

PRISCILLA CARDOSO LAZARI

Avaliação da densidade radiográfica
do reparo alveolar de ratos diabéticos
tratados com o imunomodulador
P-MAPA

ARAÇATUBA

2010

PRISCILLA CARDOSO LAZARI

Avaliação da densidade radiográfica
do reparo alveolar de ratos diabéticos
tratados com o imunomodulador
P-MAPA

Trabalho de Conclusão de Curso como
parte dos requisitos para a obtenção do
título de bacharel em Odontologia da
Faculdade de Odontologia de Araçatuba,
Universidade Estadual Paulista “Julio de
Mesquita Filho”

Orientador: Prof^ª Ass. Dr^ª Renata
Callestini Felipini

Co-Orientadora: Prof^ª Ass. Dr^ª Leda
Maria Pescinini Salzedas

Araçatuba – SP

2010

Dedicatória

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, Ligia e Júnior e ao meu irmão Lucas, por permitir a realização do sonho de cursar a faculdade de Odontologia, e por ter me dado força para buscar meus objetivos dentro do curso e fora dele. Obrigado por tudo, vocês são exemplos de integridade e sabedoria.

Agradecimentos

Agradecimentos

Aos meus amados pais pelo apoio, amor e confiança sempre depositados sobre mim.

A minha orientadora, Professora Renata Calestini Filipini, que muito me auxiliou e sem o qual este trabalho não seria possível. Meus sinceros agradecimentos, pela orientação dedicada, paciência que me foram dispensados e que adquiri grande admiração e respeito nesse tempo de convivência.

A Professora Leda Maria Salzedas Pescinini, que como minha co-orientadora se dispôs a dar toda a atenção e ajuda para realização deste trabalho.

A Professora Alessandra Marcondes Aranega, pela disposição e ajuda constante durante a fase experimental do projeto.

Ao Professor Michel Saad Neto, por estar sempre presente nos contemplando com sua sabedoria.

Ao Professor Tetuo Okamoto, pela paciência e ajuda durante a realização do estudo

Ao Técnico José Marcelo Tramarim, pela vital ajuda durante todos os momentos dentro do laboratório, sendo um amigo que jamais vou esquecer.

A Técnica Elaine Francischini Ferreira, pela colaboração durante o desenvolvimento da pesquisa.

A Célia Tomiko, pela ajuda ao realizar a estatística deste trabalho.

A Iseu da Silva Nunes e Farmabrasilis, por disponibilizar o imunomodulador P-MAPA, e confiar em nossa equipe pra o estudo desse medicamento promissor.

Aos meus grandes amigos Gabryela Nascimento Canedo, Tales Candido Garcia da Silva, Ana Paulo dos Santos Araújo, por estarem sempre do meu lado fazendo parte da minha história. Muito Obrigado!

Aos amigos, Tales Maycon e Leonardo Bueno Torcato, e por terem compartilhado comigo os resultados deste trabalho

Agradeço aos membros da minha banca, Prof^a Alessandra Marcondes Aranega e Prof.^o Gilberto Aparecido Coclete, por terem se disponibilizado a participar da correção deste trabalho assim que receberam o convite.

A toda Turma 53 pela companhia, amizade e felicidade durante esse 4 anos de formação.

Epígrafe

Epígrafe

Ontem o menino que brincava me falou
Que hoje é semente do amanhã
Para não ter medo que esse tempo vai passar
Não se desespere nem pare de sonhar
Nunca se entregue, nasça sempre com as manhas
Deixe a luz do sol brilhar no céu do seu olhar
Fé na vida, fé no homem, fé no que virá
Nós podemos tudo
Nós podemos mais
Vamos lá fazer o que será!

(Sementes do Amanha, Gonzaga Jr.)

LAZARI, PC. Avaliação da densidade radiográfica do reparo alveolar de ratos diabéticos tratados com o imunomodulador P-MAPA. 2010. 60 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Araçatuba, 2010.

Resumo

O Diabetes mellitus é uma complexa desordem metabólica caracterizada por anormalidade no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas. É decorrente da deficiência total ou parcial da síntese da insulina pelas células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas. Caracteriza-se pela alteração principalmente do metabolismo da glicose. Suas principais complicações bucais incluem: hipossalivação, candidíase, doença periodontal, abscessos periapicais, hipocalcificação dentária, distúrbios na cicatrização, atraso na erupção dentária, síndrome da ardência bucal, recessão gengival, aumento na incidência e severidade das cáries dentais. Pensando em todas as debilidades apresentadas no diabetes e na possibilidade de uma efetiva intervenção do imunomodulador P-MAPA, decidimos testá-lo e observar se o medicamento agrega mudanças fisiológicas e reparacionais positivas para essa enfermidade. Utilizamos 60 ratos machos Wistar com dois meses de vida, induziu-se a diabetes a partir da aplicação do fármaco STZ (que destrói as células beta do pâncreas). A partir da indução verificou-se a cada três dias o nível de insulina para que a comprovação do estado diabético fosse positiva. A extração dentária foi realizada ao 7º dia após a indução do diabetes e a aplicação do imunomodulador P-MAPA, feita todos os dias via subcutânea, até completados os três tempos de 7, 28 e 45 dias para que houvesse a eutanásia desses animais. O alvéolo foi mantido em formol até que a tomada radiográfica e análise pelo programa Digora tivesse sido realizada. Quando comparados os grupos não observamos diferenças estatísticas nos tempos de 7 e 45 dias. Porém no tempo de 28 dias, observamos diferença estatística entre os grupos Diabéticos Tratados e Controle Tratado. Na comparação entre os tempos, todos os grupos, exceto o grupo controle tratado, obtiveram diferenças estatísticas. Conclui-se que a metodologia utilizada no trabalho não nos permitiu dizer qual grupo obteve melhor resultado no processo de reparo alveolar, no entanto, o imunomodulador P-MAPA teve intervenção positiva nos grupos tratados reduzindo os sintomas clínicos nos ratos diabéticos. Deve-se essencialmente realizar a análise microscópica dos alvéolos para conclusão definitiva do trabalho.

Palavras-chave: diabetes. reparo alveolar. análise radiográfica. imunomodulador

LAZARI, PC. Evaluation of radiographic density of alveolar repair in diabetic rats treated with the immunomodulator P-MAPA. 2010. 60 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Araçatuba, 2010.

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a complex metabolic disorder characterized by abnormal metabolism of carbohydrates, lipids and proteins. It is caused by total or partial deficiency of the synthesis of insulin by beta cells of islets of Langerhans in the pancreas. It is characterized mainly by the change of glucose metabolism. Its major oral complications include: hyposalivation, candidiasis, periodontal disease, periapical abscesses, hypocalcification dental, disorders in wound healing, delayed tooth eruption, burning mouth syndrome, gingival recession, increased incidence and severity of dental caries. Thinking of all the weaknesses presented in the diabetes and the possibility of an effective intervention immunomodulator P-MAPA, we decided to test it and see if the product adds physiological changes and reparations positive for this disease. We used 60 male Wistar rats two months of life, induced diabetes from STZ drug application (which destroys the beta cells of the pancreas), and from the induction was found three days at each level of insulin to proof of diabetic status was positive. The tooth extraction was performed on day 7 after induction of diabetes and the application of P-MAPA immunomodulator made subcutaneously every day until completed the three times of 7, 28, 45 to have euthanasia from this animals. The alveolus has been maintained in formalin until radiographic analysis and the Digora program had been done. When comparing the groups did not observe statistical differences in the times of 7 and 45 days. But in time of 28 days, we saw a statistical difference between groups Diabetes Treated and Control Treated. Comparing the time, all groups except the control groups treated, found statistical differences. In conclusion the methodology used in the study did not allow us to say which group had the best results in alveolar repair process but the P-MAPA immunomodulatory intervention was positive in the treated groups, reducing the clinical symptoms in diabetic rats. Due mainly to analyze the histology of alveolus for final conclusion of the work.

Keywords: diabetes. alveolar repair. radiographic analysis. immunomodulator

Lista de Figuras

Figura 1: *Ratos Noergicus*, Wistar

Figura 2: Relaxante muscular e Anestésico

Figura 3 e 4: Tampão Citrato e Estreptozotocina

Figura 5: Aplicação da estreptozotocina via veia peniana.

Figura 6 e 7: Corte da extremidade da cauda e Gota de sangue que será coletado

Figura 8: AccuChek Performa

Figura 9: Sangue sendo submetido ao exame “AccuChek Performa”

Figuras 10 e 11: Determinação do estado não glicêmico e do estado hiperglicêmico.

Figura 12: Balanças para pesagem dos animais.

Figura 13: Balança de alta precisão para pesagem do P-MAPA.

Figura 14: Imunomodulador P-MAPA.

Figura 15: Aplicação subcutânea do medicamento.

Figuras 16 e 17: Luxação e extração do incisivo superior direito.

Figura 18: Penicilina G-Benzatina.

Figura 19: Aplicação do antibiótica intraperitoneal.

