008***	0,5988
255-80					0,9974
255-85					
18 μm					
thresholds	255-65	255-70	255-75	255-80	255-85
255-65		0,0001***	0,0066**	0,0004***	0,0598
255-70			0,0817	0,0012**	0,1690
255-75				0,0188*	0,4823
255-80					>0,9999
255-85					

*** $p < 0,001$; ** $p < 0,005$; * $p < 0,05$
 Fonte: Elaboração própria

Gráfico 1 - Filtro de Al 0,5 mm, com diferentes resoluções em 9 μm e 18 μm nos diferentes thresholds utilizados. Letras iguais não apresentam diferença estatística.



Fonte: Elaboração própria

Na análise com filtro de Al 1 mm e resolução de 9 μm , os dados apresentam - se diferentes estatisticamente, quando os thresholds foram comparados entre si (Tabela 2). Diferentemente, quando utilizado um resolução de 18 μm , algumas comparações não apresentam diferença estatística (255-65 x 255-75; 255-70 x 255-75; 255-75 x 255-80; 255-75 x 255-85; 255-80 x 255-85) (Tabela 2). Os dados também podem ser observados na Gráfico 2.

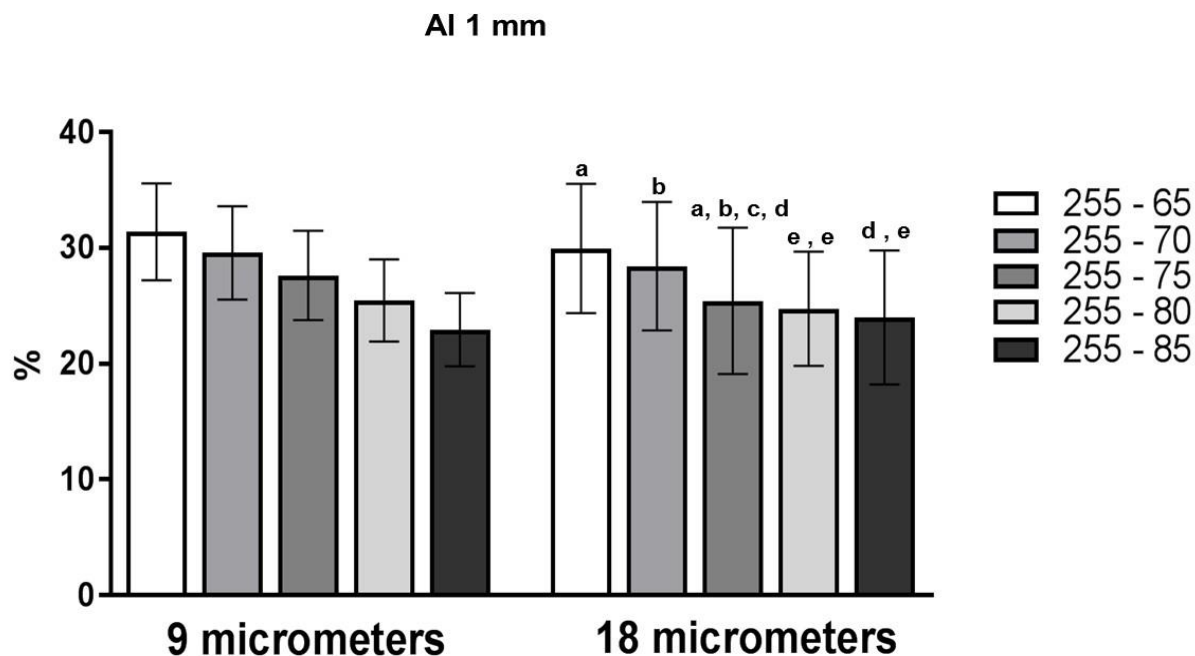
Tabela 2 - Valores de p dos resultados de thresholds comparados aos cortes de 9 μm e 18 μm e filtro Al 1mm.

