

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

CAMILA LOPES CARDOSO

**Análise morfométrica e molecular da alveolite induzida em ratos com
diferentes modalidades de tratamento**

Bauru
2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CAMILA LOPES CARDOSO

Análise morfométrica e molecular da alveolite induzida em ratos com diferentes modalidades de tratamento

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Odontologia.

Área de concentração: Estomatologia.
Orientador: Prof. Dr. Osny Ferreira Júnior

Bauru
2009

FICHA TÉCNICA

Camila Lopes Cardoso: Concepção, execução, texto, análise estatística.

Prof. Dr. Osny Ferreira Júnior: Concepção, orientação, revisão final.

Prof. Dr. Paulo S. Perri de Carvalho: Concepção, bibliografia, orientação experimental.

Prof. Dr. Gustavo P. Garlet: Consultoria e orientação, processamento histológico, morfometria e biologia molecular.

Moacyr Tadeu Vicente Rodrigues: Orientação e bibliografia.

Etiene Munhoz, Ana Cláudia de Araújo, Marcelo Poleti: Auxílio laboratorial e experimental.

Daniel Selmo (Bonné): Impressão e encadernação.

André L. da Silva, Daniele Ceolin, Tânia Cestari e Thiago José Dionísio: Auxílio técnico-laboratorial e fotomicrografias.

Cardoso, Camila Lopes

C179a ANÁLISE MORFOMÉTRICA E MOLECULAR DA ALVEOLITE
INDUZIDA EM RATOS COM DIFERENTES MODALIDADES DE
TRATAMENTO / Camila Lopes Cardoso. - Bauru, 2009
194p ; il. ; 30cm.

Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Odontologia de Bauru-USP

Orientador: Prof. Dr. Osny Ferreira Júnior

Autorizo, exclusivamente, para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Bauru, março de 2009.

Projeto de Pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa em animais da FOB-USP em 16 de fevereiro de 2007, processo número 26/2006

DADOS CURRICULARES

Camila Lopes Cardoso

02 de setembro de 1981	Nascimento em Bauru-SP.
Filiação	Luiz Augusto Andrade Cardoso. Carmen Regina Lopes Cardoso.
2001-2004	Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
2003-2004	Bolsista de Iniciação Científica (CNPQ), sob orientação do Prof. Dr. Luís Antônio de Assis Taveira (Patologia), Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
2005-2007	Prática Profissionalizante junto à Disciplina de Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
2006	Curso de Aperfeiçoamento em Implantodontia – IEO (Instituto de Ensino Odontológico, Bauru-SP).
2007-2009	Curso de Pós-Graduação em Estomatologia em nível de Mestrado, Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais **Carmen e Lú**, que com muita luta e amor, educaram seus filhos.*

*Ao meu orientador **Professor Dr. Osny Ferreira Júnior** agradeço a oportunidade de orientação, bem como a confiança na realização deste trabalho. Admiro muito sua integridade de caráter, bondade e respeito com seus alunos. Sua paciência e orientação científica me proporcionaram um grande enriquecimento pessoal e profissional.*

Minha gratidão!

AGRADECIMENTOS

*A **DEUS**, a força maior do Universo.*

*Ao meu **PAI Lú**, exemplo de bondade, carinho e humildade. Amo você, PAI.*

*A minha **MÃE Carmen**, exemplo de luta e paciência. Amo você, MÃE.*

*Aos meus **IRMÃOS Carolina, Bruna e João Luiz**. Amo vocês!*

*Ao meu amor **Thiago Amadei Pegoraro**. “Você é assim, um sonho pra mim e quando não te vejo penso em você desde o amanhecer até quando me deito. Eu gosto de você, gosto de ficar com você, meu riso é tão feliz contigo, o meu melhor amigo é o meu amor. Seus olhos, meu clarão, me guiam dentro da escuridão. Seus pés me abrem o caminho, eu sigo e nunca me sinto só...”*

(Tribalhistas) Te amo amo amo!

*A minha **Vó Suzana**, aos meus tios e tias, primos e primas, que tanto se preocupam com nossa família e torcem pelo sucesso de todos.*

*Aos meus colegas de turma **Gabriel, Elen, Manú, Marcelo, Etiene, Ana Cláudia, Cristiano, Fernando, Zanda, Renata, Martinha, Geléia, Letícia, Bruna Centurion e Kellen Tjioe** por todos os momentos de alegria e descontração e pela constante manifestação de amizade.*

*Ao **Moacyr Tadeu**, obrigada pela orientação, apoio e participação neste trabalho.*

*Agradeço aos professores **Dr. José Humberto Damante, Luiz Eduardo Montenegro Chinellato, Ana Lúcia Alvares Capelozza, Izabel Regina Rubira Fisher Bullen, Eduardo Sant’Ana, Osny Ferreira Júnior, Paulo Sérgio Perri de Carvalho e Eduardo Sanches** a oportunidade de realização do curso de Pós-graduação em Estomatologia na Faculdade de Odontologia de Bauru da USP; seus ensinamentos pessoais e profissionais, fundamentados no rigor científico e compromisso com a ciência levarei como lição. Sou grata pelo incentivo constante.*

*Ao Professor **Dr. Gustavo Garlet**, sua participação foi fundamental na execução deste trabalho, obrigada pela confiança e atenção.*

*Ao **Thiago José Dionísio**, sempre disposto, sério e atencioso. Obrigada pela paciência que teve durante os experimentos que precisei de sua ajuda.*

*Ao Professor e AMIGO **Luís Antônio de Assis Taveira**, obrigada pelo apoio em todas as minhas fases na FOB-USP.*

*A Professora **Eloísa Pereira**, obrigada pela revisão do português e a preocupação sempre!*

*A **Camila Medina**, grande artista, sempre criativa e disposta a ajudar, e ao **Daniel Bonné** que me ajudou na formatação e impressão da tese.*

*Aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado, torcendo pela minha carreira profissional, em especial, **Alessandra Garla, Patrícia Freitas-Faria, Hellen Rose, Jú e Daniel Freitas**.*

*A todos os funcionários do Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia de Bauru, em especial à **Marília, Roque, Lú, Elza, Josi, Roberto, Fer, Pat e Alexandre**, pela prontidão com que sempre me atenderam.*

*Aos técnicos de Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru **Erasmus; Luis; Richard e Elias** pela disponibilidade e atenção dispensada na parte experimental do trabalho.*

*A **CAPES** e a **FAPESP** pelo auxílio pecuniário.*

“O único homem que está isento de erros, é aquele que não arrisca acertar...”

Albert Einstein

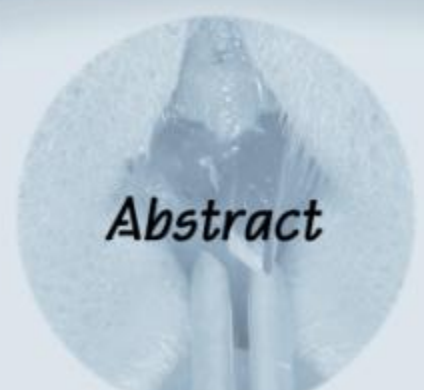


Resumo

RESUMO

A alveolite é uma complicação pós-operatória de carácter inflamatório que acomete alvéolos de dentes recém-extraídos. A incidência dessa complicação varia de 1 a 4% e pode chegar a 30%. O objetivo deste estudo foi analisar os mecanismos biológicos envolvidos no processo de reparo de alvéolos intencionalmente infectados, em ratos; comparar diferentes modalidades de tratamento e correlacionar os resultados encontrados através de duas análises (microscópica e molecular). Foram utilizados 84 ratos, divididos nos grupos: I: alvéolo não infectado; II: alvéolo infectado sem nenhum tratamento; III: alvéolo infectado tratado com irrigação de solução de iodeto de sódio a 2% e peróxido de hidrogênio a 3% na proporção de 1:1; e IV: alvéolo infectado submetido à curetagem, irrigação com soro fisiológico e preenchimento com uma pasta à base de metronidazol. Os animais foram eutanasiados aos 6, 15 e 28 dias pós-operatório. Foi realizada a análise quantitativa da expressão de genes envolvidos no processo de reparo [colágeno tipo I (COL-I), fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), osteocalcina (OCN), fosfatase alcalina (ALP), runt-related transcription factor 2 (RUNX2) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)], através da RealTimePCR, correlacionando sua expressão com as características microscópicas observadas qualitativa e quantitativamente. Com base nos resultados da análise microscópica e molecular, podemos concluir que os marcadores RUNX2, OCN e TNF- α podem ser usados como indicadores para avaliar a neoformação óssea e a quantidade de infiltrado inflamatório em alveolite. Os marcadores ALP e VEGF não representaram adequadamente o que se observou microscopicamente. Embora o tratamento da alveolite com a pasta à base de metronidazol promova maior densidade de neoformação óssea aos 28 dias, não há diferenças entre os tratamentos.

Palavras-chave: Alvéolo seco. Metronidazol. Iodeto de sódio. Peróxido de hidrogênio. Cirurgia bucal. Osteocalcina. RUNX2. Fosfatase alcalina. Fator de Necrose Tumoral alfa. Fator de Crescimento do Endotélio Vascular. Colágeno tipo I.



Abstract

ABSTRACT

Molecular and morphometric analysis of induced dry socket in mice with different treatment conditions.