Figura 20: Alvéolo

Figura 21: Aparelho de Raios X GE-100 (General Electric, Milwaukee, EUA)

Figura 22: Hemi maxila posicionada sob placa óptica, identificação de chumbo e penetrômetro de alumínio.

Figura 23: Distância foco-filme de 40 cm.

Figura 24: Scanner a laser Digora

Figura 25: seleção das áreas de mensuração da densidade radiográfica

Figura 26: seleção das áreas de mensuração da densidade radiográfica

Figura 27: Imagem Radiográfica do reparo alveolar com 7 dias após a extração.

Figura 28: Imagem Radiográfica do reparo alveolar com 28 dias após extração.

Figura 30: Imagem Radiográfica do reparo alveolar com 45 dias após a extração

Lista de Tabelas

Tabela 1: Média das densidades de cada terço do alvéolo no grupo Diabéticos Tratados

Tabela 2: Média das densidades de cada terço do alvéolo no grupo Diabéticos Controle.

Tabela 3: Média das densidades de cada terço do alvéolo no grupo Controle Tratado.

Tabela 4: Média das densidades de cada terço do alvéolo no grupo Controle.

Tabela 5: Teste de Tukey para comparação entre os grupos aos 7 dias

Tabela 6: Teste de Tukey para comparação entre os grupos aos 28 dias

Tabela 7: Teste de Tukey para comparação entre os grupos aos 45 dias

Tabela 8: Teste de Tukey para comparação entre os tempos no grupo Diabéticos
Tratados

Tabela 9: Teste de Tukey para comparação entre os tempo no grupo Diabéticos
Controle

Tabela 10: Teste de Tukey para comparação entre os tempos no grupo Controle Tratado

Tabela 11: Teste de Tukey para comparação entre os tempos no grupo Controle

Lista de Abreviaturas

CEEa = Comitê de ética na Experimentação Animal

cm = centímetro

g = grama

IL = interleucina

mA = miliamperes

mg/kg = miligrama por quilo

mg/kg/dia/animal = miligrama por quilo por dia por animal

ml = mililitro

ml/kg = mililitro por quilo

mm = milímetro

mmAl = milímetro de Alumínio

DT = Diabéticos Tratados

DC = Diabéticos Controle

CT = Controle Tratado

C = Controle

TNF = fator de necrose tumoral

Sumário

1. Introdução	15
2. Proposição	17
3. Material e Método	19
4. Resultados	32
5. Discussão	38
6. Conclusão	45
7. Referências	47
8. Apêndice	50
9. Anexos	59

Introdução

Introdução

O Diabetes mellitus é uma complexa desordem metabólica caracterizada por anormalidade no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas¹. É decorrente da deficiência total ou parcial da síntese da insulina pelas células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas. Caracteriza-se pela alteração principalmente do metabolismo da glicose².

Os primeiros registros da doença constam de Papirus de Ebers em 1500 a.C. Desde então a doença vem atingindo proporções alarmantes. Estima-se que no ano de 2025 existirão 300 milhões de diabéticos no mundo todo. No Brasil estima-se que existam cerca de 5 milhões de diabéticos, ocupando assim o sexto lugar no ranking mundial em relação ao número de portadores da disfunção. As estimativas epidemiológicas também apontam que o Brasil atingirá 11,6 milhões de pessoas diabéticas até o final de 2025³. Estas informações são de extrema relevância uma vez que o diabetes afeta grande parte da população, representando um alto custo financeiro decorrente aos cuidados médicos e queda na produtividade⁴.

A classificação atual compreende o diabetes do tipo 1, tipo 2, gestacional e outros específicos⁵.

O diabetes do tipo I é uma doença auto-imune que afeta principalmente pacientes jovens, compondo 15% do total de diabéticos. O início dos sinais e sintomas é abrupto, ocorrendo na infância ou na puberdade. Caracteriza-se pela ausência na produção de insulina, necessitando de freqüentes injeções de hormônio⁶.

O diabetes tipo II compreende aproximadamente 85% dos casos. Inicialmente não há deficiência profunda do hormônio, contudo grande parte do indivíduos exibe posteriormente redução contínua na expressão de insulina. O início dos sinais e sintomas é lento e gradual, com complicações menos severas⁶.

A presença do diabetes predispõe ao aparecimento de complicações agudas e crônicas decorrentes de alterações metabólicas. As cinco complicações clássicas incluem: retinopatia, nefropatia, neuropatia, doenças cardiovasculares e distúrbios na cicatrização, acompanhadas de fadiga e perda de peso⁷.

As principais complicações bucais incluem: hipossalivação, candidíase, doença periodontal, abscessos periapicais, hipocalcificação dentária, distúrbios na cicatrização,

atraso na erupção dentária, síndrome da ardência bucal, recessão gengival, aumento na incidência e severidade das cáries dentais⁸.

Com relação ao processo de reparo alveolar, alguns autores estudaram as alterações ocorridas em alvéolos de ratos após a extração dental, quando o quadro metabólico do diabetes estava presente, constatando acentuado atraso na reparação⁹.

Diante das complicações decorrentes do quadro diabético, o estudo de novas drogas que possam auxiliar no processo de reparo nos pacientes portadores se faz necessário.

Os imunomoduladores são remédios ativos na cadeia do sistema imunológico que não agem propriamente contra o vírus ou a bactéria, mas auxiliam o organismo numa defesa mais adequada evitando os efeitos indesejáveis que surgem devido à inflamação e infecção.

O P-MAPA é um imunomodulador estudado por cientistas brasileiros, chilenos e norte-americanos, produzido pela Farnabrilis, uma organização não governamental voltada a pesquisas e ao desenvolvimento de novos medicamentos e tecnologias¹⁰.

Pensando em todas as debilidades apresentadas no diabetes e na possibilidade de uma efetiva intervenção desta nova droga, decidimos testar o P-MAPA e observar se o medicamento agrega mudanças fisiológicas e reparacionais positivas para essa enfermidade.

Proposição

Proposição

O objetivo deste trabalho é realizar análise radiográfica de alvéolos dentários de ratos diabéticos tratados ou não com o imunomodulador P-MAPA.

Materiais e Métodos

Materiais e métodos.

1- Modelo experimental

Para o desenvolvimento da pesquisa utilizamos 60 ratos machos da raça *Rattus norvegicus*, Wistar, com idade de 2 meses e com peso acima de 250 gramas, procedentes do biotério do Departamento de Patologia e Propêutica Clínica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP.



Figura 1: Ratos *Noergicus*, Wistar

A escolha desses animais foi devido ao seu fácil manuseio; ocupação de pequenos espaços e com isso a possibilidade de trabalhar simultaneamente com vários grupos experimentais; elevada resistência à infecção, facilidade de remoção dos diversos órgãos, redução de custos; e por apresentarem semelhanças clínicas, laboratoriais e histopatológicas com o diabetes humano.

Estes receberam alimentação através de ração sólida e água *ad libitum*, exceto no período de jejum de 14-16 horas que antecederam a administração de Estreptozotocina (STZ), os quais foram mantidos apenas com água.

2-Administração de Estreptozotocina

Os animais foram separados em 2 grupos: grupo I diabéticos e grupo II controle, contendo 30 animais em cada grupo. O grupo I (diabético) recebeu em dose única por via veia peniana da substância Estreptozotocina (STZ) para a indução do diabetes na proporção: 35mg para cada 1000g de peso corporal do animal dissolvido em tampão citrato 0,01M e pH 4,5. Para isso passaram por anestesia geral através da administração por via intramuscular de Cloridrato de Xilazina (Anasedan AgriBrands Ltda) na dosagem de 0,03 mL para cada 100g de peso corporal, para promover um relaxamento muscular. Na sequência o Cloridrato de Ketamina (Dopalen AgriBands Ltda) na dosagem de 0,07mL para cada 100g de peso corporal para a obtenção do efeito anestésico. O grupo II (controle) recebeu os mesmos procedimentos que o grupo I, sendo que, no lugar do STZ, recebeu 0,2mL de tampão citrato, afim de que todos os ratos passassem pelo mesmo nível de estresse.



Figura 2: Relaxante muscular e Anestésico



Figura 3 e 4: Tampão Citrato e Estreptozotocina



Figura 5: Aplicação da estreptozotocina via veia peniana.

3- Coleta de sangue e determinação da glicemia

A coleta de sangue para a determinação da glicemia foi realizada pela cauda após corte com tesoura a cerca de 2 milímetros de sua extremidade distal. As amostras de sangue coletadas de todos os animais foram submetidas ao teste “AccuChek Performa” para determinação das taxas glicêmicas.

O teste foi realizado em todos os ratos dois dias após a aplicação de STZ para a constatação do estado diabético, e a partir de então 2 vezes por semana no período da manhã para a verificação de uma curva glicêmica e posterior análise.