Al 1 mm					
9 μm					
thresholds	255-65	255-70	255-75	255-80	255-85
255-65		0,0001***	0,0001***	0,0002***	0,0003***
255-70			0,0002***	0,0003***	0,0004***
255-75				0,0005***	0,0007***
255-80					0,0012**
255-85					
18 μm					
thresholds	255-65	255-70	255-75	255-80	255-85
255-65		0,0003***	0,1444	0,0060**	0,0010***
255-70			0,3710	0,0179*	0,0017**
255-75				0,9924	0,8513
255-80					0,8996
255-85					

*** p<0,001; ** p<0,005; * p<0,05

Fonte: Elaboração própria

Gráfico 2 - Filtro de Al 1 mm, com diferentes resoluções em 9 μm e 18 μm . nos diferentes thresholds utilizados. Letras iguais não apresentam diferença estatística



Fonte: Elaboração própria

Na análise com filtro de Al 0,2 mm e resolução de 9 μm , os dados apresentam se diferentes estatisticamente, quando os thresholds foram comparados entre si (Tabela 3). Semelhantemente quando utilizado uma resolução de 18 μm , os dados também se apresentaram diferentes estatisticamente (Tabela 3). Os dados também podem ser observados no Gráfico 3.

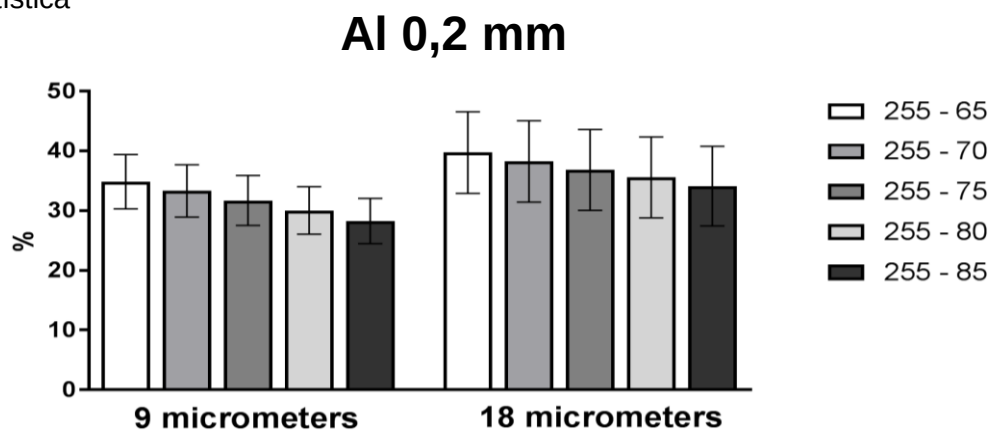
Tabela 3 - Valores de p dos resultados obtidos quando diferentes thresholds foram comparados nos cortes de 9 μm e 18 μm e filtro Al 0,2mm nos diferentes thresholds utilizados.

Al 0,2 mm					
9 μm					
thresholds	255-65	255-70	255-75	255-80	255-85
255-65		0,0003***	0,0003***	0,0003***	0,0003***
255-70			0,0003***	0,0003***	0,0003***
255-75				0,00004***	0,0004***
255-80					0,0004**
255-85					
18 μm					
thresholds	255-65	255-70	255-75	255-80	255-85
255-65		0,0005***	0,0006***	0,0012**	0,0006***
255-70			0,0006***	0,0021**	0,0006***
255-75				0,0089**	0,007***
255-80					0,0020**
255-85					

*** $p < 0,001$; ** $p < 0,005$; * $p < 0,05$

Fonte: Elaboração própria

Gráfico 3 - Valores obtidos com filtro de Al 0.2 mm, com diferentes resoluções em 9 μm e 18 μm . nos diferentes thresholds utilizados. Letras iguais não apresentam diferença estatística



Fonte: Elaboração própria

Na análise com filtro de Cu 0,04 mm +Al 0,5 mm e resolução de 9 μ m, os dados apresentam se diferentes estatisticamente, quando os thresholds foram comparados entre si (Tabela 4). Semelhantemente quando utilizado um resolução de 18 μ m, os dados também se apresentaram diferentes estatisticamente, com exceção quando o *threshold* 255-80 foi comparado ao 255-80 (Tabela 4). Os dados também estão distribuídos e podem ser observados no Gráfico 4.