Dry socket is an inflammatory postoperative complication that undertakes sockets of recently extracted teeth. The incidence of such complication varies from 1 to 4% and might reach up to 30%. The objective of this study was to analyze the biological mechanisms involved in the repair process of intentionally infected sockets in mice; compare different treatment conditions and correlate the results of two different analysis (microscopic and molecular). 84 mice were used in this study, divided according the following groups: I: uninfected socket; II: infected socket without any treatment; III: infected socket treated with irrigation of 2% sodium iodide and 3% hydrogen peroxide solution at 1:1 proportion; and IV: infected socket submitted to curettage, physiological saline solution irrigation and fulfillment with metronidazole base paste. The animals were killed at a postoperative period of 6, 15 and 28 days. A quantitative analysis was performed using a RealTimePCR to evaluate the genes expression involved [Collagen Type I (COL-I), vascular endothelial growth factor (VEGF), osteocalcin (OCN), alkaline phosphatase (ALP), runt-related transcription factor 2 (RUNX2) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)], in the repair process, correlating its expression with the microscopic characteristics observed in both qualitative and quantitative manner. Based in the results of the microscopic and molecular analysis, it can be concluded that the RUNX2, OCN and TNF- α markers can be used as indicators to evaluate the dry socket bone neoformation and inflammatory infiltrate quantity. The ALP and VEGF markers did not represented appropriately what was observed microscopically. Although the dry socket treatment with metronidazole base paste promotes an increase in the bone neoformation density at 28 days, no difference was found among the treatments.

Key-words: Hydrogen Peroxide. Sodium Iodide. Metronidazole. Dry Socket. Surgery, Oral. Osteocalcin. Runt-related transcription factor 2. Alkaline Phosphatase. Vascular Endothelial Growth Factor. Tumor Necrosis Factor-alpha. Collagen Type I.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1- Vista frontal do animal após a anti-sepsia extra e intrabucal com iodo tópico.....	82
Figura 2A e 2B - Espátula utilizada para a exodontia, especificamente na desinserção dos tecidos moles e na luxação do dente.....	83
Figura 3A e 3B - Posicionamento do instrumento e luxação do incisivo central superior direito	84
Figura 4A e 4B - Pinça utilizada na exodontia e posicionamento da mesma.....	85
Figura 5A e 5B – Exodontia.....	86
Figura 6 - Alvéolo após exodontia	87
Figura 7 - Incisivo central superior direito.....	87
Figura 8A e 8B - Introdução de um cone absorvente embebido em adrenalina 1:1000 no alvéolo e sua isquemia após 1 minuto.....	88
Figura 9A e 9B - Contaminação do alvéolo com um cone absorvente embebido com a suspensão de bactérias.....	90
Figura 10 - Alveolite constatada no terceiro dia após a exodontia.....	91
Figura 11- Curetagem do alvéolo realizada no Grupo IV.....	92
Figura 12 - Alvéolo preenchido pela pasta a base de metronidazol no Grupo IV.....	92
Figura 13 - Irrigação com iodeto de sódio 2% e peróxido de hidrogênio 3% no Grupo III.....	93
Figura 14A e 14B - Imagens da maxila do rato removida para análise microscópica do alvéolo.....	94
Figura 15A e 15B - Imagens do alvéolo isolado da maxila e triturado para análise molecular.....	96
Figura 16 e 17 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo I, no período de 6 dias pós-exodontia	104
Figura 18 e 19 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo II, no período de 6 dias pós-exodontia.....	105
Figura 20 e 21 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo III, no período de 6 dias pós-exodontia.....	106
Figura 22 e 23 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo IV, no período de 6 dias pós-exodontia	107
Figura 24 e 25 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo I, no período de 15 dias pós-exodontia	108
Figura 26 e 27 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo II, no período de 15 dias pós-exodontia.....	109
Figura 28 e 29 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo III, no período de 15 dias pós-exodontia.....	110
Figura 30 e 31 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo IV, no período de 15 dias pós-exodontia	111
Figura 32 e 33 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo I, no período de 28 dias pós-exodontia	112

Figura 34 e 35 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo II, no período de 28 dias pós-exodontia113

Figura 36 e 37 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo III, no período de 28 dias pós-exodontia.....	114
Figura 38 e 39 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo IV, no período de 28 dias pós-exodontia	115
Figura 40 - Representação gráfica da correlação entre as variáveis selecionadas, realizada pelo teste de regressão linear.....	135

GRÁFICOS

Gráfico 1 - Densidade de tecido ósseo, por grupo, ao longo dos períodos.....	145
Gráfico 2 – Expressão de osteocalcina, por grupo, ao longo dos períodos	147
Gráfico 3 – Expressão de fosfatase alcalina, por grupo, ao longo dos períodos	147
Gráfico 4 – Expressão de RUNX2, por grupo, ao longo dos períodos.....	148
Gráfico 5 – Correlação entre a densidade de tecido ósseo e a expressão de fatores relacionados ao metabolismo ósseo do Grupo I, ao longo do tempo.....	149
Gráfico 6 – Correlação entre a densidade de tecido ósseo e a expressão de fatores relacionados ao metabolismo ósseo do Grupo II, ao longo do tempo.....	150
Gráfico 7 – Correlação entre a densidade de tecido ósseo e a expressão de fatores relacionados ao metabolismo ósseo do Grupo III, ao longo do tempo.....	150
Gráfico 8 – Correlação entre a densidade de tecido ósseo e a expressão de fatores relacionados ao metabolismo ósseo do Grupo IV, ao longo do tempo.....	151
Gráfico 9 - Níveis de densidade de tecido conjuntivo, por grupo, ao longo dos períodos.....	152
Gráfico 10 – Expressão de colágeno tipo I, por grupo, ao longo dos períodos.....	153
Gráfico 11 - Densidade de tecido conjuntivo e expressão de colágeno tipo I, do Grupo I, ao longo do tempo	153
Gráfico 12 – Densidade de tecido conjuntivo e expressão de colágeno tipo I, do Grupo II, ao longo do tempo	154
Gráfico 13 – Densidade de tecido conjuntivo e expressão de colágeno tipo I, do Grupo III, ao longo do tempo.....	154
Gráfico 14 – Densidade de tecido conjuntivo e expressão de colágeno tipo I, do Grupo IV, ao longo do tempo	155
Gráfico 15 - Densidade de infiltrado inflamatório, por grupo, ao longo dos períodos.....	156
Gráfico 16 – Expressão de TNF- α , por grupo, ao longo dos períodos.....	157
Gráfico 17 – Densidade de infiltrado inflamatório e a expressão de TNF- α , do Grupo I, ao longo do tempo	158
Gráfico 18 - Densidade de infiltrado inflamatório e a expressão de TNF- α , do Grupo II, ao longo do tempo	158

Gráfico 19 – Densidade de infiltrado inflamatório e a expressão de TNF- α , do Grupo III, ao longo do tempo159

Gráfico 20 – Densidade de infiltrado inflamatório e a expressão de TNF- α , do Grupo IV, ao longo do tempo	159
Gráfico 21 - Densidade de vasos sanguíneos, por grupo, nos diferentes períodos	160
Gráfico 22 – Expressão de VEGF, por grupo, ao longo dos períodos	161
Gráfico 23 – Densidade de vasos sanguíneos e a expressão de VEGF, do Grupo I, ao longo do tempo	161
Gráfico 24 – Densidade de vasos sanguíneos e a expressão de VEGF, do Grupo II, ao longo do tempo	162
Gráfico 25 – Densidade de vasos sanguíneos e a expressão de VEGF, do Grupo III, ao longo do tempo	162
Gráfico 26 – Densidade de vasos sanguíneos e a expressão de VEGF, do Grupo IV, ao longo do tempo	163
Gráfico 27 - Níveis de densidade de coágulo sanguíneo, por grupo, ao longo dos períodos	164

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Desenho dos primers criado pelo programa Primer Express (Applied Biosystem).....	98
Tabela 2 - Média, desvio padrão e mediana da densidade óssea por grupo, em cada período estudado	117
Tabela 3 - Diferenças entre grupos, pelo teste de Dunn, aos 6 dias.....	117
Tabela 4 - Diferenças entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 15 dias	118
Tabela 5 - Diferenças entre grupos, pelo teste de Dunn, aos 28 dias.....	118
Tabela 6 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo I.....	118
Tabela 7 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo II.....	119
Tabela 8 - Diferença entre períodos, pelo teste de Dunn, no Grupo III.....	119
Tabela 9 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.	119
Tabela 10 - Média, desvio padrão e mediana da densidade de tecido conjuntivo, por grupo, em cada período estudado.....	120
Tabela 11 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo I.....	120
Tabela 12 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo II.....	120
Tabela 13 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.	121
Tabela 14 - Média, desvio padrão e mediana da densidade de infiltrado inflamatório, por grupo, em cada período estudado.	121
Tabela 15 - Diferença entre grupos, pelo teste de Dunn, aos 6 dias.	122
Tabela 16 - Diferença entre grupos, pelo teste de Dunn, aos 15 dias.	122
Tabela 17 - Diferença entre grupos, pelo teste de Dunn, aos 28 dias.	122
Tabela 18 - Diferença entre períodos, pelo teste de Dunn, no Grupo IV.....	123
Tabela 19 - Média, desvio padrão e mediana da densidade de coágulo, por grupo, em cada período estudado.	123
Tabela 20 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 28 dias.....	124
Tabela 21 - Diferença entre períodos, pelo teste de Dunn, no Grupo I.....	124
Tabela 22 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo II.....	124
Tabela 23 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey no Grupo III.....	124
Tabela 24 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.	125
Tabela 25 - Média, desvio padrão e mediana da densidade de espaços vazios por grupo, em cada período estudado.	125
Tabela 26 - Diferença entre períodos, pelo teste de Dunn, no Grupo I.....	125
Tabela 27 - Diferença entre períodos, pelo teste de Dunn, no Grupo II.	126
Tabela 28 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo III.....	126
Tabela 29 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.	126
Tabela 30 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de osteocalcina por grupo, em cada período estudado.	127
Tabela 31 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 15 dias.	128
Tabela 32 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo I.	128
Tabela 33 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de fosfatase alcalina por grupo, em cada período estudado.	128
Tabela 34 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de colágeno tipo I por grupo, em cada período estudado.....	129
Tabela 35 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de RUNX2 por grupo, em cada período estudado.	129

Tabela 36 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 15 dias.	130
Tabela 37 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo I.....	130