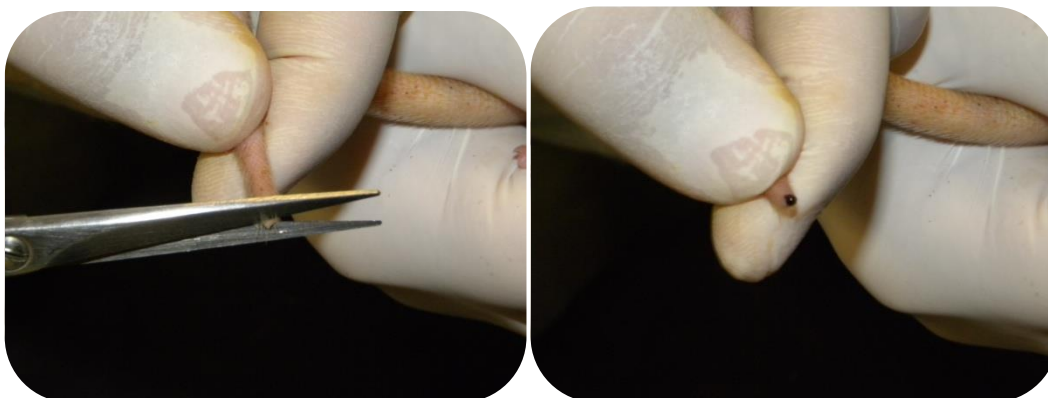


Figura 6 e 7: Corte da extremidade da cauda e Gota de sangue que será coletado



Figura 8: AccuChek Performa



Figura 9: Sangue sendo submetido ao exame “AccuChek Performa”



Figuras 10 e 11: Determinação do estado não glicêmico e do estado hiperglicêmico.

4- Pesagens dos animais e administração do medicamento

Os animais diabéticos tendem a ficar muito debilitados e o peso é muito importante para a pesagem do medicamento a ser administrada, por isso os ratos eram pesados a cada 4 dias e a partir desse peso era feita a dosagem do medicamento em uma balança de precisão.

Foi utilizado 5mg de MAPA para cada 1000 gramas de peso de rato. Os animais começaram a receber doses diárias de P-Mapa 7 dias após a indução do diabetes.

Para a aplicação do medicamento os grupos I e II foram subdivididos em grupo tratado e grupo não tratado. Começamos a aplicar as doses de P-Mapa nos devidos grupos (tratados) de acordo com cada peso, sete dias após a indução de diabetes e sete dias antes da cirurgia de extração dental. Para que os ratos tivessem o mesmo nível de estresse era aplicado P-Mapa nos ratos do grupo tratado e soro fisiológico (0,9%) no grupo dos ratos não tratados. O medicamento P-Mapa foi aplicado com agulha ponta 0,80 X 30 mm via subcutânea no dorso do rato, diariamente.

Sendo assim, os grupos, todos contendo cinco animais cada, foram divididos em:

GRUPO 1 - Diabético Tratado

GRUPO 2 - Diabético Controle

GRUPO 3 - Controle Tratado

GRUPO 4 - Controle



Figura 12: Balanças para pesagem dos animais.



Figura 13: Balança de alta precisão para pesagem do P-MAPA.

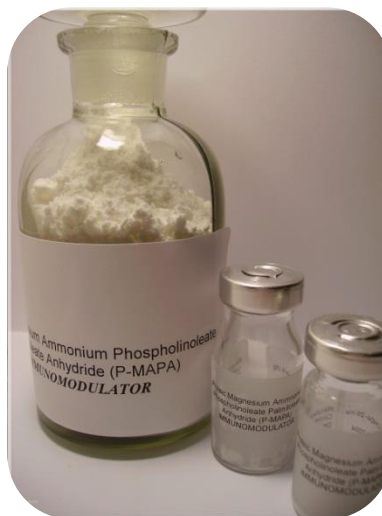


Figura 14: Imunomodulador P-MAPA.



. Figura 15: Aplicação subcutânea do medicamento

5- Procedimento cirúrgico

Os animais ficaram em jejum por 12 horas para a extração do incisivo central superior direito. Os ratos passam por anestesia geral através da administração por via intramuscular de Cloridrato de Xilazina (Anasedan AgriBrands Ltda) na dosagem de 0,03 mL para cada 100g de peso corporal, para promover um relaxamento muscular. Na sequência o Cloridrato de Ketamina (Dopalen AgriBands Ltda) na dosagem de 0,07mL para cada 100g de peso corporal para a obtenção do efeito anestésico. Após realizada a antisepsia da porção anterior da maxila com Polivinilpirrolidona Iodo (Riodeine - Ind. Farmc. Rioquímica Ltda), realizou-se a sindesmotomia, luxação e extração do incisivo superior direito de todos os animais, com instrumental especialmente adaptado para este fim. Logo em seguida realizou-se sutura com fio de seda 5.0. Após a extração cada animal recebeu uma dose única de 20.000 U.I. de penicilina G-benzatina através de injeção intraperitoneal.



Figuras 16 e 17: Luxação e extração do incisivo superior direito.



Figura 18: Penicilina G-Benzatina.



Figura 19: Aplicação intraperitoneal do antibiótico.

6- Eutanásia dos animais e obtenção das peças

Para a realização dos estudos com o medicamento optamos pelo sacrifício em 3 tempos de 7, 28, 45 dias após a extração dental. Para o sacrifício utilizamos dose excessiva de anestésico via intraperitoneal.

A maxila direita foi separada da esquerda na linha mediana com o emprego uma lâmina de bisturi nº 15 (Embramac Exp. e Imp.). Um corte com tesoura reta na porção distal do 3º molar possibilitou a obtenção da área da maxila contendo o alvéolo dental.

Os espécimes assim que obtidos foram fixados em solução de formol tamponado a 10% durante 7 dias. Após foi removido o tecido mole do alvéolo para que não comprometesse a leitura radiográfica.



Figura 20: Alvéolo

7- Análise Radiográfica

Foi utilizado um aparelho de raios X GE-100 (General Electric, Milwaukee, EUA), operando com 50 Kvp, 10 mA, 12 impulsos, e distância foco-placa de 40 cm com incidência do foco de radiação perpendicular ao plano do objeto. A imagem digital foi obtida pela sensibilização da placa óptica do sistema digital Digora (Soredex, Orion Corporation, Helsinki, Finland), onde a face ativa foto-estimulada de fósforo é sensibilizada pelos raios X, assim como os filmes convencionais. Como referencial densitométrico foi utilizado um penetrômetro de alumínio. Sobre cada placa óptica colocou-se a hemimaxila submetida à extração com o plano sagital apoiado sobre a placa, o penetrômetro e a identificação em chumbo.

As leituras das placas ópticas sensibilizadas foram efetuadas em escaner a laser do próprio equipamento Digora, e as imagens manipuladas no programa Digora for Windows 1.51. Para a análise densitométrica dos alvéolos, a divisão em terços foi necessária pela impossibilidade de seleção do alvéolo todo. Foram padronizadas áreas em pixels a serem utilizadas em cada um dos itens analisados (terço apical, médio e cervical dos alvéolos em reparação e penetrômetro de alumínio). No terço apical e cervical do alvéolo, a medida utilizada foi de 20x20 pixels; a medida do terço médio do alvéolo foi de 30x30 pixels, devido à sua maior área mensurável; e por fim nos degraus do penetrômetro de alumínio a área medida foi de 30x70 pixels pelo fato do degrau ser um retângulo.

Selecionada a área de leitura o programa forneceu a média de densidade radiográfica. Foram efetuadas três repetições de medidas em cada um dos itens, em cada imagem, e calculadas as médias dessas repetições, correspondendo à densidade radiográfica do item, e usada a média dos terços como representação geral do alvéolo em análise. Assim como metodologia descrita por Salzedas et.al. (2006), este valor de densidade radiográfica foi convertido em mmAl a partir de uma equação obtida no gráfico de dispersão relacionando os valores de radiopacidade de cada degrau de alumínio e sua espessura correspondente¹¹. A equação de cada item foi obtida a partir de 3 valores do gráfico: o valor de radiopacidade do degrau de alumínio mais próximo ao da radiopacidade do item, o degrau acima e o degrau abaixo. Cumpre salientar que para cada imagem radiográfica foi feito um gráfico de dispersão, visto que a radiopacidade dos degraus varia entre as imagens.

Os resultados em mmAl foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey para comparação entre os grupos, nos três tempos.



Figura 21: Aparelho de Raios X GE-100 (General Eletric, Milwaukee, EUA)

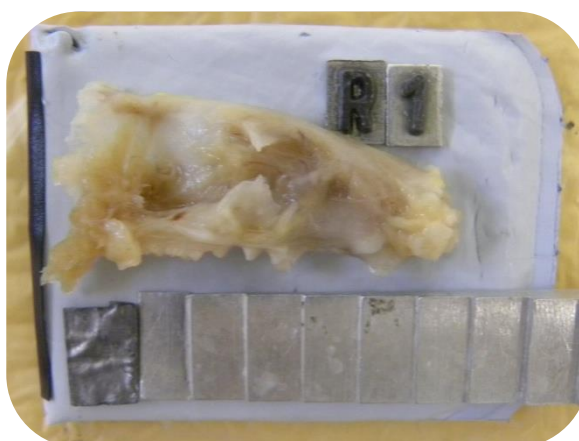


Figura 22: Hemi maxila posicionada sob placa óptica, identificação de chumbo e penetrômetro de alumínio.