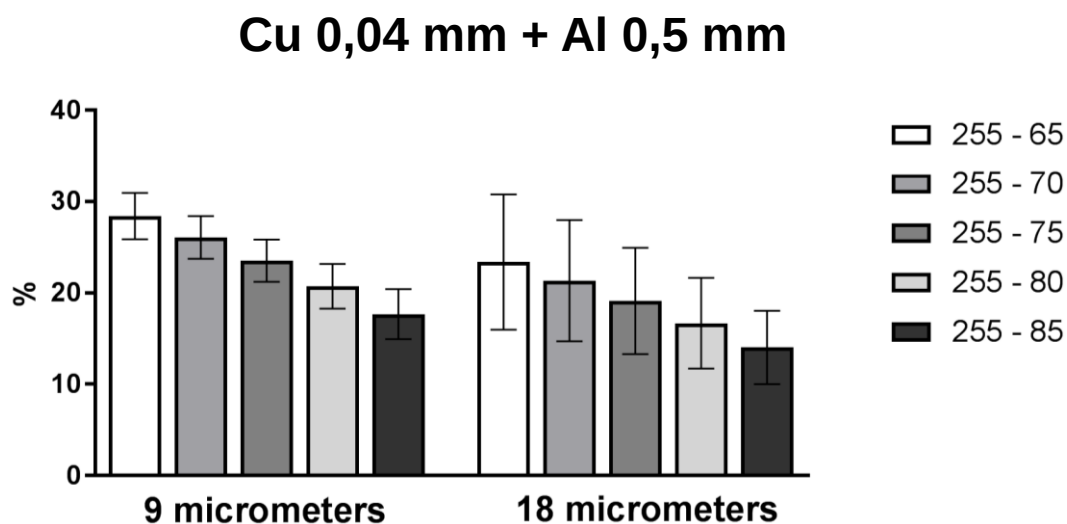
Tabela 4 - Valores de p dos resultados obtidos quando diferentes thresholds foram comparados nos cortes de 9 μ m e 18 μ m e filtro Cu+Al nos diferentes thresholds utilizados.

Cu + Al					
9 μ m					
<i>thresholds</i>	255-65	255-70	255-75	255-80	255-85
255-65		0,0027**	0,0029**	0,0026**	0,0019**
255-70			0,0031**	0,0027**	0,0019**
255-75				0,0024**	0,0016**
255-80					0,0011**
255-85					
18 μ m					
<i>thresholds</i>	255-65	255-70	255-75	255-80	255-85
255-65		0,0451*	0,0472*	0,0475*	0,0473*
255-70			0,0492*	0,0487*	0,0484*
255-75				0,0488*	0,0493*
255-80					0,0512
255-85					

** p<0,01; * p<0,05

Fonte: Elaboração própria

Gráfico 4 - Valores obtidos com filtro de Al 0.2 mm, com diferentes resoluções em 9 μm e 18 μm . nos diferentes thresholds utilizados. Letras iguais não apresentam diferença estatística



Fonte: Elaboração própria

Uma comparação dentro de um mesmo *threshold* foi realizado com a resolução de 9 μm e diferentes filtros (255 x 65; 255-70; 255-75; 255 x 80), onde não apresentaram diferença estatística para todas as comparações, com exceção para a comparação do filtro Al 0,2 mm x Cu 0,04 mm +Al 0,5 mm. Semelhantemente, na análise entre os *threshold* 255-85 houve diferenças estatísticas, quando foi realizado uma comparação Al 1mm x Al 0,2 mm, e Al 0,2 mm x Cu 0,04 mm +Al 0,5 mm. Esses resultados podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 – Thresholds iguais e diferentes filtros foram comparados no corte de 9 μm , demonstrando presença (*, **) ou ausência de diferenças estatísticas (ns), e seus respectivos valores de p.