Tabela 38 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo III.....	130
Tabela 39 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.	130
Tabela 40 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de VEGF por grupo, em cada período estudado.....	131
Tabela 41 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de TNF- α por grupo, em cada período estudado.	131
Tabela 42 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 6 dias.	132
Tabela 43 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 15 dias.	132
Tabela 44 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 28 dias.	132
Tabela 45 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo I.	133
Tabela 46 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo II.....	133
Tabela 47 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo III.....	133
Tabela 48 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.	133
Tabela 49 - Micro-organismos identificáveis pelo método Checkerboard DNA- DNA.....	143

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	porcentagem
®	registered sign
°C	grau Celsius
ALP	fosfatase alcalina
cm	centímetro
COL-1	colágeno tipo I
DPEC	dietil pirocarbonato
EDTA	ácido etilenediaminotetracético
FGF	fator de crescimento do fibroblasto
FOB	Faculdade de Odontologia de Bauru
g	grama
HCL	ácido clorídrico
IL-1	Interleucina-1
kg	kilograma
mg	miligrama
mL	mililitro
mM	milimolar
ng	nanograma
nm	nanómetro
OCN	osteocalcina
p	nível de significância
PB	pares de base
PCR	reação em cadeia da polimerase
PDGF	fator de crescimento derivado de plaqueta
pH	potencial hidrogeniônico
PVP-I	polivinil pirrolidona iodada a 10%
r ²	coeficiente de determinação
RT	transcrição reversa
RUNX2	runt-related transcription factor 2
TGF-β	fator de crescimento transformador beta

TNF- α

fator de necrose tumoral alfa


uM	micromolar
USP	Universidade de São Paulo
VEGF	fator de crescimento do endotélio vascular
μL	microlitro
μg	micrograma

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	45
2 REVISÃO DE LITERATURA	49
2.1 Reparo alveolar e fatores analisados neste estudo.....	49
2.2 Definições, Conceitos e Patofisiologia da Alveolite	52
2.3 Etiologia.	54
2.4 Métodos Preventivos	59
2.5 Tratamento.....	65
3 PROPOSIÇÃO	77
4 MATERIAL E MÉTODOS	81
4.1 Alveolite Experimental e Tratamentos	81
4.2 Coleta e Processamento para a Análise das Amostras	93
4.2.1 Preparo das Amostras para a Análise Microscópica.....	93
4.2.2 Preparo das Amostras para a Análise Molecular	95
4.2.2.1 Extração de RNA e Transcrição Reversa	95
4.2.2.2 Reações de Real Time PCR.....	98
4.3 Análise Estatística	99
5 RESULTADOS	103
5.1 Análise Microscópica Qualitativa	103
5.1.1 Imagens dos alvéolos de cada grupo, aos 6 dias.	104
5.1.2 Imagens dos alvéolos de cada grupo, aos 15 dias.	108
5.1.3 Imagem dos alvéolos de cada grupo, aos 28 dias.....	112
5.2 Análise Quantitativa	116
5.2.1 Amostra analisada microscopicamente.....	116
5.2.1.1 Variável Tecido Ósseo.....	117
5.2.1.2 Variável Tecido Conjuntivo	120
5.2.1.3 Variável Infiltrado inflamatório.....	121

5.2.1.4 Variável Coágulo Sanguíneo.....	123
---	-----

5.2.1.5 Variável Vasos Sanguíneos	125
5.2.2 Amostra analisada molecularmente	126
5.2.2.1 Variável Osteocalcina	127
5.2.2.2 Variável Fosfatase Alcalina	128
5.2.2.3 Variável Colágeno Tipo I	129
5.2.2.4 Variável RUNX2	129
5.2.2.5 Variável VEGF	131
5.2.2.6 Variável TNF- α	131
5.3 Resultados da correlação entre variáveis analisadas microscopicamente e molecularmente	134
6 DISCUSSÃO	139
6.1 A importância do tema	139
6.2 A Metodologia	140
6.3 Dos Resultados	144
6.3.1 Variável Tecido Ósseo e a Expressão de Marcadores Bioquímicos do Metabolismo Ósseo	145
6.3.2 Variável Tecido Conjuntivo e a Expressão de Colágeno tipo I	151
6.3.3 Variável Infiltrado Inflamatório e a Expressão de TNF- α	155
6.3.4 Variável Vaso Sanguíneo e a Expressão de VEGF	160
6.3.5 Variável Coágulo Sanguíneo	163
7 CONCLUSÃO	167
REFERÊNCIAS	171
ANEXOS	193



Introdução

1 Introdução

A alveolite é a complicação pós-operatória mais comum após as exodontias e se dá de 2 a 4 dias após a cirurgia (CRAWFORD, 1876; BUTLER; SWEET, 1977; TURNER, 1982; TRIEGER; SCHLAGEL, 1991; AL-KHATEEB, 1991; BLUM, 2002; NOROOZI; PHILBERT, 2009). Também é conhecida como “alvéolo seco” (CRAWFORD, 1876), “osteíte alveolar”, “osteíte localizada”, “alveolalgia”, “alveolite seca dolorosa”, “alvéolo séptico”, “alvéolo necrótico”, “osteomielite localizada”, “alveolite fibrinolítica” e outras denominações (BLUM, 2002). Clinicamente, é um processo inflamatório localizado do alvéolo dentário, com sintomatologia dolorosa incontrolável com analgésicos, odor fétido, ausência do coágulo sanguíneo e a presença de restos necróticos. A incidência das alveolites varia de 1 a 4 % das exodontias, porém em terceiros molares não-irrompidos esse índice chega a 30% (BUTLER; SWEET, 1977; TURNER, 1982; TRIEGER; SCHLAGEL, 1991; AL-KHATEEB, 1991; BLUM, 2002; NOROOZI; PHILBERT, 2009).

A etiologia ainda não é bem definida, sendo a provável causa a perda do coágulo sanguíneo. Além disso, alguns fatores envolvidos já estão bem elucidados na literatura como: infecções pré-existentes (NITZAN, 1983), suprimento sanguíneo reduzido no alvéolo, aumento da atividade fibrinolítica no coágulo, trauma alveolar intenso durante a exodontia, idade avançada e enfermidades sistêmicas debilitantes (BIRN, 1973; NOROOZI; PHILBERT, 2009). Outros fatores são considerados predisponentes tais como o uso de contraceptivos (CATELLANI, 1980) e fumo (SWETT; BUTLER, 1979). A faixa etária mais acometida está entre 30 e 40 anos, especialmente entre as mulheres (JENSEN, 1978).


A alveolite é uma das doenças mais pesquisadas na Odontologia, desde seu primeiro relato feito por CRAWFORD (1896), e originou uma grande quantidade de estudos buscando uma forma eficaz e segura para sua prevenção e tratamento. Um dos grandes desafios clínicos, desde o primeiro relato, tem sido a inconsistência e as diferenças entre as diversas definições da doença e seus critérios de diagnóstico (CARVALHO; POI, 1989). Além disso, o tratamento curativo das alveolites tem sido considerado um procedimento muito empírico, provavelmente devido à própria complexidade de sua etiopatogenia.

Sendo a alveolite um fator que retarda o processo de reparo alveolar, existe um interesse específico em conhecer sua interferência nos mecanismos biológicos envolvidos no processo de reparo alveolar pós-exodontia, assim como os efeitos de diferentes modalidades clínicas de tratamento. Portanto, investigações, estudos controlados e cientificamente comprovados são

necessários para selecionar um método eficaz de tratamento, sem desconsiderar a importância do emprego de métodos preventivos.

Diante dessa realidade, o objetivo deste trabalho foi estudar os mecanismos biológicos envolvidos no processo de reparo de alvéolos intencionalmente infectados, em ratos, através de uma análise da expressão de genes envolvidos no processo de reparo ósseo [colágeno tipo I (COL-I), fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), osteocalcina (OCN), fosfatase alcalina (ALP), runt-related transcription factor 2 (RUNX2/CBFA-1) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)] através da RealTimePCR, e correlacionar sua expressão com as características microscópicas observadas durante o processo de reparo. Além disso, através desses métodos, analisou-se a influência de duas modalidades de tratamento da alveolite.

O modelo experimental adotado foi o de alvéolos infectados de ratos (*Rattus norvegicus*, *albinus*, Wistar), cujo processo de reparo foi analisado por parâmetros moleculares e morfológicos. A análise dos tratamentos tópicos curativos bem como a marcação de fatores de crescimento e citocinas no reparo alveolar em condições normais e na vigência de infecção tornam-se necessárias para estabelecer um protocolo de tratamento eficaz para nossos pacientes.

A circular inset image showing a person reading a book. The person is wearing a dark jacket and is looking down at the book. The background of the inset is a light, textured surface.

Revisão de Literatura

2 Revisão de Literatura

2.1 Reparo alveolar e fatores analisados neste estudo

O processo de reparação alveolar ocorre por segunda intenção e é uma resposta fibroproliferativa, mediada por fatores de crescimento e citocinas, cujo objetivo é restaurar o tecido ao seu estado original (COTRAN, 1996). É um processo complexo que envolve uma sequência de eventos, sendo seu início marcado pela inflamação em resposta a uma lesão inicial ao tecido. O dinamismo do processo de reparo é representado por diferenciação e proliferação celular que são mediadas por fatores de crescimento e citocinas que atuam nas diferentes etapas, dentre os quais podemos citar: PDGF, FGF, TGF- β , TNF, IL-1; VEGF (COTRAN, 1996).

Sabe-se que diversos mecanismos estão envolvidos na formação de um tecido ósseo maduro, e esse processo depende da formação de um coágulo sanguíneo inicial. Sua cronologia pode ser dividida em quatro fases após a formação e estabilização do coágulo sanguíneo. A fase de proliferação celular, que se inicia com os eventos vasculares e celulares da inflamação, responsáveis pela formação do coágulo e desenvolvimento do tecido conjuntivo a partir da substituição do tecido de granulação, onde muitas células e fibroblastos oriundos do ligamento periodontal e da medula óssea se diferenciam e proliferam. Nessa fase, a atividade dos fibroblastos é grande e eles sintetizam fibras colágenas e substância fundamental amorfa até a maturação do tecido conjuntivo, fase em que ocorre a redução do número de células e vasos. Nessa fase inicial do processo de reparo do tecido conjuntivo predomina a formação de colágeno, principalmente do tipo I (COL-I), um dos principais constituintes nos tecidos e uma proteína de importância fundamental na constituição da matriz extracelular, sendo responsável por grande parte de suas propriedades físicas (COTRAN, 1996).