Figura 23: Distância foco-filme de 40 cm.



Figura 24: Scanner a laser Digora.

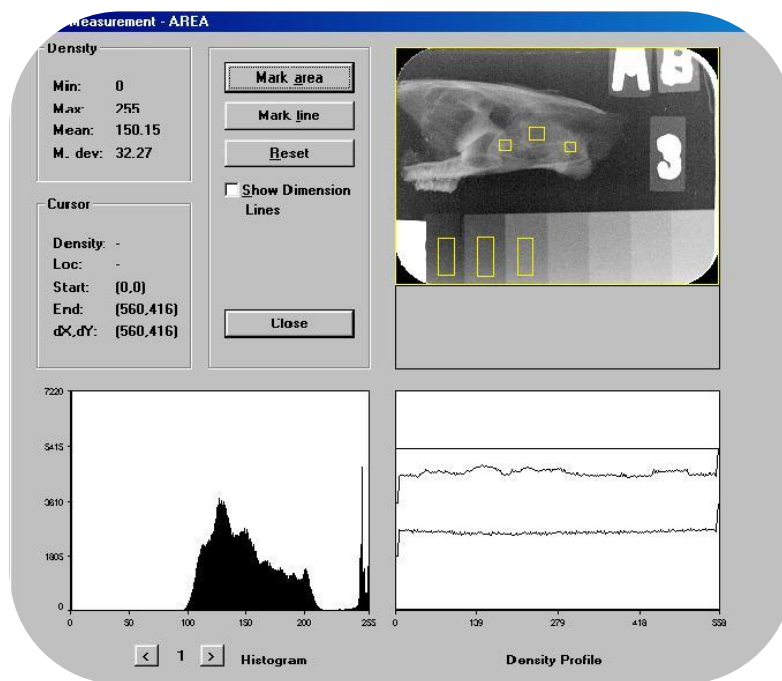


Figura 25: seleção das áreas de mensuração da densidade radiográfica

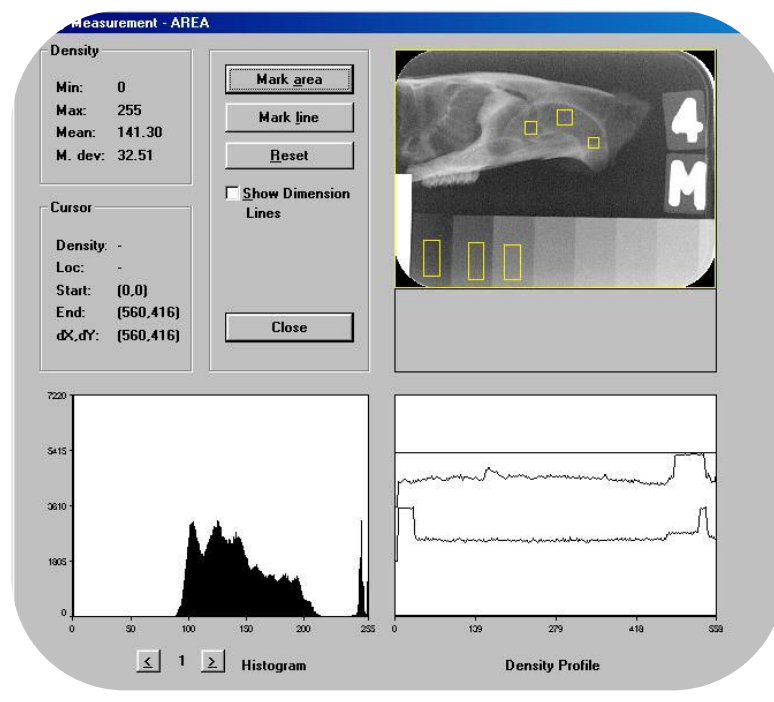


Figura 26: seleção das áreas de mensuração da densidade radiográfica

Resultados

Resultados

De acordo com a metodologia empregada no presente trabalho de pesquisa, foram realizadas as análises estatísticas.

Análise de variância ANOVA e teste de Tukey ao nível de significância de 5%, portanto obtivemos os seguintes resultados:

Tabela 1: Média das densidades de cada terço do alvéolo no grupo Diabéticos Tratados

DIABÉTICOS TRATADOS					
		cervical	médio	apical	Média
7 dias	1	0,1369	0,1478	0,3162	0,2003
	2	0,6201	0,5774	0,7118	0,636433
	3	0,4808	0,3464	0,1654	0,330867
	4	0,739	0,4286	0,7618	0,643133
	5	0,205	0,4564	0,6405	0,433967
28 dias	6	1,5341	1,2727	1,1066	1,304467
	7	1,2489	1,25797	1,3742	1,29369
	8	1,3573	1,1915	1,353	1,3006
	9	0,9857	1,0275	1,0728	1,028667
	10	1,3537	1,393	1,4071	1,3846
45 dias	11	1,0356	0,8547	1,1547	1,015
	12	0,8804	0,4186	1,8094	1,036133
	13	0,5556	0,5745	1,5762	0,9021
	14	1,2117	1,217	1,1969	1,208533
	15	0,557	0,493	0,637	0,562333

Tabela 2: Média das densidades de cada terço do alvéolo no grupo Diabéticos Controle.

DIABÉTICOS CONTROLE					
		cervical	médio	apical	Média
7 dias	16	0,8941	0,7585	0,9193	0,8573
	17	0,7534	0,5834	0,783	0,7066
	18	0,7449	0,5643	0,7815	0,6969
	19	0,5863	0,4841	0,7428	0,6044
	20	0,3159	0,3823	0,538	0,412067
28 dias	21	1,301	1,2831	1,2357	1,273267
	22	1,3087	1,2525	1,205	1,2554
	23	0,5227	0,9145	0,7436	0,726933
	24	1,2037	1,109	1,1525	1,155067
	25	1,3219	1,2542	1,25	1,275367
	26	1,2533	1,2543	1,2549	1,254167
45 dias	27	0,901	0,8515	0,812	0,854833
	28	0,9001	1,0143	0,8308	0,915067
	29	0,9283	0,7552	0,7312	0,8049
	30	0,709	0,6686	0,7557	0,7111
	31	0,9298	0,7454	0,9312	0,8688
	32	0,7395	0,6578	0,5367	0,644667

Tabela 3: Média das densidades de cada terço do alvéolo no grupo Controle Tratado.

CONTROLE TRATADO					
		cervical	médio	apical	
7 dias	33	0,7254	0,6087	0,5615	0,631867
	34	0,7466	0,6523	0,6126	0,6705
	35	0,6625	0,5059	0,5646	0,577667
	36	0,6531	0,556	0,5631	0,590733
	37	0,6425	0,5138	0,574	0,576767
28 dias	38	1,2184	1,0308	0,8648	1,038
	39	1,0418	1,0885	1,1607	1,097
	40	1,207	0,7865	1,1996	1,064367
	41	0,9081	0,7205	0,8695	0,8327
	42	0,913	0,5723	0,9238	0,803033
	43	0,3685	0,5715	0,7027	0,547567
45 dias	44	0,9617	1,0004	1,2871	1,083067
	45	0,7349	0,3529	0,3704	0,486067
	46	0,9444	0,9113	1,32	1,058567
	47	0,7574	0,5742	0,9224	0,751333
	48	0,715	0,709	0,767	0,730333

Tabela 4: Média das densidades de cada terço do alvéolo no grupo Controle.