Comparações de 9 μm	Summary	Adjusted P Value
AL_01_9_255_65 vs. AL_02_09_255_65	ns	0,2858
AL_01_9_255_65 vs. AL_05_09_255_65	ns	>0,9999
AL_01_9_255_65 vs. Cu + Al_09_255_65	ns	0,4827
AL_02_09_255_65 vs. AL_05_09_255_65	ns	0,6517
AL_02_09_255_65 vs. Cu + Al_09_255_65	*	0,0172
AL_05_09_255_65 vs. Cu + Al_09_255_65	ns	0,7766
AL_01_9_255_70 vs. AL_02_09_255_70	ns	0,2196
AL_01_9_255_70 vs. AL_05_09_255_70	ns	0,9972
AL_01_9_255_70 vs. Cu + Al_09_255_70	ns	0,3643
AL_02_09_255_70 vs. AL_05_09_255_70	ns	0,5187
AL_02_09_255_70 vs. Cu + Al_09_255_70	*	0,0150
AL_05_09_255_70 vs. Cu + Al_09_255_70	ns	0,8125
AL_01_9_255_75 vs. AL_02_09_255_75	ns	0,1578
AL_01_9_255_75 vs. AL_05_09_255_75	ns	0,9870
AL_01_9_255_75 vs. Cu + Al_09_255_75	ns	0,2679
AL_02_09_255_75 vs. AL_05_09_255_75	ns	0,3984
AL_02_09_255_75 vs. Cu + Al_09_255_75	*	0,0132
AL_05_09_255_75 vs. Cu + Al_09_255_75	ns	0,8150
AL_01_9_255_80 vs. AL_02_09_255_80	ns	0,0936
AL_01_9_255_80 vs. AL_05_09_255_80	ns	0,9722
AL_01_9_255_80 vs. Cu + Al_09_255_80	ns	0,1937
AL_02_09_255_80 vs. AL_05_09_255_80	ns	0,3013
AL_02_09_255_80 vs. Cu + Al_09_255_80	*	0,0110
AL_05_09_255_80 vs. Cu + Al_09_255_80	ns	0,7818
AL_01_9_255_85 vs. AL_02_09_255_85	*	0,0421
AL_01_9_255_85 vs. AL_05_09_255_85	ns	>0,9999
AL_01_9_255_85 vs. Cu + Al_09_255_85	ns	0,1514
AL_02_09_255_85 vs. AL_05_09_255_85	ns	0,3543
AL_02_09_255_85 vs. Cu + Al_09_255_85	**	0,0081
AL_05_09_255_85 vs. Cu + Al_09_255_85	ns	0,4875

Fonte: Elaboração própria

Quando essas comparações foram realizadas, dentro de um mesmo *threshold*, porém com resolução de 18 μm , e diferentes filtros (255-70; 255-75; 255 x 80; 255 x 85) apresentaram uma não diferença estatística para todas as comparações, com exceção para as comparações do filtro Al 0,2 mm x Cu 0,04 mm+Al 0,5 mm e Al 1 mm x Al 0,2 mm. Semelhantemente, na análise entre os *threshold* 255-65 houve apenas uma diferença estatística, quando foi realizado uma comparação Al 1 mm x Al 0,2 mm. Esses resultados podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados obtidos quando mesmos thresholds e diferentes filtros foram comparados no corte de 18 μ m, demonstrando presença (*, **) ou ausência de diferenças estatísticas (ns), e seus respectivos valores de p.

Comparações 18 um	Summary	Adjusted P Value
AL_01_18_255_65 vs. AL_02_18_255_65	***	0,0010
AL_01_18_255_65 vs. AL_05_18_255_65	ns	0,2467
AL_01_18_255_65 vs. Cu + Al_18_255_65	ns	0,5084
AL_02_18_255_65 vs. AL_05_18_255_65	ns	0,7534
AL_02_18_255_65 vs. Cu + Al_18_255_65	ns	0,0661
AL_05_18_255_65 vs. Cu + Al_18_255_65	ns	0,3045
AL_01_18_255_70 vs. AL_02_18_255_70	**	0,0011
AL_01_18_255_70 vs. AL_05_18_255_70	ns	0,2967
AL_01_18_255_70 vs. Cu + Al_18_255_70	ns	0,3955
AL_02_18_255_70 vs. AL_05_18_255_70	ns	0,6843
AL_02_18_255_70 vs. Cu + Al_18_255_70	*	0,0448
AL_05_18_255_70 vs. Cu + Al_18_255_70	ns	0,2729
AL_01_18_255_75 vs. AL_02_18_255_75	*	0,0147
AL_01_18_255_75 vs. AL_05_18_255_75	ns	0,0950
AL_01_18_255_75 vs. Cu + Al_18_255_75	ns	0,4761
AL_02_18_255_75 vs. AL_05_18_255_75	ns	0,7099
AL_02_18_255_75 vs. Cu + Al_18_255_75	*	0,0270
AL_05_18_255_75 vs. Cu + Al_18_255_75	ns	0,2455
AL_01_18_255_80 vs. AL_05_18_255_80	ns	0,4210
AL_01_18_255_80 vs. Cu + Al_18_255_80	ns	0,1904
AL_02_18_255_80 vs. AL_05_18_255_80	ns	0,5474
AL_02_18_255_80 vs. Cu + Al_18_255_80	*	0,0142
AL_05_18_255_80 vs. Cu + Al_18_255_80	ns	0,2028
AL_01_18_255_80 vs. AL_05_18_255_80	ns	0,4210
AL_01_18_255_85 vs. AL_02_18_255_85	***	0,0005
AL_01_18_255_85 vs. AL_05_18_255_85	ns	0,1689
AL_01_18_255_85 vs. Cu + Al_18_255_85	ns	0,0606
AL_02_18_255_85 vs. AL_05_18_255_85	ns	0,4786
AL_02_18_255_85 vs. Cu + Al_18_255_85	**	0,0071
AL_05_18_255_85 vs. Cu + Al_18_255_85	ns	0,0569