A angiogênese também é de extrema importância para o processo de reparo. Um dos mais importantes fatores pró-angiogênicos já identificados é o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) (FERRARA, 2000). O VEGF foi isolado pela primeira vez em 1983 como um potente fator indutor do aumento da permeabilidade vascular é 10.000 vezes mais potente que a histamina (CULLINAN-BOVE; KOOS, 1993; BROWN, 1997). Em 1989, identificou-se seu efeito mitótico sobre células do endotélio vascular e a molécula recebeu sua atual denominação. O VEGF pode ser produzido por macrófagos, linfócitos T, ou mesmo por células do tecido conjuntivo, e sua produção pode ser aumentada em condições de hipóxia, durante o processo de

reparo dessas lesões. O VEGF estimula a angiogênese direta e indiretamente. Além de ser um potente mitógeno de células endoteliais e atuar como inibidor de apoptose dessas células, o VEGF aumenta a expressão celular de metaloproteinases, degradando a matriz extracelular e facilitando a penetração dos vasos neoformados no tecido, ao mesmo tempo em que diminui a expressão endotelial dos inibidores de metaloproteinases. O VEGF também possui efeito pró-inflamatório, neuroprotetor, e é um fator importante na estabilização e remodelação vascular (CULLINAN-BOVE; KOOS, 1993; COTRAN, 1996; BROWN, 1997; FERRARA, 2000).

Na sequência, inicia-se a formação de matriz orgânica pelos osteoblastos; e por último ocorre a mineralização da matriz e formação de trabéculas ósseas correspondentes à fase de diferenciação e mineralização óssea (COTRAN, 1996).

A formação do tecido ósseo é dependente da diferenciação e ativação de osteoblastos, que levam à produção de diferentes proteínas (colagenosas e não colagenosas), e enzimas, como a fosfatase alcalina, as quais serão responsáveis pela mineralização do tecido ósseo em formação.

Os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo podem ser divididos em marcadores de formação, que refletem a atividade dos osteoblastos, e os de reabsorção, que refletem a atividade dos osteoclastos. Dentre os primeiros destacam-se a fosfatase alcalina óssea e a osteocalcina, e dentre os últimos os fragmentos derivados da reabsorção do colágeno, como as piridinolinas e os telopeptídeos carboxi e amino terminais (VIEIRA, 1999).

A fosfatase alcalina, o colágeno tipo I e a osteocalcina são marcadores bioquímicos de formação no metabolismo ósseo, sendo os dois primeiros marcadores dos estágios iniciais de diferenciação osteoblástica, e o último, dos estágios mais avançados.

A fosfatase alcalina é uma enzima codificada pelo gene, tecido não-específico, A1P, localizado no cromossoma 1. A isoenzima óssea é um peptídeo de 507 amino-ácidos, cuja sequência é exatamente igual à da isoenzima hepática; a diferença entre elas se dá na glicosilação, um fenômeno pós-tradução. Em condições normais, as duas formas predominantes em circulação (>90% do total) de fosfatase alcalina são a óssea e a hepática, em quantidades equivalentes. A outra forma circulante, em concentrações significativas, é a forma intestinal, que representa menos de 5% do total. A fosfatase alcalina é uma ectoenzima, ou seja, está localizada na superfície externa da célula onde exerce sua atividade. Quando ancorada na superfície celular, a enzima está na forma de um tetrâmero, sendo que, quando liberada para a circulação, por ação das fosfolipases C e D, o é na forma dimérica (VIEIRA, 1999).

A osteocalcina é um peptídeo secretado por osteoblastos maduros, condrócitos hipertrofiados e odontoblastos (VIEIRA, 1999; GUNDBERG, 2000). Apesar de ser

primariamente depositada na matriz óssea recém-formada, uma pequena fração entra em circulação, caracterizando essa proteína como marcador da atividade osteoblástica. Apesar de ser depositada em quantidades significativas na matriz óssea, sendo uma das proteínas não-colágenas mais abundantes, não é um marcador de reabsorção óssea, pois é totalmente destruída quando da reabsorção promovida pelos osteoclastos. Adicionalmente, estudos indicam que o aparecimento e aumento da produção dessa proteína são coincidentes com o início do processo de mineralização. A produção de osteocalcina é marcador de osteoblasto maduro (VIEIRA, 1999; GUNDBERG, 2000). Outros estudos, *in vitro* e *in vivo*, sugerem que a osteocalcina tenha importante papel no recrutamento e diferenciação dos osteoclastos (CHENU, 1994).

O RUNX2 (runt-related transcription factor 2) ou CBFA-1 (Core Binding Factor A-1) é um fator de transcrição que controla a diferenciação osteoblástica, sendo essencial para a formação óssea membranosa e endocondral (SOARES, 2005). É um membro da família RUNX de fatores da transcrição e é essencial para a diferenciação osteoblástica e a morfogênese esquelética. Mutações nesse gene foram associadas com a displasia cleidocraniana afetando o desenvolvimento ósseo.

O gene TNF- α codifica uma citocina proinflamatória multifuncional que pertence à superfamília do fator de necrose tumoral (TNF). Essa citocina é secretada principalmente por macrófagos e funciona através de seus receptores TNFRSF1A/TNFR1 e TNFRSF1B/TNFR2. A presença da mesma num processo inflamatório determina uma resposta celular mais acentuada e maior estímulo da migração de células inflamatórias. Em tecidos doentes possui sua expressão aumentada. Ainda não se conhece o real papel TNF- α na alveolite, nem se existe seu aumento.

Diversos fatores podem estar presentes e influenciar o processo de reparação tecidual nas diferentes fases citadas anteriormente. Podem ser sistêmicos, decorrentes da nutrição (deficiências vitamínicas), condições metabólicas, circulatórias, hormonais e locais, representados por traumas, presença de corpos estranhos, tamanho, localização, tipo da ferida e a inflamação e infecção, representada como exemplo pela alveolite (BIRN, 1973; BLOOMER, 2000).

2.2 Definições, Conceitos e Patofisiologia da Alveolite

A alveolite é a complicação mais comum seguida das exodontias (COLBY, 1997). Foi descrita pela primeira vez por CRAWFORD (1896), como “alvéolo seco”, caracterizada por uma desintegração do coágulo sanguíneo intra-alveolar, tipicamente de 2 a 3 dias após a exodontia. Segundo o autor, o alvéolo se torna vazio, com ausência do coágulo sanguíneo, apresenta as paredes ósseas desnudas e sensíveis, recoberto por uma camada amarelo-acinzentada constituída por tecido necrótico e indutos. Muitas vezes a mucosa ao redor se encontra eritematosa (FAZAKERLEY; FIELD, 1991). Clinicamente se caracteriza por dor intensa, podendo irradiar para as regiões do ouvido e pescoço e odor fétido (SWANSON, 1989).

Linfadenopatia regional pode estar presente do lado afetado e febre é rara. Geralmente a alveolite não apresenta os seguintes sinais clássicos da inflamação: vermelhidão, febre, edema e formação de pus.

A alveolite acomete um grupo de pessoas de 40 a 45 anos de idade (RUD, 1970; ROOD; DANFORD, 1981). A literatura relata uma incidência de 1 a 4% após as exodontias e especificamente os terceiros molares não-irrompidos atingem de 5 a 30% (BUTLER; SWEET, 1977; TURNER, 1982; TRIEGER; SCHLAGEL, 1991; AL-KHATEEB, 1991; BLUM, 2002; NOROOZI; PHILBERT, 2009). Os dentes inferiores são 10 vezes mais acometidos que os superiores (ALLING, 1993).

Microscopicamente apresenta remanescentes do coágulo sanguíneo, com infiltrado inflamatório caracterizado por neutrófilos e linfócitos (BIRN, 1973).

VIANA (1958), observando diferenças peculiares em quadros de alveolite, classificou a alveolite em dois tipos: alveolite supurativa ou hiperplásica e alveolite seca. A alveolite supurativa é caracterizada pela presença de tecido de granulação hipertrófico, com pus em pequena quantidade, dor pouco pronunciada e mau hálito. A propriamente dita ou alvéolo seco caracteriza-se por um alvéolo não preenchido por coágulo, com paredes ósseas expostas 2 a 3 dias após a exodontia e restos necróticos presentes originam odor desagradável.

HANSEN (1960) descreveu um terceiro tipo, a “alveolitis simplex”, caracterizada por perda acidental do coágulo e ausência de dor, além dos tipos “alveolite seca dolorosa” e “alveolite granulomatosa” compatíveis, respectivamente, com os tipos alveolite seca e hiperplásica descritas por VIANA (1958). GONÇALVES (1970) classificou a alveolite em três

tipos: “alveolite marginal superficial”; “alveolite supurativa ou purulenta” e “alveolite seca”, classificação também utilizada por HERMESCH et al. (1998). Na alveolite marginal, a mucosa perialveolar apresenta-se inflamada, recoberta parcialmente por tecido de granulação e dolorosa à mastigação. Na alveolite supurativa, o coágulo está infectado e recoberto por uma membrana verde-acinzentada, podendo ainda conter fragmentos dentários ou sequestros ósseos. A dor é de intensidade média, e febre pode também estar presente. Na alveolite seca, as paredes ósseas alveolares estão expostas, com perda total ou parcial do coágulo, de cor escurecida e de odor fétido. A dor é intensa, lancinante, quase sempre irradiada e contínua, que não cessa com o uso de analgésicos. Hipertermia local e enfartamento ganglionar também podem ser encontrados nesse tipo de alveolite.

De maneira semelhante, HERRMANN; BAEZA (1984) também classificou a alveolite em dois tipos: alveolite seca e alveolite úmida, compatíveis com os quadros de alveolite seca e purulenta, respectivamente, descritas por GONÇALVES (1970).