CONTROLE					
7 dias		cervical	médio	apical	
	49	0,7859	0,5474	0,8075	0,7136
	50	0,6953	0,4569	0,7025	0,618233
	51	0,6586	0,3547	0,7139	0,575733
	52	0,5325	0,4328	0,6928	0,5527
28 dias	53	1,2349	1,3529	1,3704	1,3194
	54	1,1634	1,1957	1,0805	1,146533
	55	1,2017	1,1951	1,1071	1,167967
	56	1,3187	1,1963	1,0725	1,195833
45 dias	57	0,8539	0,6355	1,0743	0,854567
	58	0,8021	0,759	0,9044	0,821833
	59	0,8335	0,7138	0,8972	0,814833

Tabela 5: Teste de Tukey para comparação entre os grupos aos 7 dias

GRUPO	n	Média	Decisão
DT	5	0,449	A
DC	5	0,655	A
CT	5	0,61	A
C	4	0,615	A

Tabela 6: Teste de Tukey para comparação entre os grupos aos 28 dias

GRUPO	N	Média	Decisão	
DT	5	1,262	A	
DC	6	1,157	A	B
CT	6	0,897		B
C	4	1,207	A	B

Tabela 7: Teste de Tukey para comparação entre os grupos aos 45 dias

GRUPO	n	Média	Decisão
DT	5	0,945	A
DC	6	0,8	A
CT	5	0,822	A
C	3	0,83	A

Tabela 8: Teste de Tukey para comparação entre os tempos no grupo Diabéticos Tratados

GRUPO	n	Média	Decisão	
7 dias	5	0,449	A	
21 dias	5	1,26		B
45 dias	5	0,945		B

Tabela 9: Teste de Tukey para comparação entre os tempo no grupo Diabéticos Controle

GRUPO	n	Média	Decisão	
7 dias	5	0,655	A	
28 dias	6	1,157		B
45 dias	6	0,8	A	

Tabela 10: Teste de Tukey para comparação entre os tempos no grupo Controle Tratado

GRUPO	n	Média	Decisão
7 dias	5	0,61	A
28 dias	6	0,897	A
45 dias	5	0,822	A

Tabela 11: Teste de Tukey para comparação entre os tempos no grupo Controle

GRUPO	n	Média	Decisão		
7 dias	4	0,615	A		
28 dias	4	1,207		B	
45 dias	3	0,83			C

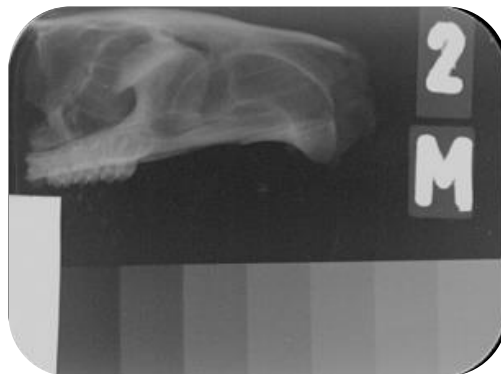


Figura 27: Imagem Radiográfica do reparo alveolar com 7 dias após a extração.

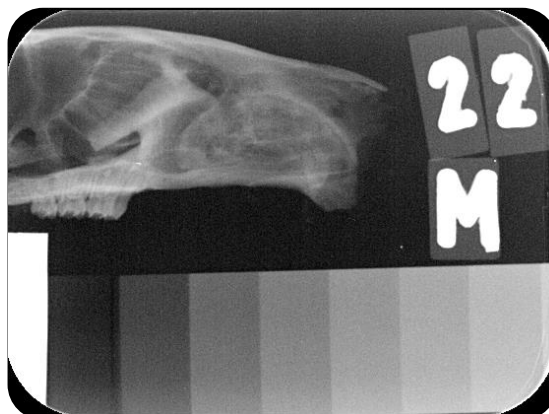


Figura 28: Imagem Radiográfica do reparo alveolar com 28 dias após extração.



Figura 30: Imagem Radiográfica do reparo alveolar com 45 dias após a extração.

Discussão

Discussão

Nos últimos anos, a imunologia que é a ciência que estuda a defesa do organismo, vem sendo mais estudada e conhecida contribuindo de maneira importante para elucidar o mecanismo de várias doenças e conseqüentemente o modo de tratá-las.

Qualquer doença provoca no organismo reações do seu sistema de defesa. Este sistema está ligado à resistência da pessoa, agindo de forma mais adequada quando há equilíbrio e saúde.

Nesta nova era da medicina, podemos contar com os imunomoduladores que são remédios ativos na cadeia do sistema imunológico. Eles não vão agir propriamente contra o vírus ou a bactérias, mas auxiliar o organismo numa defesa mais adequada evitando os efeitos indesejáveis que surgem devido a inflamação e infecção¹³.

O imunomodulador P-MAPA tem sido intensamente estudado desde os anos 80 por cientistas brasileiros, chilenos e norte-americanos. **É definido como um agregado polimérico de fosfolinoleato-palmitoleato de magnésio e amônio proteico com propriedades imunomoduladoras.** Os efeitos conhecidos até o momento do P-MAPA sobre componentes do sistema imunológico incluem a estimulação da produção de Linfócitos T que coordena a função de defesa imunológica contra vírus, bactérias e fungos, estimulando a produção de citocinas, um grupo de moléculas envolvidas na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento das respostas imunes. Podem ser enquadradas nos grupos principais: da Interleucina-2 (IL-2) que possuem várias funções, a maioria envolvidas na ativação dos linfócitos e na indução da divisão de outras células; e do Interferon-gama (IFN- γ) que são produzidos na fase inicial da infecção e constituem a primeira linha de resistência a muitas viroses. Finalmente, este imunomodulador ocasiona o aumento da atividade das células NK (natural killer) que identificam as células que estão com vírus (consequentemente comprometidas) e as destroem, além de também estimular a produção e liberação de NO por macrófagos.

Isto sugere que a atuação do P-MAPA possivelmente está relacionada a mecanismos imunoterapêuticos, uma vez que o IFN-gama, por exemplo, uma das

citocinas cuja produção é estimulada pelo composto, sabidamente exerce atividades imunoregulatórias, antivirais e antitumorais.

A utilização do P-MAPA foi comprovada, e publicada na monografia do produto, ser capaz de ser adjuvante na terapia de doenças infecto-contagiosas, hepatopatias de origem viral e neoplasias¹⁰.

Diversos achados laboratoriais nos induzem a estudar o reparo alveolar em indivíduos diabéticos sendo que estes apresentam:

1) depressão da atividade dos polimorfonucleares neutrófilos, diretamente relacionada aos níveis de hiperglicemia (principalmente na presença de acidose). Os neutrófilos apresentam-se com menor capacidade de fagocitose;

2) alteração na aderência, quimiotaxia opsonização leucocitária. O sistema imune celular apresenta uma resposta ineficiente e retardada aos agentes nocivos;

3) alteração dos sistemas antioxidantes e menor produção de interleucinas (IL-2), pontos-chave no processo inflamatório necessário a uma resposta imunológica eficaz.

É sempre muito difícil estabelecer e documentar um vínculo direto, em estudos clínicos, entre um bom controle glicêmico e uma melhor resposta imunológica. Isso se deve à existência de muitos outros fatores implicados na gênese de quadros infecciosos¹⁸.

Para induzir a diabetes nos ratos, as drogas mais utilizadas são Aloxana e a Estreptozotocina, ambas com capacidade de destruição das células pancreáticas.

A Aloxana é mais acessível que a Estreptozotocina (STZ), porém menos utilizada por apresentar dificuldades em manter os animais diabéticos em boas condições por mais tempo¹⁴.

A STZ bloqueia a produção de insulina levando a hiperglicemia, acarretando assim o diabetes mellitus tipo 1. Ela diminui a ação da adenina-nicotinamida das células beta do pâncreas, inibindo a síntese de DNA pelas células beta das ilhotas de Langerhans, bloqueando a produção da insulina irreversivelmente levando ao Diabetes Mellitus¹⁵. Na literatura, as concentrações de Estreptozotocina variam de 40mg/Kg (PEPATO et al., 1993, BOTOLIN, 2007), 50-60mg/Kg (MATTLA, 1998; GOMES, 2006), 45mg/Kg (FACCHINI, 2005) e 65mg/Kg (ROBBINS et al., 1980), dissolvidas em tampão citrato a 0,01M, pH 4,5 e as vias de administração podem ser a veia caudal, jugular, peniana entre outras. De acordo com o grau de glicemia desejada, a massa corpórea, a idade do animal a via de administração é eleita e a concentração é selecionada (PEPATO, 1992)^{16,17,18}.

As concentrações diabetogênicas utilizadas no nosso estudo foi de 35 mg/kg, que foi baseada no estudo de Aranega em 2001, que realizou um estudo piloto com

concentração de 35 mg/Kg e administração pela veia peniana, com ratos de massa corpórea de aproximadamente de 250g, onde verificou níveis glicêmicos superiores a 350mg/dl, apresentando os mesmos resultados que estudos com concentrações maiores^{19,20}. Poderíamos ter utilizado concentrações maiores e obter níveis glicêmicos ainda mais elevados, porém os animais corriam o risco de ficar mais debilitados e não suportar o tempo desejado de pesquisa.

Após a aplicação da STZ, os animais ficaram 2 dias isolados, pois a indução do diabetes pode resultar num quadro de estresse e os animais poderiam vir a óbito. Logo após os dois dias, os testes glicêmicos começaram a ser realizados verificando que todos os animais diabéticos se encontravam com nível glicêmico superior a 250 mm/dl e todos os animais do grupo controle com glicemia de até 110 mg/dl. Mesmo com todos os animais diabéticos tendo níveis de glicemia acima de 250 mg/dl foi difícil mensurar o grau diabetogênico dos animais, já que uns apresentavam níveis superiores a 600 mg/dl, que pode ser a causa dos resultados não apresentarem níveis estatísticos, já que um animal com nível superior a 600 mg/dl tem complicações mais sérias do que um animal com 250 mg/dl.