Fonte: Elaboração própria

5 DISCUSSÃO

Diante do uso da microtomografia computadorizada (Micro CT) para diversas avaliações de perda ou formação óssea, a definição de diferentes parâmetros de análise de imagens, bem como mudanças no processo de escaneamento de amostras poderiam influenciar diretamente as mensurações da área e volume de tecido ósseo presente em áreas com doença periodontal induzida. Sendo assim, o intuito deste trabalho foi avaliar a geração de artefatos e ruídos durante o escaneamento em modelo experimental de doença periodontal induzida em ratos de acordo com: a) resolução utilizada, b) os diferentes tipos de filtros aplicados; c) bem como analisar a influência da variação de *thresholds*.

Quando analisamos e comparamos os diferentes valores de *threshold* no filtro AI 0,5 mm e resolução de 9 μm , observamos diferenças estatísticas entre a maioria das comparações, com exceção para 255-65 x 255-85, 255-70 x 255-85, 255-75 x 255-85, e 255-80 x 255-85. Esses dados podem demonstrar a ausência de fidelidade quando o *threshold* é alterado.

Tem sido descrito que a variação dos diferentes *thresholds* e tamanho de voxel podem ser aplicados para diferentes utilidades, como análise segmentada de osso cortical e medular de ossos longos de ratos (Freeman et al.¹⁰, 2009) e por promover alterações na mensuração do osso trabecular do fêmur de camundongos (Verdelis et al.²⁶, 2011). Essas alterações de fato podem causar interferências nas mensurações, entretanto pode-se notar que esses estudos sempre estão acompanhados da análise histológica, o que demonstra que apesar da vantagens da microtomografia em promover um exame que não destrói as peças anatômicas,

que permite a visualização 3D do tecido ósseo e que permite a avaliação longitudinal dos animais, a análise histológica não deverá ser excluída.

Em uma análise comparativa, quando os diferentes valores de *threshold* com filtro Al 0,5 mm e resolução de 18 μ m foram analisados, diferenças estatísticas foram observadas, com exceção para as comparações 255-65 x 255-85, 255-70 x 255-75 255-70 x 255-85, 255-75 x 255-85, e 255-80 x 255-85. Semelhantemente o filtro de Al 1 mm, mostrou uma parte das comparações com diferença estatística (255-65 x 255-70, 255-65x 255-80, 255-65x 255-85, 255-70x 255-80, 255-70x 255-85), enquanto outras não (255-65x 255-75, 255-70x 255-75, 255-75x 255-80, 255-75x 255-85, 255-80x 255-85). Essas comparações que não apresentaram diferenças estatísticas sugerem uma menor presença falsos positivos ou negativos, quando os filtros Al 0,5 mm e Al 1 mm são aplicados com resolução de 18 μ m. Diferentemente, os filtros de Al 0,2 mm e Cu 0,04 mm + Al 0,5 mm com resolução de 18 μ m apresentaram diferenças estatísticas, com uma única exceção para o filtro Cu 0,04 mm+ Al 0,5 mm (255-80x 255-85).

Além destas comparações, podemos constatar que quanto maior o *threshold* aplicado, menor será o valor obtido em porcentagem. Isso pode ser observado nos gráficos com diferentes *thresholds* (Gráficos 1, 2, 3 e 4), que poderiam acarretar erros volumétricos absolutos e consequente incompatibilidade quando comparado a outras análises. Vale lembrar que em determinadas situações como mudança de densidade óssea de um grupo para outro (ex.: administração medicamentosa, indução de doenças e/ou diferentes períodos analisados) o *threshold* deveria ser diferente, impossibilitando a comparação entre grupos. No entanto, não só o *threshold* pode afetar os resultados, mas também outros parâmetros do micro CT, dentre eles o uso de diferentes filtros ¹².