OIKARINEN (1989) classificou a doença em alveolite verdadeira e alveolite não específica. A alveolite verdadeira apresenta sintomas típicos da alveolite seca, com necessidade de acompanhamento profissional. Já na alveolite não específica, mais comumente observada, a dor é um sintoma presente entre o terceiro e quarto dia pós-exodontia, mas sem necessidade de cuidados profissionais.

BLUM (2002), TORRES-LAGARES et al. (2005), em trabalhos de revisão, sugeriram uma definição para alveolite: *“dor pós-operatória e ao redor do alvéolo, que aumenta em severidade em algum período entre 1 e 3 dias após a extração, acompanhada pela perda parcial ou total do coágulo no interior do alvéolo, com ou sem halitose”*.

SASAKI e OKAMOTO (1968) afirmaram que o sintoma mais importante da alveolite é a dor, variando a frequência e intensidade, podendo estar acompanhada de outros sintomas como cefaléia, insônia e vertigens. CALHOUN (1971) acrescenta ainda o trismo como sintoma frequente, envolvendo de 10 a 40 dias, se não houver propagação da infecção.

CAFLIN (1936), VIANA (1958) caracterizaram a alveolite como um quadro inflamatório que retarda o processo normal de reparo alveolar.

FAILLO (1948) descreveu microscopicamente a presença de um infiltrado celular fagocitário, células inflamatórias, células gigantes, bactérias e necrose óssea, na qual os fragmentos ósseos podem ser expelidos, sob a forma de sequestros ou fagocitados por células gigantes. BIRN (1973) observou quadro microscópico semelhante, além de necrose da lâmina dura, com processo inflamatório estendendo-se para espaços medulares e por vezes ao periosteio, com inflamação do tecido conjuntivo da mucosa adjacente, representando, dessa

forma, um quadro microscópico típico de osteomielite. AMLER (1973), ao examinar biópsias de quadros de alveolite em humanos, observou degradação do coágulo, com dissolução de eritrócitos e fibrinólise. Depósitos de hemossiderina também foram vistos nos estádios iniciais, assim como ausência de tecido de granulação organizado.

Diante da literatura, existe muita diversidade de denominações, classificações e descrições para a alveolite, dificultando uma padronização e, conseqüentemente, os critérios de diagnóstico e modelos de estudo.

2.3 Etiologia

A etiologia da alveolite é ainda indefinida, mas sabe-se que diversos fatores locais e sistêmicos atuam no seu surgimento e são bem descritos na literatura.

Um quadro de alveolite verdadeira é caracterizado pela perda prematura parcial ou total do coágulo sanguíneo formado no interior do alvéolo pós-exodontia, a qual deve ser distinguida de outras condições: hipovascularização do osso alveolar, causada por distúrbios vasculares; distúrbios hematológicos; osteonecrose induzida por radioterapia; osteopetrose; doença de Paget; displasia cemento-óssea ou outros quadros em que não há formação de coágulo no interior do alvéolo (BLUM, 2002; VEZEAU, 2000).

Estudos clínicos e experimentais têm observado o aumento na atividade fibrinolítica local como principal fator na etiopatogenia da alveolite (BIRN, 1970; BIRN, 1972a; BIRN; MYHRE-JENSEN, 1972b; BIRN, 1973).

BIRN (1973) defende que a lise parcial ou total e destruição do coágulo é causada por mediadores liberados durante a inflamação por uma ativação direta ou indireta do plasminogênio no sangue. Quando mediadores são liberados pelas células do osso alveolar após o trauma, o plasminogênio (depositado na rede de fibrina assim que esta é formada) é convertido em plasmina, resultando na quebra do coágulo por desintegração da fibrina. Essa conversão é consumada na presença de pró-ativadores celulares ou plasmáticos e outros ativadores. Esses ativadores têm sido classificados recentemente como diretos (fisiológicos) e indiretos (não fisiológicos) e ainda sub-classificados de acordo com suas origens como ativadores intrínsecos ou extrínsecos (VEZEAU, 2000). Os ativadores intrínsecos são originados dos componentes do plasma, enquanto os extrínsecos originados fora do plasma. Os ativadores intrínsecos diretos incluem o ativador Fator XII-dependente ou Fator Hageman-dependente e a Uroquinase, que são mediados por leucócitos. Os ativadores extrínsecos diretos

incluem ativadores de plasminogênio tissulares e ativadores de plasminogênio endoteliais. Os ativadores de plasminogênio tissulares são encontrados na maior parte dos tecidos, inclusive no osso alveolar (BIRN, 1973). Os ativadores indiretos incluem substâncias tais como estreptoquinase e estafiloquinase, que são produzidas pelas bactérias e ligam-se ao plasminogênio para formar um complexo ativador que depois transforma outras moléculas de plasminogênio em plasmina. Isso fortalece a teoria do envolvimento dos micro-organismos no desenvolvimento da alveolite. SERRATI et al. (2006) estudaram os ativadores e inibidores de plasminogênio, após biópsias em pacientes com alveolite. Os autores propõem que fragmentos ósseos, dentários ou contaminação bacteriana no interior do alvéolo estimulam monócitos e macrófagos. Em seguida, há a liberação de citocinas (TNF- α , IL-1) que irão aumentar ação do uPA (ativador de plasminogênio tipo uroquinase) e do PAI-1 (inibidor da ativação de plasminogênio tipo 1). Com isso, haverá lise do coágulo pela ativação de plasminogênio uPA-dependente e pelo deslocamento da vitronectina PAI-1-dependente do seu receptor de uPA, que enfraquece a interação entre macrófagos e a matriz provisional, imprescindível para a organização inicial do tecido de granulação dentro do alvéolo.

Já a dor é atribuída à formação de cininas localmente no alvéolo. Tem-se mostrado que as cininas ativam as terminações nervosas aferentes primárias, as quais já poderiam ter sido sensibilizadas previamente por outros mediadores inflamatórios e outras substâncias algógenas, e, em concentrações de 1 ng/ml, elas já produzem dor intensa (BIRN, 1973; BLUM, 2002). A plasmina também está envolvida na conversão das calicreínas em cininas na medula óssea alveolar. Assim, a presença da plasmina pode dar uma possível explicação para os dois traços significativos da alveolite, chamados dor nevrálgica e desintegração do coágulo.

BIRN (1973) verificou um aumento na atividade fibrinolítica em alvéolos com alveolite quando comparado com alvéolos normais. Ele postulou que: “*A alveolite fibrinolítica acontece quando a fibrinólise ou outra atividade proteolítica dentro e ao redor do alvéolo for capaz de desorganizar o coágulo*”.

Embora todas as teorias descritas sobre a etiopatogenia das alveolites ainda precisem ser firmemente estabelecidas, evidências sugerem que existe uma interação complexa entre trauma local excessivo e invasão bacteriana. Essa associação culmina com a formação da plasmina e, conseqüentemente, com a fibrinólise no interior do alvéolo (CARVALHO et al., 1982; BLUM, 2002). CATELLANI (1979) postulou que os pirógenos secretados pelas bactérias são ativadores indiretos da fibrinólise *in vivo*. Esse autor estudou a eficácia desses pirógenos no tratamento de doença tromboembólica, injetando esses produtos por via intravenosa. Fato

interessante é que a alveolite não se instala antes do primeiro dia pós-operatório. A explicação é que o coágulo sanguíneo contém antiplasmina que deve ser consumida pela plasmina antes que a desorganização do coágulo ocorra (BLUM, 2002).

As extrações cirúrgicas que envolvem confecção de retalho e odontosseção com algum grau de osteotomia também têm sido referidas como fatores predisponentes da alveolite (LILLY et al., 1974). BIRN (1973) considera que o trauma durante a extração, assim como a curetagem enérgica danifica as células do osso alveolar, causando inflamação da medula óssea alveolar e consequente liberação de mediadores celulares para o alvéolo, onde podem desencadear atividade fibrinolítica, aumentando-se as chances da instalação de uma alveolite. Tal fato é evidenciado por estudos em que cirurgiões menos experientes obtêm maior incidência de complicações após exodontia de terceiros molares não irrompidos em relação aos cirurgiões mais experientes, sendo a alveolite a complicação mais comumente observada nesses estudos (SISK et al., 1986; LARSEN, 1992; JERJES et al., 2006). Outro fato interessante foi observado por AL-KHATEEB et al. (1991), os quais verificaram relação entre o motivo da extração e a incidência de alveolite. Encontraram 21,9% de incidência de alveolite nos casos em que a exodontia era considerada terapêutica (presença de infecções e cáries) em relação a 7,1% nas exodontias profiláticas (assintomáticas).

A presença de restos dentários e ósseos no interior do alvéolo também foi levantada como sendo uma possível causa da alveolite (BIRN, 1973; SERRATI et al., 2006). SIMPSON (1969) demonstrou em estudo histológico em macacos que tais fragmentos são comumente observados em qualquer exodontia e que, não necessariamente, causam complicações, muito embora promovam inflamação e um atraso na cronologia do reparo alveolar.

KRUGER (1984) associava o pobre suprimento sanguíneo local com o aumento da incidência de alveolite nas extrações de molares inferiores. Porém essa informação é incompatível com os resultados de BIRN (1973), que demonstrou que a região de molares inferiores é uma das mais ricamente vascularizadas da mandíbula. Já os vasoconstritores, presentes nos anestésicos locais, também foram considerados como fatores contribuintes na etiopatogenia da alveolite. Essa afirmação também foi refutada, pois extrações realizadas sob anestesia geral, sem infiltração local, também desenvolveram alveolite (BLUM, 2002). SAAD NETO et al. (1982), ao estudarem a influência da irrigação do alvéolo de ratos com soluções anestésicas encontradas no mercado, observaram que esses compostos não induziam alveolite, mas causavam atraso na cronologia de reparo. TISIRLIS, LAKOVIDIS e PARISSIS (1992), também constataram que pacientes que recebiam anestesia intraligamentar não apresentaram

maior incidência de alveolite em relação aos pacientes anestesiados exclusivamente por bloqueio regional.