Os animais diabéticos apresentaram perda de peso e dos pêlos, fato que foi se agravando conforme o tempo passava, chegando muito debilitados no tempo de 45 dias após extração. Os ratos diabéticos não tratados mostravam-se em piores condições mesmo tendo níveis glicêmicos relativamente iguais aos tratados. Os ratos tratados apresentaram melhoras clínicas dos sintomas do diabetes, como polidipsia, polifagia e poliúria, tendo esses sinais menos evidentes. O P-MAPA não foi capaz de reverter o quadro diabético, já que os animais não apresentaram redução dos níveis de glicemia, mas foi eficaz no controle dos sintomas clínicos da doença, sugerindo uma possível ação do medicamento em nível sistêmico. Outros trabalhos devem ser realizados para a verificação da atuação sistêmica do imunomodulador.

Optamos pela análise radiográfica para a obtenção dos nossos resultados porque é uma metodologia de uso corrente na prática odontológica. O sistema digital foi eleito por não estar sujeito a erros no processamento químico.

A imagem digital é uma matriz numérica resultante da conversão de um sinal analógico para um digital onde cada ponto de informação, ou pixel. Este software fornece, entre outros, o recurso de determinação da densidade radiográfica (análise

densitométrica), ou seja, a radiopacidade de um determinado objeto, através de seus níveis de cinza.

Desde a primeira descrição do processo de reparo alveolar por Euler em 1923, vários estudos experimentais buscam definir cronologicamente as fases do processo de reparo tecidual. Apesar de haver variação cronológica entre o reparo no homem e no rato, sabe-se que os eventos são bem semelhantes²¹.

Quando se observa detalhadamente o processo de reparo alveolar, nota-se que logo após a formação do coágulo sanguíneo no interior do alvéolo, este apresenta uma distribuição irregular de células²². Células inflamatórias migram para a superfície do coágulo sanguíneo que se encontra em contato com a saliva²³.

Por volta do 7º dia Okamoto ET AL. (1994) descreveram as características morfológicas de todo o alvéolo. Os terços médio e apical possuíam trabéculas ósseas neoformadas isoladas e com intensa atividade osteoblástica. Também foram encontrados áreas de coágulo organizado com presença de fibroblastos, vasos sanguíneos neoformados e macrófagos. No terço cervical o coágulo apresenta-se menos organizado e com muitos macrófagos, alguns linfócitos e fibroblastos.

Radiograficamente, observa-se uma área radiolúcida homogênea, circundada por uma linha radiopaca contínua²⁴.

Aos 28 dias, Smith (1974) observou que o tecido ósseo preenchia todo o alvéolo e o periósteo retornara ao normal²⁵. Radiograficamente, o espaço antes radiolúcido encontrava-se preenchido por um novo tecido de radiopacidade semelhante ao do tecido ósseo adjacente. Já MARZOLA ET AL, 2006 observou radiograficamente em humanos processos de reabsorção, assim como a lâmina dura, não sendo ainda vista a radiopacidade intra-alveolar²⁶.

De acordo com Carvalho e Okamoto (1987), o reparo alveolar será considerado completo quando o alvéolo estiver preenchido por tecido ósseo neoformado e quando a crista alveolar estiver remodelada, proporcionando um equilíbrio dinâmico osteoclástico-osteoblástico e quando o novo osso estiver em condições de suportar novos estímulos²⁷. Isto pode ser observado após o sétimo mês após a exodontia (OKAMOTO, RUSSO, 1973)²⁸.

Após 45 dias da extração dental ocorre o preenchimento de 2/3 alveolares por trabéculas ósseas e osso imaturo, em cuja malha encontra-se esparsamente tecido conjuntivo fibroblástico, identificando a fase de diferenciação óssea ou mineralização. O epitélio apresenta-se com papilas normais (ABREU, 1970 e 1974 e MARZOLA, 2000, 2005 e 2008)²⁹. No aspecto radiográfico o septo interdental já está quase totalmente reabsorvido, assim como grande parte da lâmina dura. Observa-se, igualmente, certo grau de radiopacidade intra-alveolar, principalmente ao nível do fundo alveolar.

Vários trabalhos experimentais e observações clínicas têm demonstrado a interação do fenômeno reparacional com as glândulas de secreção interna. Alterações metabólicas peculiares ao diabetes, tanto aloxânica (GRANDINI; MIGLIORINI; OKAMOTO, 1970 e CARVALHO; OKAMOTO, 1987), como provocada por pancreatectomia parcial (GRANDINI, 1978), produzem acentuado atraso na reparação alveolar, em decorrência de deficiências na proliferação de fibroblastos e de osteoblastos e, conseqüentes reflexos na produção de substância fundamental amorfa, fibras colágenas e matriz orgânica^{9,28}.

Em todos os grupos observamos densidades maiores nos alvéolos que foram radiografados 28 dias após a exodontia, seguidos pelo grupo de 45 dias. Os alvéolos radiografados com 7 dias após a exodontia apresentavam a menor densidade radiográfica independente do grupo e do tratamento ou não recebido. Isto se deve ao fato de que a densidade radiográfica não pode ser considerada como densidade óssea, a primeira indica o grau de escurecimento da imagem, o quanto denso está o alvéolo; já a segunda afirma o quanto se produziu de mineralização. Um coágulo formado no alvéolo pode ter uma densidade radiográfica maior do que trabéculas ósseas recém formadas, contribuindo com nossos resultados que evidenciaram uma semelhança entre os grupo de 7 e 45 dias. O ideal seria realizar a metodologia de densitometria óssea e/ou a análise microscópica para uma associação plena dos resultados. Como o alvéolo do rato tem o tamanho muito reduzido apenas na análise microscópica será possível de se obter resultados mais satisfatórios.

Quando comparados os grupos não observamos diferenças estatísticas nos tempos de 7 e 45 dias. Porém no tempo de 28 dias, observamos diferença estatística entre os grupos Diabéticos Tratados e Controle Tratado, sendo que o primeiro grupo obteve um aumento de densidade maior que o segundo. Isto pode se dever ao fato do

grupo Controle Tratado ter se mantido aproximadamente com as mesmas densidades durante todos os tempos, já o grupo Diabético Tratado ter variado de níveis muito baixos de densidade para níveis superiores aos do grupo Controle Tratado, indicando um papel de modulação positiva do medicamento nestes casos.

Na comparação entre os tempos observamos que o grupo Diabético Tratado teve diferença significativa quando comparamos 7 dias com 28 dias, e 7 dias com 45 dias, evidenciando que o maior aumento de densidade ocorreu nos primeiros 28 dias.

Já no grupo Diabético Controle, observamos que as diferenças estatísticas ocorreram na comparação entre 7 e 28 dias; e entre 28 e 45 dias, podendo sugerir que houve um aumento na densidade no tempo de 28 dias seguida de sua queda, voltando a aproximadamente ao tempo de 7 dias.

No grupo Controle Tratado, não observamos diferenças estatísticas entre os tempos, porém a média de densidade, mesmo não sendo de relevância estatística, apresentou-se com números elevados que todos os tempos estudados, indicando um processo de reparo homogêneo.

No grupo Controle, as diferenças estatísticas se deram em todas as comparações feitas, significando que a densidade não foi igual em nenhum dos tempos.

Frente a tais achados imagenológicos e à necessidade de esclarecimento por metodologias mais sensíveis, indicamos que haverá a confecção de processamento laboratorial e análise microscópica para que a associação com este método de avaliação nos mostre mais claramente o que se passa no processo de reparo das amostras coletadas.

Conclusão

Conclusão

1. A metodologia utilizada no trabalho não nos permitiu dizer qual grupo obteve melhor resultado no processo de reparo alveolar.
2. Sugere-se que o imunomodulador P-MAPA teve intervenção positiva nos grupos tratados, tanto diabéticos, como nos controles.
3. O P-MAPA teve resultado na diminuição dos sintomas clínicos dos ratos diabéticos, observando melhoras nos quadros de polidipsia, polifagia e poliúria.
4. Deve-se essencialmente realizar a análise histológica dos alvéolos para conclusão definitiva do trabalho.