Os filtros são aplicados para amenização de artefatos gerados pelo feixe de raios-x, e de acordo com o tipo de amostra podem representar uma maior fidelidade com relação a amostra real. Na resolução de 9 μm com *thresholds* iguais, porém com diferentes filtros apresentou uma maior incompatibilidade de resultados com significantes diferenças estatísticas foram observados quando os filtros de

Al 0,2 mm e Cu 0,04 mm + Al 0,5 mm foram comparados. Esses resultados sugerem uma extrema diferença entre filtros, onde um (Al 0,2 mm) está mais indicado a amostras delicadas e de menor densidade e outro (Cu 0,04 mm+ Al 0,5 mm) para amostras maiores e de maior densidade. Notavelmente, quando filtros são indicados incorretamente, os resultados podem ser expressos de forma inconsistente ¹². Em virtude de tais possibilidades, existem algumas indicações de filtros para determinados tipos de amostras, como demonstrado pelo manual do usuário Sky Scan 1176 e pode ser visto no Quadro 1 abaixo.

Quadro 1 - Filtro e Tipo de amostra

FILTRO	TIPOS DE AMOSTRA
<i>Sem filtro</i>	Baixa densidade (ex. vivo), amostra biológica não mineralizada
<i>Al 0,2 mm</i>	Partes mineralizadas de tecidos biológicos moles, ossos pequenos de camundongos/ratos
<i>Al 0,5 mm</i>	Camundongos e ratos in vivo e ex vivo.
<i>Al 1 mm</i>	Ratos in vivos e amostras ósseas ex vivo
<i>Cu 0,04 mm + Al 0,5 mm</i>	Ratos in vivo e amostras com maior densidade
<i>Cu 0,1 mm</i>	Materiais metálicos

Fonte: Adaptação do manual de instruções Sky Scan 1176 (in vivo X-ray microtomograph) 2010.

Dentre outros parâmetros que devem ser considerados está a resolução, que representa o tamanho das fatias obtidas e conseqüentemente o nível de

detalhamento. Quando os resultados das comparações entre diferentes *thresholds* com o mesmo filtro e diferentes resoluções (9 μm e 18 μm) foram comparadas, pode-se verificar maiores presenças de diferenças estatísticas quando a resolução de 9 μm foi usada, com exceção para o grupo do filtro de Al 0,2 mm. Esses dados sugerem que quando se utiliza uma maior resolução (constante numérica), menor será o nível de detalhamento, e conseqüentemente menor precisão dos dados, havendo menores possibilidades de diferenças estatísticas. No entanto, o filtro de Al 0,2 mm para essas amostras representa uma maior fidelidade dos dados quando valores de 9 μm e 18 μm foram comparados, sendo assim quando utilizado a resolução de 18 μm no filtro de Al 0,2 mm para esse tipo de amostra os resultados seriam muito semelhantes aos de 9 μm . Os resultados estão de acordo com a indicação proposta pelo manual do usuário Sky Scan 1176 ¹², onde menores resoluções são indicadas para menores amostras com maior nível de detalhamento. Abaixo no Quadro 2, podemos verificar as indicações.

Quadro 2 - Resolução e tipos de amostras

RESOLUÇÃO	TIPOS DE AMOSTRA
9 μm	Ratos, camundongos, amostras com biomaterial, pequenas amostras biológicas.
18 μm	Crânio e corpo de rato, amostras ósseas de coelho (in vivo).
35 μm	Varredura corpórea de rato para tecido moles, amostras grandes e densas (ex vivo)

Fonte: Adaptação do manual de instruções Sky Scan 1176 (in vivo X-ray microtomograph). 2010

Devido às limitações deste estudo, como a análise volumétrica das mesmas regiões em avaliações histomorfométricas versus microtomográficas, e a ausência

de grupo controle impossibilitaram uma análise de qual melhor parâmetro deveria ser indicado para este estudo.

Diante das inúmeras variáveis deste trabalho, pode-se notar que a análise de microtomografia representa uma forma atual e indicada para análise quantitativa e ou qualitativa de diferentes espécimes e que diferentes parâmetros podem gerar resultados diversos. Vale salientar que cada amostra pode indicar diferentes parâmetros para obtenção de resultados mais fiéis. Como ideal, novas análises (estudos prévios) com diferentes amostras para novos estudos devem ocorrer, a fim de desvendar quais seriam os melhores parâmetros. Sendo assim, maiores estudos devem ser realizados com o intuito de padronizar amostras e consequente fidelizar resultados.