A má qualidade da higiene bucal e consequente contaminação alveolar também é um fator considerado importante para a formação de um quadro de alveolite. Essa relação foi suportada por relatos dessa doença em pacientes com pobre higiene oral, infecção local pré-existente, como pericoronarite e doença periodontal avançada (PENARROCHA et al., 2001; RUD, 1970).

BROWN, MERRILL e ALLEN (1970), verificaram a presença de *Streptococcus α e β -hemolítico*s em material coletado de alvéolos dentários humanos. VIDEAU, BLANCHARD e SEBALD (1973) encontraram 70% de micro-organismos aeróbios e 30% de anaeróbios estritos compondo a flora bucal. Em contrapartida, INGHAM et al. (1977) observaram que os anaeróbios estritos excederam os aeróbios, correspondendo a 72% do total isolado em diversas regiões da boca. ROZANIS, SCHOFIELD e KOGON (1976) observaram atraso na cronologia de reparo alveolar em alvéolos de animais inoculados com a associação entre *Actinomyces viscosus* e *Streptococcus mutans*.

NITZAN, SPERRY e WILKINS (1978) mostraram uma possível relação entre micro-organismos anaeróbios (predominantes na pericoronarite) com a etiologia da alveolite. Esses autores também observaram uma alta atividade fibrinolítica nas culturas do anaeróbio *Treponema denticola*, que também é encontrado na doença periodontal. Além disso, a alveolite quase não ocorre durante a infância, um período em que esse micro-organismo ainda não colonizou a boca. D'ANTONIO (1984) isolou micro-organismos gram negativos anaeróbios estritos, como o *Bacterioides fragilis*, presentes em 100% dos alvéolos infectados de ratos. Destacou, ainda, que as bactérias anaeróbias periodontopatógenas são micro-organismos potencialmente desencadeantes da alveolite. MITCHELL (1986) identificou algumas bactérias periodontopatógenas produtoras de enzimas com atividade fibrinolítica como o *Porphyromonas gingivalis*, e o *Fusobacterium nucleatum*. Apesar de concordar com o papel das bactérias anaeróbias na alveolite, AWANG (1989) considerou inconsistente a relação entre os sinais clínicos da doença e o padrão de atividade típico desses micro-organismos como vermelhidão, edema, febre e formação de pus. Acredita, ainda, que as características clínicas das alveolites mais comumente observadas sejam resultado de uma ação indireta de tais bactérias.

MELO JÚNIOR et al. (2002), para estudar o efeito antimicrobiano de alguns fitoterápicos para o tratamento da alveolite, em modelo experimental de alvéolos infectados de ratos, detectaram: *Enterococos*, *Streptococcus viridans* entre outros *Streptococcus*, *Bacillus*

corineforme, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* e *E. coli* proveniente do material biológico intra-alveolar.

Os estrógenos, assim como os agentes pirógenos e certas drogas, ativam indiretamente o sistema fibrinolítico e, por isso, acredita-se que aqueles hormônios contribuam para a ocorrência da alveolite por potencializar a lise do coágulo sanguíneo (CATELLANI et al., 1980). Esses autores também relataram que a atividade fibrinolítica parece ser mais baixa nos dias 23 a 28 do ciclo menstrual. Porém, em mulheres que não faziam uso de contraceptivos orais, não houve constatação de que diferentes fases do ciclo menstrual tivessem relação com maior ou menor predisposição à alveolite (BLUM, 2002). Já o uso de contraceptivos orais tem mostrado relação direta com a incidência de alveolite, a começar pela observação da incidência entre homens e mulheres em trabalhos conduzidos antes da década de 1960 e em estudos realizados após a década de 1970. Após 1970, houve popularização do uso de contraceptivos orais e, a partir dessa data, observou-se maior incidência de alveolite entre as mulheres (COHEN; SIMECEK, 1995; SCHOW, 1974; SWEET; BUTLER, 1977; SWEET; BUTLER, 1978). CARVALHO e OKAMOTO (1981), em estudo experimental em ratas, observaram que o medicamento interferia na organização do coágulo e na fase de proliferação celular, com reabsorção da cortical óssea alveolar. Um interessante estudo prospectivo, controlado e randomizado, mostrou incidência mais alta de alveolite entre as mulheres fazendo uso de contraceptivos em relação aos homens (CHAPNICK; DIAMOND, 1992). GARCIA et al. (2003) observaram em extrações de terceiros molares inferiores de mulheres entre 17 e 45 anos, 11% de alveolite em usuárias e 4% em não usuárias de contraceptivos orais.

Outro estudo observou um aumento de alguns fatores da coagulação, dentre eles os fatores II, VII, VIII e X e ainda o plasminogênio em mulheres usuárias de contraceptivos orais (YGGE et al., 1969).

O fumo também é um fator considerado predisponente à instalação da alveolite. SWEET e BUTLER (1979) mostraram que em um total de 400 terceiros molares extraídos, aqueles pacientes que fumavam 10 cigarros por dia tiveram 4 a 5 vezes mais chance de apresentar alveolite se comparados aos não fumantes (12% contra 2,6%). Essa incidência aumenta para mais 20% caso sejam fumados 20 cigarros por dia, e mais 40% para aqueles pacientes que fumaram no dia da cirurgia, ou no primeiro dia pós-operatório.

MONACO et al. (1999) verificaram em seu estudo que havia diferença estatisticamente significativa entre hábitos nocivos como fumo e álcool e complicações pós-operatórias como dor e febre. Além disso, constataram maior incidência de alveolite em pacientes com idade igual ou

superior a 18 anos, considerando o avanço da idade como um fator predisponente, fato também observado por CHIAPASCO, CRESCENTINI e ROMANONI (1994).

O ato de fumar contribui para a introdução de substâncias estranhas que podem agir como contaminantes na ferida cirúrgica. A nicotina, cotinina, monóxido de carbono, entre outras, são citotóxicas a várias linhagens de células e, conseqüentemente, inibem o processo de reparo (GROSSI et al., 1997). A nicotina, droga ativa no fumo, aumenta a adesividade plaquetária, aumentando o risco de trombose microvascular e isquemia periférica, conforme observaram SILVERSTEIN (1992), além de inibir proliferação de fibroblastos e macrófagos. O monóxido de carbono forma carboxi-hemoglobina no sangue, resultando em decréscimo no transporte de oxigênio, alterações no endotélio vascular e endarterites obliterantes (LAWRENCE et al., 1984). Há, também, a liberação de catecolaminas endógenas, levando à diminuição da perfusão aos tecidos (CRYER et al., 1976).

O calor gerado pela queima do tabaco também não parece ser um fator significativo na etiopatogenia da alveolite. Usuários de Narguilé, tipo de cachimbo em que a fumaça é resfriada ao passar pela água ou líquidos próprios antes de ser aspirada, não apresentaram diferenças significantes em relação à incidência de alveolite quando comparados a usuários de cigarros. Acredita-se que a quantidade de contaminantes, variáveis de acordo com o tipo de tabaco, o tipo da fonte de chama, a sucção e as substâncias inaladas, sejam os fatores mais importantes na manifestação da alveolite nos afeiçoados por esse hábito (AL-BELASY, 2004). Para este autor, as alterações sistêmicas do uso do tabaco são os pontos mais significativos para explicar a maior incidência de alveolite nos pacientes fumantes, assim como observaram SILVERSTEIN (1992), LAWRENCE et al. (1984), CRYER et al. (1976).

2.4 Métodos preventivos

Tendo um conhecimento dos possíveis fatores contribuintes para a alveolite, o levantamento da história médica e odontológica do paciente, exame físico e exames laboratoriais pertinentes são considerados premissas básicas para a eleição de uma cirurgia. Os achados que indiquem riscos maiores em manifestar doenças ou complicações devem ser ponderados. A manutenção de uma cadeia asséptica durante o procedimento, indicação correta da técnica cirúrgica e correta execução da técnica são princípios que devem ser respeitados para evitar complicações. BLUM (2002) sugere alguns fatores inerentes ao paciente considerados de risco para o desenvolvimento da alveolite: experiência anterior da doença; impacções ósseas

profundas em terceiros molares inferiores; pobre higiene oral; histórico recente de pericoronarite; gengivite ulcerativa ou doença ativa associada ao dente a ser extraído; fumo (especialmente acima de 20 cigarros ao dia); uso de contraceptivos orais e pacientes imunocomprometidos.

Além de evitar fatores citados acima, a prevenção da alveolite, tem sido estudada relacionando-a com alguns agentes antifibrinolíticos, antibióticos, analgésicos, antissépticos, ou associações desses compostos. O uso de antifibrinolíticos visa evitar a lise do coágulo sanguíneo. O ácido tranexâmico oral em forma tópica (0,5 mg), agente antifibrinolítico local, não reduziu a incidência de alveolite (23% no grupo controle em relação a 22% no grupo experimental). Entretanto este fracasso não foi verificado com outro antifibrinolítico, o PEPH (éster propílico do ácido para-hidroxibenzóico). Para este composto, obteve-se uma porcentagem de 24% no grupo controle e 0% no grupo experimental, porém com significativos efeitos secundários (GARCÍA MURCIA; PENARROCHA DIAGO, 1994).

A utilização de agentes de suporte ao coágulo, como o ácido polilático, dificultam sobremaneira a lise, indicando o seu uso na prevenção de quadros de alveolite. Nos estudos iniciais, encontrou-se uma taxa de alveolite de 2% no grupo experimental contra 18,1% do grupo controle. Em estudos posteriores, associou-se o ácido polilático à clorexidina, levando curiosamente a uma taxa de 23,6% no grupo experimental e 13,6% no grupo controle (BLUM, 2002, HOOLEY; GOLDEN, 1995).