Referências
Bibliográficas

Referências Bibliográficas

- 1- Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus. Diabetes Care 2005; 28 Suppl 1: S4-S36.
- 2- Standards Of Medical Care in diabetes. Diabetes Care 2005; 28 Suppl 1: S37-42.
- 3- King H, Aubert RE, Herman WH, Global Burden of Diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. Diabetes Care 1998; 21:1414-31.
- 4- Gilmer TP, O' Connor PJ, Rush WA, Crain AL, Whitebird RR, Hanson AM, et al. Predictors of health care cost in adults with diabetes. Diabetes Care 2005; 28:59-64.
- 5- Mealey BL, Oates TW. Diabetes Mellitus and periodontal diseases. J Periodontol 2006; 77:1289-303.
- 6- Diabetes and Periodontal diseases. Committee on research, Science and therapy. American academy of Periodontology. J Periodontol 2007;71:664-78.
- 7- Aldridge JP, Lester V, Watts TL, Collins A, Vibert G, Wilson RF. Single Blind studies of the effects of improved periodontal health on metabolic control in type 1 diabetes mellitus. J clin Periodontol 1995, 22:271-5.
- 8- Fiske J. Diabetes mellitus and oral care. Dent update 2004;31:190-6, 1998.
- 9- Grandini, S.A. The effect of partial-pancreatectomy-induced diabetes on wound healing subsequent to tooth extraction. Histologic study in rats. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., v.45, n.2, p.190-9, 1978.
- 10- www.farmabrasilis.org.br, Monografia do Produto.
- 11- SALZEDAS, L.M.P.; LOUZADA, M.J.Q.; OLIVEIRA FILHO, A.B. Radiopacity of restorative materials using digital images. *J Appl Oral Sci* 2006;14(2):147-52.
- 12- Wikipédia, a enciclopédia livre. Imunologia
- 13- McMahon MM, Bistrian BR. Host defenses and susceptibility to infection in patients with diabetes mellitus. Infect Dis Clin North Am 1995;9:1-9.
- 14 - LUCIANO, E.; MELLO, M.A.R. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculos de ratos diabéticos experimentais. Rev. Paul. Educ. Fís., v.12, n.2, p.202-209, 1998.
- 15 - MENDEZ J.D, RAMOS H.G. Animal models in diabetes research. Arch Med Res., v.25, n.4, p.367-375, 1994.

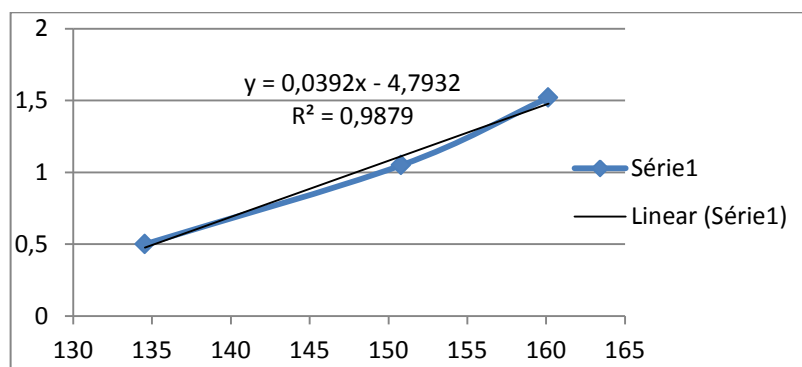
- 16- PEPATO, M.T. Estudo da degradação e síntese de proteínas em músculo esquelético de ratos diabéticos. Ribeirão Preto, 1992. 183f. Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
- 17- ROBBINS, M.J., SHARP, R.A., SLONIM, A.E., BURR, I.M. Protection against streptozotocin-induced diabetes by superoxide dismutase. *Diabetologia*, v.18, n.1, p.55-8, 1980.
- 18- MATTILA, P.T.; KNUUTILA, M.L.E.; SVANBERG, M.D. Dietary xylitol supplementation prevents osteoporotic changes in streptozotocin-diabetic rats. *Metabolism*, v.47, n.5, p. 578-583, 1998.
- 19- ARANEGA, A. Análise histomorfométrica da reparação de alvéolos infectados após extração dental em ratos diabéticos controlados e não controlados. Araçatuba, 2001. 226 f. Tese (Doutorado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista - UNESP.
- 20- ARANEGA, A. Análise microbiológica de feridas infectadas após extração dental em ratos diabéticos não controlados. Araçatuba, 1999. 168 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista - UNESP.
- 21- Euler H. Heilung Von extractions wunden: line tue experimentalle studie. *Dtsch Mschr Zahnheilk*. 1923; 41:687-700.
- 22- HUEBSCH, R. F.; HANSEN, L. S. A histological study of extraction wounds in dogs. *Oral Surg.*, v. 28, p. 187-96, 1969.
- 23- SIMPSON, H. E. - The healing of extraction wounds. *Brit. dent. J.*, v. 126, p. 550-7, 1969.
- 24 - MARZOLA, C. Fundamentos de Cirurgia Buco Maxilo Facial. São Paulo: Ed. Big Forms, 2008.
- 25- Smith N. A comparative histological and radiografic study of extraction socket healing in the rat. *Aust Dent J*. 1974; 19(4):250-4
- 26- MARZOLA, C. Fundamentos de Cirurgia Buco Maxilo Facial. CDR. Bauru: Ed. Independente, 2005.
- 27- CARVALHO, A. C. P.; OKAMOTO, T. Cirurgia bucal: fundamentos experimentais aplicados à clínica. São Paulo: Ed. Panamericana, 1987.
- 28- Okamoto T, Russo MC. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. *Rer Fac Odontol Araçatuba*, 1973; 2 (2):153-64
- 29- MARZOLA, C.. Técnica Exodôntica. 3ª ed. São Paulo: Ed. Pancast, 2000.

Apêndice

Apêndice 1: Tabela de relação da média da densidade do degrau com seu correspondente em mm/Al.

Rato	degrau	mm Al
14	134,55	0,5
	150,82	1,05
	160,15	1,52

Apêndice 2: Gráfico elaborado a partir da tabela do Apêndice 1; e equação para a determinação do equivalente a mm/Al do terço do alvéolo.



Apêndice 3: Resultados estatísticos da comparação entre os tempos:

3.1) 7 dias

Resultados 7 dias		Análise dos grupos		
	DT	DC	CT	C
Number of values	5	5	5	4
Minimum	0,2003	0,4121	0,5768	0,5527
25% Percentile				
Median	0,434	0,6969	0,5907	0,597
75% Percentile				
Maximum	0,6431	0,8573	0,6705	0,7136
Mean	0,4489	0,6555	0,6095	0,6151
Std. Deviation	0,1929	0,1635	0,0408	0,07108
Std. Error	0,08627	0,07312	0,01825	0,03554
Lower 95% CI	0,2094	0,4524	0,5588	0,502
Upper 95% CI	0,6885	0,8585	0,6602	0,7282
Normality Test				
KS distance	0,2344	0,2001	0,2773	N too small
P value	P > 0.10	P > 0.10	P > 0.10	
Passed normality test (*=0.05)?	Yes	Yes	Yes	
P value summary	ns	ns	ns	

Resultado da análise da tabela a esquerda				
One-way analysis of variance				
P value	0,1272			
P value summary	ns			
Are means signif. different? (P < 0.05)	No			
Number of groups	4			
F	2,227			
R squared	0,3081			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	0,1236	3	0,04121	
Residual (within columns)	0,2776	15	0,01851	
Total	0,4012	18		
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
DIABÉTICOS TRATADOS vs DIABÉTICOS CONTROLE	-0,2065	3,395	P > 0.05	-0.4545 to 0.04146
DIABÉTICOS TRATADO vs CONTROLE TRATADO	-0,1606	2,639	P > 0.05	-0.4085 to 0.08740
DIABÉTICOS TRATADOS vs CONTROLE	-0,1661	2,575	P > 0.05	-0.4291 to 0.09689
DIABÉTICOS CONTROLE vs CONTROLE TRATADO	0,04595	0,7552	P > 0.05	-0.2020 to 0.2939
DIABÉTICOS CONTROLE vs CONTROLE	0,04039	0,6259	P > 0.05	-0.2226 to 0.3034
CONTROLE TRATADO vs CONTROLE	-0,00556	0,08616	P > 0.05	-0.2686 to 0.2575

3.2) 28 Dias:

28 dias		Análise dos grupos		
	DT	DC	CT	C
Number of values	5	6	6	4
Minimum	1,029	0,7269	0,5476	1,147
25% Percentile		0,941	0,6753	
Median	1,301	1,255	0,9354	1,182
75% Percentile		1,274	1,081	
Maximum	1,385	1,275	1,097	1,319
Mean	1,262	1,157	0,8971	1,207
Std. Deviation	0,136	0,2152	0,2112	0,0773
Std. Error	0,061	0,08787	0,0862	0,0387
Lower 95% CI	1,094	0,9308	0,6755	1,084
Upper 95% CI	1,431	1,383	1,119	1,33
Normality Test				
KS distance	0,391	0,3413	0,2477	N too small
P value	P > 0.10	P > 0.10	P > 0.10	
Passed normality test (*=0.05)?	Yes	Yes	Yes	
P value summary	ns	ns	ns	

Table Analyzed				
One-way analysis of variance				
P value	0,0163			
P value summary	*			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	4			
F	4,543			
R squared	0,445			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	0,438	3	0,146	
Residual (within columns)	0,5463	17	0,03213	
Total	0,9843	20		
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
DIABÉTICOS TRATADOS vs DIABÉTICOS CONTROLE	0,1057	1,377	P > 0.05	-0.2028 to 0.4143
DIABÉTICOS TRATADOS vs CONTROLE TRATADO	0,3653	4,759	P < 0.05	0.05674 to 0.6738
DIABÉTICOS TRATADOS vs CONTROLE	0,05497	0,6465	P > 0.05	-0.2869 to 0.3968
DIABÉTICOS CONTROLE vs CONTROLE TRATADO	0,2596	3,547	P > 0.05	-0.03461 to 0.5538
DIABÉTICOS CONTROLE vs CONTROLE	-0,05073	0,6201	P > 0.05	-0.3797 to 0.2782
CONTROLE TRATADO vs CONTROLE	-0,3103	3,793	P > 0.05	-0.6392 to 0.01860