6 CONCLUSÃO

As variações analisadas (thresholds, filtros e resoluções) interferem nos valores da mensuração de volume ósseo no modelo de doença periodontal induzida em ratos.

REFERÊNCIAS *

1. Basillais A, Bensamoun S, Chappard C, Brunet-Imbault B, Lemineur G, Ilharreborde B, et al. Three-dimensional characterization of cortical bone microstructure by microcomputed tomography: validation with ultrasonic and microscopic measurements. *J Orthop Sci.* 2007; (12): 141-8.
2. Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, Guldberg RE, Jepsen KJ, Müller R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Miner Res.* 2010; 25(7): 1468-86.
3. Chang PC, Liang K, Lim JC, Chung MC, Chien LY. A comparison of the thresholding strategies of micro-CT for periodontal bone loss: a pilot study. *Dentomaxillofac Radiol.* 2013; 42(2): 66925194.
4. Coimbra LS, Rossa C Jr, Guimarães MR, Gerlach RF, Muscará MN, Spolidorio DM, et al. Influence of antiplatelet drugs in the pathogenesis of experimental periodontitis and periodontal repair in rats. *J Periodontol.* 2011; 82(5): 767-77.
5. Davis GR, Wong FS. X-ray microtomography of bones and teeth. *Physiol Meas.* 1996; 17(3): 121-46.
6. Ding M, Odgaard A, Hvid I. Accuracy of cancellous bone volume fraction measured by micro-CT scanning. *J Biomech.* 1999; 32(3): 323-6.
7. Efeoglu C, Burke JL, Parsons AJ, Aitchison GA, Scotchford C, Rudd C, et al. Analysis of calvarial bone defects in rats using microcomputed tomography: potential for a novel composite material and a new quantitative measurement. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 47(8): 616-21.
8. Efeoglu C, Fisher SE, Ertürk S, Oztop F, Günbay S, Sipahi A. Quantitative morphometric evaluation of critical size experimental bone defects by microcomputed tomography. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 45(3): 203-7.

*De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-julho-2017.pdf>

9. Finelle G, Papadimitriou DE, Souza AB, Katebi N, Gallucci GO, Araújo MG. Peri-implant soft tissue and marginal bone adaptation on implant with non-matching healing abutments: micro-CT analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2015; 26(4): 42-6.
10. Freeman TA, Patel P, Parvizi J, Antoci V Jr, Shapiro IM. Micro-CT analysis with multiple thresholds allows detection of bone formation and resorption during ultrasound-treated fracture healing. *J Orthop Res.* 2009; 27(5): 673-9
11. Hanson NA, Bagi CM. Alternative approach to assessment of bone quality using micro-computed tomography. *Bone.* 2004; 35(1): 326-33.
12. SkyScan. Manual de instruções Sky Scan 1176. In vivo X-ray microtomograph [internet]. Kontich, Bélgica; 2011. [Acessado em: 10/07/2017]. Disponível em:
http://umanitoba.ca/faculties/health_sciences/medicine/units/cacs/sam/media/1176UserManual.pdf
13. Kalatzis-Sousa NG, Spin-Neto R, Wenzel A, Tanomaru-Filho M, Faria G. Use of micro-computed tomography for the assessment of periapical lesions in small rodents: a systematic review. *Int Endod J.* 2017; 50(4): 352-66.
14. Kido HW, Bossini PS, Tim CR, Parizotto NA, da Cunha AF, Malavazi I, et al. Evaluation of the bone healing process in an experimental tibial bone defect model in ovariectomized rats. *Aging Clin Exp Res.* 2014; 26(5): 473-81
15. Li JY, Pow EH, Zheng LW, Ma L, Kwong DL, Cheung LK. Quantitative analysis of titanium-induced artifacts and correlated factors during micro-CT scanning. *Clin Oral Implants Res.* 2014; 25(4): 506-10.
16. Liu YF¹, Wu LA, Wang J, Wen LY, Wang XJ. Micro-computerized tomography analysis of alveolar bone loss in ligature- and nicotine-induced experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2010; 45(6): 714-9
17. Müller R, Van Campenhout H, Van Damme B, Van Der Perre G, Dequeker J, Hildebrand T, et al. Morphometric analysis of human bone biopsies: a quantitative structural comparison of histological sections and micro-computed tomography. *Bone.* 1998; 23(1): 59-66.
18. Nociti Júnior FH, Cesar Neto JB, Carvalho MD, Sallum EA, Sallum AW. Intermittent cigarette smoke inhalation may affect bone volume around titanium implants in rats. *J Periodontol.* 2002; 73(9): 982-7