Em irrigações pós-exodontia, utilizando-se diferentes quantidades de soro fisiológico, notou-se que quanto maior a quantidade de soro utilizada (25 ml, 175 ml e 350 ml), menores as taxas de alveolite (10,9%, 5,7% e 3,2%), respectivamente, sendo que de 175 para 350 ml a diferença não foi considerada significativa (SWEET; BUTLER; DRAGER, 1976; BUTLER; SWEET, 1977). A utilização de curativos analgésicos também tem sido aplicada com sucesso na redução dos casos de alveolite. Porém uma boa parte desses agentes apresenta eugenol em sua composição, o que leva a um atraso no processo de reparo (BLOOMER, 2000).

O uso de antibióticos na prevenção da alveolite também tem sido fonte de muitos estudos. ARCHER (1939) buscou reduzir a incidência de alveolite após 773 exodontias de molares e pré-molares inferiores, aplicando tabletes compostos de sulfanilamida e sulfatiazol, conseguindo resultados favoráveis. HUEBSCH (1958) sugeriu a produção de pequenas perfurações nas paredes alveolares, objetivando a redução na incidência de alveolite. SWANSON (1966), com a intenção de reduzir a incidência de alveolite, estudou a utilização intra-alveolar de esponjas de gelatina embebidas em tetraciclina, neomicina e bacitracina pós-

exodontia de terceiros molares inferiores. Ao comparar com o grupo controle (sem tratamento), observou uma redução na ocorrência de alveolite de 37,5% para 3%.

Com o objetivo de prevenir a instalação dessa complicação, GONÇALVES (1970), aconselha: evitar intervenções em pacientes debilitados; ser rigoroso quanto à esterilização e desinfecção; evitar extrações em pacientes com lesões gengivais agudas; utilizar anestesia por bloqueio regional; executar extrações rápidas evitando uso demorado de brocas; evitar projeção de corpos estranhos no interior do alvéolo e curetagem de lesões periapicais.

Um estudo duplo-cego utilizando cloridrato de tetraciclina (Acromicina) e placebo foi desenvolvido por HALL, BILDMAN e HAND (1971), aplicando a droga impregnada em Gelfoam em um lado e placebo no outro, após exodontias de terceiros molares inferiores simetricamente posicionados. A incidência de alveolite foi de 7% no grupo experimental e 19% no grupo controle. Já GOLDMAN et al. (1973) utilizaram, com metodologia semelhante, a lincomicina impregnada em Gelfoam. Os resultados mostraram incidência de 1,1% no grupo tratado e 7,8% no grupo controle, mostrando superioridade na eficácia em relação a outros agentes empregados na época.

Pesquisando a ação da sulfanilamida e sulfatiazol, num estudo duplo-cego, MACGREGOR e HUTCHINSON (1975) encontraram melhores resultados nos grupos experimentais em relação ao controle, mas, segundo os autores, não foram efetivos na redução do edema e da dor após a remoção de terceiros molares.

DAVIS, BUCHS e DAVIS (1981) aplicaram tetraciclina associada à gelatina granular, após 860 exodontias de terceiros molares inferiores. Destes, apenas 23 (2,67%) desencadearam alveolite.

JULIUS et al. (1982) utilizaram Gelfoam saturada com Terra-Cortril (solução oftálmica composta por terramicina, oxitetraciclina HCL, Cortril e acetato de hidrocortisona) após exodontia de terceiros molares inferiores, atingindo incidência de alveolite de 6,6% no grupo em que o medicamento foi empregado e de 28,8% no grupo controle. RUTLEDGE e MARCOOT (1984) realizaram um estudo com metodologia semelhante, no qual conseguiu 1% de incidência de alveolite, quando da aplicação daquele medicamento.

OKAMOTO, SOLER e BARROSO (1983) avaliaram o processo de reparo em alveolos dentários de ratos na presença de uma esponja de polivinil álcool, associada a antibióticos e hemostáticos. Após análise microscópica, observaram inflamação aguda, e que o material permitia o desenvolvimento de tecido ósseo em seus poros, indicando seu uso em cirurgia bucal, apenas com indicação para hemostasia intraóssea.

FRIDRICH e OLSON (1990) compararam a aplicação de lincomicina hidrocloreídrica (Lincocin) e Gelfoam, oxitetraciclina associada ao Terra-Cortril e Gelfoam e, Gelfoam e solução salina, após exodontia de terceiros molares inferiores. Os autores observaram menor incidência de alveolite nos grupos experimentais, sendo 11,4% no grupo lincomicina, 12,9% no grupo tetraciclina e 16,4% no grupo controle.

TRIEGER e SCHLAGEL (1991) avaliaram clinicamente o uso de Gelfoam saturado em clindamicina tópica logo após a exodontia, obtendo resultados que, somados àqueles encontrados em outros relatos, reforçam o papel de bactérias anaeróbias como fator etiológico, e a clindamicina, por ter ação contra anaeróbios, pode reduzir sua incidência.

ROOD e MURGATROYD (1979) utilizaram o metronidazol como agente antimicrobiano sistêmico para a alveolite e concluíram que o uso profilático dessa droga demonstrou ser um método simples e efetivo para sua prevenção. Dos 555 pacientes que receberam 200 mg de metronidazol, apenas 6 (1%) apresentaram alveolite; e nos 541 indivíduos cuja prescrição foi apenas o placebo, 23 (4,2%) desenvolveram alveolite. Sob o ponto de vista de redução da dor e agilização no processo de reparo, os melhores resultados foram obtidos por TURNER (1982), GRANDINI, D'AVENIA e BORGIOLO (1984), com metodologia cirúrgica de rebatimento de retalho, remoção de tecido necrótico e restos de coágulo do interior do alvéolo.

Estudo realizado por BARCLAY (1987), em pacientes com risco de pericoronarite não mostrou efeito significativo quanto ao uso do metronidazol comparado ao placebo na prevenção de dor e alveolite. Diferentes resultados podem ser vistos em um estudo clínico randomizado, duplo-cego realizado por MITCHELL (1986), no qual o tinidazol foi comparado com um grupo controle na prevenção de infecção pós-operatória. Foi observada uma redução significativa de infecção no grupo em que o tinidazol foi utilizado. O autor, ainda, preconiza o uso desse antibiótico no pós-operatório de casos de impacção óssea. A prescrição de metronidazol 400mg, duas ou três vezes ao dia, por 5 dias, como profilaxia de infecções pós-operatórias foi analisada por LLOYD e EARL (1994). Após exodontias de terceiros molares inferiores, os autores não observaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Em contrapartida, PIECUCH, ARZADON e LIEBLICH (1995) verificaram redução significativa nos índices de infecção após exodontias de terceiros molares com impacção óssea quando os pacientes receberam profilaxia antibiótica pré-operatória, embora não obtivessem o mesmo resultado em dentes com impacção de tecido mole apenas.

MONACO et al. (1999) verificaram que a prescrição de amoxicilina no pós-operatório não desempenhou um papel significativo na prevenção da alveolite. POESCHL P., ECKEL e

POESCHL E. (2004), também não verificaram resultados favoráveis na prevenção de alveolite ao utilizarem amoxicilina associada ao ácido clavulânico ou clindamicina no pós-operatório de terceiros molares inferiores.

Já a associação da penicilina com o clavulonato somado a bochechos com clorexidina 0,12%, no pré, trans e pós-operatório, mostraram resultados favoráveis na redução da incidência de alveolite (20,9 % no grupo com clorexidina; 8,9 % no grupo clorexidina associado ao antibiótico e 23,7% no grupo controle com irrigação com soro fisiológico (DELILBASI; SARACOGLU; KESKIN, 2002).

Algumas combinações de drogas, de utilização tópica, também têm sido estudadas com proposta de prevenir a instalação de alveolites. CARVALHO, OKAMOTO e SANCHES (1975) avaliaram o processo de reparo em alvéolos dentários de ratos, infectados ou não, após aplicação de cones de Apernyl (ácido acetilsalicílico, éster propílico de ácido p-hidroxibenzóico e excipiente). Após análise microscópica, concluíram que esse material provocou retardo na cronologia do reparo alveolar, além de não combater efetivamente a infecção alveolar; portanto os autores não indicaram tal material para a profilaxia da alveolite. BIRN (1972a) havia observado, em contrapartida, bons resultados clínicos contra dor e fibrinólise utilizando o mesmo composto.

SYRJÄNEN S. e SYRJÄNEN K. (1981) utilizaram profilaticamente o tri-iodometano após exodontias em humanos, verificando diminuição de complicações pós-operatórias, inclusive alveolite, além de ser compatível com o processo normal de reparo, conforme constatado microscopicamente. Esses autores, no mesmo ano, publicaram um estudo histológico em humanos no qual comparavam o Alvogyl a uma nova droga combinada (ácido propil-hidroxibenzóico, iodofórmio, cincaína, ácido tranexâmico, óleo de menta e excipiente) embebida em Gelfoam, em relação ao processo de reparo alveolar. No grupo tratado com Alvogyl foram observadas deficiência na formação de tecido conjuntivo e persistência de tecido de granulação, fibrina e células gigantes. Já o grupo com a nova composição evidenciou características bastante aceitáveis e similares ao grupo controle (SYRJÄNEN S.; SYRJÄNEN K., 1981).

CARVALHO, POI e GARCIA JÚNIOR (1992), ao compararem o Alveoliten e Alveosan como proposta de aplicação pós-exodontia, para os casos de alto risco, observaram que o Alveoliten mostrou discreta melhora em relação ao processo de reparo quando comparado ao Alveosan e com o grupo controle (alvéolos infectados de ratos sem tratamento).

PANKHURST, LEWIS e CLARK (1994) estudaram a aplicação profilática de um curativo intra-alveolar para reduzir complicações pós-operatórias em pacientes HIV

soropositivos. O curativo era composto de clortetraciclina, aspirina e anestésico local e aplicado imediatamente após a exodontia em 25 dos 50 pacientes estudados. Não houve alterações no grupo tratado, enquanto 7 dos 25 pacientes do grupo controle apresentaram complicações, dentre elas, 4 foram alveolite. Os pacientes que apresentaram complicações passaram por exame bacteriológico, irrigação do alvéolo com clorexidina 0,2% e terapêutica via oral com 600 mg de metronidazol/dia, por 3 dias, reforçando a importância do emprego profilático de curativos nesses pacientes, apontando a necessidade de estudos na tentativa de se estabelecer um curativo genérico para a prevenção da alveolite.