3.3) 45 dias

45 dias				
	DT	DC	CT	C
Number of values	5	6	5	3
Minimum	0,5623	0,6447	0,4861	0,8148
25% Percentile		0,6779		
Median	1,015	0,8299	0,7513	0,8218
75% Percentile		0,8919		
Maximum	1,209	0,9151	1,083	0,8546
Mean	0,9448	0,7999	0,8219	0,8304
Std. Deviation	0,2403	0,103	0,2502	0,02121
Std. Error	0,1075	0,04205	0,1119	0,01225
Lower 95% CI	0,6465	0,6918	0,5112	0,7777
Upper 95% CI	1,243	0,908	1,133	0,8831
Normality Test				
KS distance	0,2294	0,2031	0,2279	N too small
P value	P > 0.10	P > 0.10	P > 0.10	
Passed normality test (*=0.05)?	Yes	Yes	Yes	
P value summary	ns	ns	ns	

Table Analyzed				
One-way analysis of variance				
P value	0,62			
P value summary	ns			
Are means signif. different? (P < 0.05)	No			
Number of groups	4			
F	0,608			
R squared	0,1084			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	0,06509	3	0,0217	
Residual (within columns)	0,5352	15	0,03568	
Total	0,6003	18		
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
DIABÉTICOS TRATADOS vs DIABÉTICOS CONTROLE	0,1449	1,792	P > 0.05	-0.1847 to 0.4746
DIABÉTICOS TRATADOS vs CONTROLE TRATADO	0,1229	1,455	P > 0.05	-0.2214 to 0.4673
DIABÉTICOS TRATADOS vs CONTROLE	0,1144	1,173	P > 0.05	-0.2832 to 0.5120
DIABÉTICOS CONTROLE vs CONTROLE TRATADO	-0,02198	0,2717	P > 0.05	-0.3516 to 0.3077
DIABÉTICOS CONTROLE vs CONTROLE	-0,03052	0,3231	P > 0.05	-0.4155 to 0.3545
CONTROLE TRATADO vs CONTROLE	-0,00854	0,08753	P > 0.05	-0.4061 to 0.3891

Apêndice 4: Comparação entre os tempos

4.1) Diabético Tratado

	7 dias	28 dias	45 dias
Number of values	5	5	5
Minimum	0,2003	1,029	0,5623
25% Percentile			
Median	0,434	1,301	1,015
75% Percentile			
Maximum	0,6431	1,385	1,209
Mean	0,4489	1,262	0,9448
Std. Deviation	0,1929	0,1358	0,2403
Std. Error	0,08627	0,06073	0,1075
Lower 95% CI	0,2094	1,094	0,6465
Upper 95% CI	0,6885	1,431	1,243
Normality Test			
KS distance	0,2344	0,3911	0,2294
P value	P > 0.10	P > 0.10	P > 0.10
Passed normality test (*=0.05)?	Yes	Yes	Yes
P value summary	ns	ns	ns

Table Analyzed				
One-way analysis of variance				
P value	P<0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	3			
F	22,24			
R squared	0,7875			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	1,114			
P value	0,5729			
P value summary	ns			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	1,681	2	0,8404	
Residual (within columns)	0,4536	12	0,0378	
Total	2,134	14		
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
7 dias vs 28 dias	-0,814	9,356	P < 0.001	-1.142 to -0.4854
7 dias vs 45 dias	-0,496	5,703	P < 0.01	-0.8239 to -0.1678
28 dias vs 45 dias	0,3176	3,653	P > 0.05	-0.01045 to 0.6456

4.2) Diabéticos Controle

	7 dias	28 dias	45 dias
Number of values	5	6	6
Minimum	0,4121	0,7269	0,6447
25% Percentile		0,941	0,6779
Median	0,6969	1,255	0,8299
75% Percentile		1,274	0,8919
Maximum	0,8573	1,275	0,9151
Mean	0,6555	1,157	0,7999
Std. Deviation	0,1635	0,2152	0,103
Std. Error	0,07312	0,08787	0,04205
Lower 95% CI	0,4524	0,9308	0,6918
Upper 95% CI	0,8585	1,383	0,908
Normality Test			
KS distance	0,2001	0,3413	0,2031
P value	P > 0.10	P > 0.10	P > 0.10
Passed normality test (*=0.05)?	Yes	Yes	Yes
P value summary	ns	ns	Ns

Table Analyzed				
One-way analysis of variance				
P value	0,0006			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	3			
F	13,4			
R squared	0,6569			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	2,286			
P value	0,3189			
P value summary	ns			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	0,7498	2	0,3749	
Residual (within columns)	0,3916	14	0,02797	
Total	1,141	16		
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
7 dias vs 28 dias	-0,501	7	P < 0.001	-0.7663 to -0.2362
7 dias vs 45 dias	-0,144	2,017	P > 0.05	-0.4095 to 0.1207
28 dias vs 45 dias	0,3568	5,226	P < 0.01	0.1041 to 0.6096

4.3) Controle Tratado

	7 dias	28 dias	45 dias
Number of values	5	6	5
Minimum	0,5768	0,5476	0,4861
25% Percentile		0,6753	
Median	0,5907	0,9354	0,7513
75% Percentile		1,081	
Maximum	0,6705	1,097	1,083
Mean	0,6095	0,8971	0,8219
Std. Deviation	0,0408	0,2112	0,2502
Std. Error	0,01825	0,08621	0,1119
Lower 95% CI	0,5588	0,6755	0,5112
Upper 95% CI	0,6602	1,119	1,133
Normality Test			
KS distance	0,2773	0,2477	0,2279
P value	P > 0.10	P > 0.10	P > 0.10
Passed normality test (*=0.05)?	Yes	Yes	Yes
P value summary	ns	ns	Ns

Table Analyzed				
One-way analysis of variance				
P value	0,0742			
P value summary	ns			
Are means signif. different? (P < 0.05)	No			
Number of groups	3			
F	3,198			
R squared	0,3298			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	8,463			
P value	0,0145			
P value summary	*			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	0,2362	2	0,1181	
Residual (within columns)	0,48	13	0,03692	
Total	0,7162	15		
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
7 dias vs 28 dias	-0,288	3,496	P > 0.05	-0.5949 to 0.01969
7 dias vs 45 dias	-0,212	3,506	P > 0.05	-0.4386 to 0.01386
28 dias vs 45 dias	0,0752	0,915	P > 0.05	-0.2321 to 0.3825

4.4) Controle

	7 dias	28 dias	45 dias
Number of values	4	4	3
Minimum	0,5527	1,147	0,8148
25% Percentile			
Median	0,597	1,182	0,8218
75% Percentile			
Maximum	0,7136	1,319	0,8546
Mean	0,6151	1,207	0,8304
Std. Deviation	0,07108	0,07733	0,02121
Std. Error	0,03554	0,03866	0,01225
Lower 95% CI	0,502	1,084	0,7777
Upper 95% CI	0,7282	1,33	0,8831
Normality Test			
KS distance	N too small	N too small	N too small
P value			
Passed normality test (*=0.05)?			
P value summary			

Table Analyzed				
Data Table-1				
One-way analysis of variance				
P value	P<0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	3			
F	84,26			
R squared	0,9547			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	0,7161	2	0,358	
Residual (within columns)	0,034	8	0,004249	
Total	0,75	10		
Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	P value	95% CI of diff
7 dias vs 28 dias	-0,592	18,17	P < 0.001	-0.7241 to -0.4607
7 dias vs 45 dias	-0,215	6,117	P < 0.01	-0.3576 to -0.07309
28 dias vs 45 dias	0,377	10,71	P < 0.001	0.2348 to 0.5193

Anexo

Anexo 1: Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO IMUNOMODULADOR P-MAPA EM RATOS DIABÉTICOS"** sob responsabilidade do **Profa. Dra. Renata Callestini Felipini** e colaboração de **Gabryela Nascimento Canedo, Leonardo Bueno Torcato, Priscilla Cardoso Lazari, Tales Candido Garcia da Silva, Thalles Mayckon Vieira Araújo** está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em 23/04/2009 de acordo com o protocolo 2009-002984.

Araçatuba, 23 de Abril de 2009

Prof.^a Adj. Tereza Cristina Cardoso da Silva
Presidente da CEEA- FOA/UNESP

Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária – Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Rua Clóvis Pestana, 793 CEP 16050-680 Araçatuba – SP
Tel (18) 3636- 1350 Fax (18) 3636- 1352 E-mail: dapsa@fmva.unesp.br