19. Palacio-Mancheno PE, Larriera AI, Doty SB, Cardoso L, Fritton SP. 3D assessment of cortical bone porosity and tissue mineral density using high-resolution μ CT: effects of resolution and threshold method. *J Bone Miner Res.* 2014; (1): 142-50.
20. Park CH, Abramson ZR, Taba M Jr, Jin Q, Chang J, Kreider JM, et al. Three-dimensional micro-computed tomographic imaging of alveolar bone in experimental bone loss or repair. *J Periodontol.* 2007; 78(2): 273-81.
21. Perussi LR, Pavone C, de Oliveira GJ, Cerri PS, Marcantonio RA. Effects of the Er,Cr:YSGG laser on bone and soft tissue in a rat model. *Lasers Med Sci.* 2012; 27(1): 95-102
22. Pavone C, Perussi LR, de Oliveira GJ, Scardueli CR, Cirelli JA, Cerri PS, et al. Effect of Er,Cr:YSGG laser application in the treatment of experimental periodontitis. *Lasers Med Sci.* 2015; 30(3): 993-9
23. Ritman EL. Current status of developments and applications of micro-CT. *Annu Rev Biomed Eng.* 2011. (13): 531-52.
24. Song JM, Shin SH, Kim YD, Lee JY, Baek YJ, Yoon SY, et al. Comparative study of chitosan/fibroin-hydroxyapatite and collagen membranes for guided bone regeneration in rat calvarial defects: micro-computed tomography analysis. *Int J Oral Sci.* 2014; 6(2): 87-93.
25. Uchiyama T, Tanizawa T, Muramatsu H, Endo N, Takahashi HE, Hara T. A morphometric comparison of trabecular structure of human ilium between microcomputed tomography and conventional histomorphometry. *Calcif Tissue Int.* 1997; 61(6): 493-8.
26. Verdelis K, Lukashova L, Atti E, Mayer-Kuckuk P, Peterson MG, Tetradis S, Boskey AL, van der Meulen MC. MicroCT morphometry analysis of mouse cancellous bone: intra- and inter-system reproducibility. *Bone.* 2011; 49(3): 580-7
27. Wilensky A, Gabet Y, Yumoto H, Hourri-Haddad Y, Shapira L. Three-dimensional quantification of alveolar bone loss in *Porphyromonas gingivalis*-infected mice using micro-computed tomography. *J Periodontol.* 2005; 76(8): 1282-6.

28. Yeom H, Blanchard S, Kim S, Zunt S, Chu TM. Correlation between micro-computed tomography and histomorphometry for assessment of new bone formation in a calvarial experimental model. *J Craniofac Surg.* 2008; 19(2): 446-52.

ANEXO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Araraquara
FACULDADE DE ODONTOLOGIA



Proc. CEUA nº 29/2014

Araraquara, 25 de fevereiro de 2015.

Senhores Pesquisadores:

A Comissão de Ética no Uso de Animal - CEUA desta Faculdade, após a avaliação do projeto de sua responsabilidade intitulado **"AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PARÂMETROS NA ANÁLISE POR MICROTOMOGRÁFIA COMPUTADORIZADA (MICRO CT) DE TECIDO ÓSSEO EM IMPLANTES OSSEOINTEGRADOS E NA DOENÇA PERIODONTAL INDUZIDA EM RATOS"** (Proc. CEUA nº 29/2014) AUTORIZA a realização da pesquisa, ficando a apresentação do RELATÓRIO FINAL para OUTUBRO/2015.

Atenciosamente.


Prof. Dr. PAULO SÉRGIO CERRI
Coordenador da CEUA

À
Profa. Dra. ROSEMARY ADRIANA CHIERICI MARCANTONIO
DD. Pesquisadora Responsável
Departamento de Diagnóstico e Cirurgia

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA
Rua Humaitá nº 1.680 - Centro - CEP 14801-903 - Caixa Postal nº 331 - ARARAQUARA - SP
5º andar - fone (16) 3301-6459 / fax (16) 3301-6433 / e-mail: ceua@foar.unesp.br - home page: <http://www.foar.unesp.br>