Um antisséptico que tem mostrado eficácia na prevenção da alveolite é o colutório à base de digluconato de clorexidina a 0,12%. Alguns estudos mostraram importante redução na incidência de alveolite após exodontia de terceiros molares inferiores (LARSEN, 1991; RAGNO; SZKUTNIK, 1991). Apesar de em alguns estudos verificarem uma eliminação de quase 95% das bactérias salivares por parte desse antisséptico, demonstrou-se também que os 5% restantes ainda são capazes de produzir uma infecção (SCHIOTT et al., 1970).

Todavia, BERWICK e LESSIN (1990), testando o efeito da clorexidina 0,12% como bochecho pré-operatório e como irrigação imediata pós-extração, não encontraram vantagens em relação ao grupo controle com soro fisiológico. Esse trabalho foi contestado por LARSEN (1990), o qual afirmou que o controle foi inadequado e que as conclusões não foram válidas, além de discutir a confiabilidade da metodologia. Um estudo de revisão meta-analítico sobre o emprego da clorexidina na prevenção de alveolite após exodontia de terceiros molares inferiores, realizado por CASO, HUNG e BEIRNE (2005), mostraram que bochecho único, feito apenas antes da cirurgia, não reduziu significativamente a incidência de alveolite. Já a utilização pré-operatória, no dia da cirurgia, e por vários dias, no pós-operatório, reduziu significativamente a incidência de alveolite.

TORRES-LAGARES et al. (2006) realizaram um estudo randomizado, duplo-cego, no qual analisaram a efetividade da aplicação intra-alveolar de um gel bioadesivo à base de clorexidina 0,2%, após a exodontia de terceiros molares não irrompidos, comparado a um gel placebo. Os resultados mostraram incidência de alveolite de 11% no grupo experimental e 30% no grupo controle, sendo esta redução estatisticamente significativa.

RODRIGUES et al. (2006), em estudo microscópico em ratos, mostraram redução na incidência de alveolite em alvéolos dentários de ratos previamente isquemiados com solução de adrenalina 1:1000 por 1 minuto, após o uso de pasta à base de metronidazol 10% e lidocaína 2%, lanolina como veículo e menta como aromatizante, sugerindo o seu emprego profilático em casos de alto risco.

HEDSTRÖM e SJÖGREN (2007) fizeram um estudo de revisão sistemática sobre métodos preventivos para alveolite. Os resultados mostraram que existe uma grande variação nos modelos e na qualidade dos estudos randomizados envolvendo prevenção de alveolites. Para a maioria dos métodos preventivos, as evidências inexisteram ou foram inconclusivas. Apenas o tratamento local com tetraciclina e bochechos com clorexidina 0,12% no pré e no pós-operatório por 7 dias obtiveram relevância clinicamente significativa após exodontia de terceiros molares inferiores. Contudo os autores também sugerem o uso cuidadoso da tetraciclina, pois existem relatos de hipersensibilidade e toxicidade sistêmica em alguns estudos (ALEXANDER, 2000; HEDSTRÖM; SJÖGREN, 2007).

2.5 Tratamento

Existem muitas formas de tratar a alveolite relatadas na literatura, utilizando uma variedade de materiais, soluções irrigadoras e técnicas desenvolvidas.

SCHROFF e BARTELS (1929) utilizavam irrigação com solução salina aquecida, perborato de sódio em pó, gaze com iodofórmio, prescrição de codeína e irrigação com solução concentrada de perborato de sódio. A utilização de uma pasta para aplicação intra-alveolar, com o auxílio de gaze foi preconizada por PELL (1934), composta de ácido acetil salicílico, bálsamo do Peru, eugenol, benzoato de sódio e lanolina como veículo.

Para alveolite hiperplásica, VIANA (1958) indica a remoção de resíduos intra-alveolares por curetagem, seguida de sutura para proteção do coágulo, tratamento que, por sua vez, também foi preconizado por JENSEN (1978). Já para o alvéolo seco, o autor recomenda o uso de guaiacol ou eugenol glicerinado, ou ainda, pastas destes compostos associados ao óxido de zinco e introduzidas no alvéolo com o auxílio de gaze, com objetivo único de aliviar a dor. O autor também aconselha o uso da terramicina em pó, após a limpeza do alvéolo e irrigação com solução fisiológica a 37°C. VERRI, CAMPOS e SANTINI (1978) sugerem o tratamento cirúrgico como de eleição para a alveolite granulomatosa, estando contra-indicado na alveolite seca, para não estender a infecção ao osso alveolar.

Para SCHOFIELD, WARREN e ROZANIS (1980), o tratamento sugerido era simples e paliativo. Consistia no debridamento, lavagem com solução salina seguida de curativo com gaze impregnada com iodofórmio a 5% e eugenol.

MACGREGOR (1967) entrevistou 127 clínicos, questionando-os sobre a terapêutica empregada nos casos de alveolite. A maioria deles fazia uso de antibioticoterapia sistêmica (67

deles com penicilina) e utilizavam curativos com óxido de zinco e eugenol, neomicina, entre outros produtos. MAINOUS (1974) relatou um caso clínico com uma tardia e severa reação tipo corpo estranho em decorrência da aplicação de pasta de óxido de zinco e eugenol para tratamento da alveolite.

Devido a sua etiopatogenia não totalmente conhecida até o momento, um tratamento específico e eficiente também ainda não foi apresentado (BLUM, 2002). O combate à ação de micro-organismos tem sido o caminho mais considerado pelos pesquisadores, e, dentre eles, os anaeróbios ocupam um lugar de destaque (NITZAN; SPERRY; WILKINS, 1978; BERWICK; LESSIN, 1990; LARSEN, 1991; BONINE, 1995; KUPFER, 1995).

A microflora bacteriana normal da boca compreende especialmente bactérias anaeróbias, explicando assim a maior prevalência desses micro-organismos nas infecções odontogênicas, dentre eles *Streptococcus* facultativos, *Porphyromonas* e *Prevotella* (bacilos gram negativos anaeróbios estritos), *Peptostreptococcus* (cocos gram positivos anaeróbios estritos) e *Fusobacterium* (bacilos gram negativos anaeróbios estritos), segundo NEWMAN (1984), BRESCO-SALINAS et al. (2006).

O metronidazol (2-metil-5-nitroimidazol-1-etanol) é um nitroimidazol, atuante na inibição da síntese e na degradação do DNA microbiano. Foi, primeiramente, utilizado para o tratamento de infecções causadas por *Trichomonas vaginalis* e no tratamento de infecções por *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia* (INGHAM; SELKON; HALE, 1975). SHINN (1962) relatou a recuperação de uma paciente com gengivite ulcerativa, portadora de tricomoníase vaginal, tratada com metronidazol.

O metronidazol foi preconizado por ser um medicamento cujas propriedades vêm ao encontro das medidas necessárias para o controle da microbiota anaeróbia presente na alveolite (BIRN, 1973; ROOD; MURGATROYD, 1979).

GOLOMB et al. (1984) propuseram-se a desenvolver um sistema de liberação controlada de metronidazol no interior de bolsas periodontais, com avaliação *in vitro* e *in vivo*. Os resultados mostraram que embebido em etilcelulose, o metronidazol é liberado com ação comprovada no interior da bolsa periodontal por 3 dias.

KAZIRO (1984), em seu experimento duplo-cego, analisou o efeito do metronidazol, da arnica montana e de um placebo na prevenção das complicações pós-cirúrgicas. Os resultados mostraram maior efetividade do metronidazol no controle da infecção e, conseqüentemente, da dor, na prevenção do edema e na promoção do reparo. O antibiótico era administrado por via oral, na dosagem de 400 mg, duas vezes ao dia.

MITCHELL (1984) investigou a eficácia de uma pasta à base de metronidazol a 10% aplicada topicamente para o tratamento da alveolite. Utilizou a carboximetilcelulose como veículo, também sendo usada como placebo, ambos aromatizados com menta. Foram avaliados 55 pacientes, sendo 26 tratados e 29 controles. Cura mais rápida foi verificada quando da utilização da pasta em relação ao controle.

Dois anos após, MITCHELL (1986) definiu as propriedades do curativo ideal para a alveolite, tendo as seguintes características: (1) promover um rápido e efetivo alívio da dor; (2) não ser irritante aos tecidos vizinhos; ser absorvível ou incorporado; (4) permitir íntimo contato com o tecido ósseo; (5) ser antisséptico; (6) ser estável aos fluidos bucais; (7) não deve sofrer alterações de volume em contato com o sangue e saliva; (8) ser de fácil aplicação; (9) o tratamento deve ser realizado em uma única visita preferencialmente; e (10) apresentar baixo custo. Ainda nesse trabalho, o autor investigou o tratamento da alveolite em 151 pacientes com o uso de uma pasta de colágeno (fórmula K), aplicada após a irrigação com soro fisiológico. Dos 151 pacientes, 100 receberam a pasta de colágeno e os demais receberam o tratamento com pasta de óxido de zinco e eugenol. Os resultados mostraram um resultado favorável para o uso da pasta de colágeno e redução da dor no período de 1 a 4 dias. MITCHELL (1988) sugeriu o uso de nitroimidazoles no tratamento e prevenção da alveolite, em virtude do evidente envolvimento das bactérias anaeróbias estritas na etiologia da doença. Sugeriu, ainda, a utilização dessa droga na forma de pó, fazendo referência à aplicação da tetraciclina em pó, embora MOORE e BREKKE (1990) encontrassem reação tipo corpo estranho ao utilizar a tetraciclina em pó associada ao ácido polilático e atribuíram tal achado às micropartículas insolúveis do medicamento, além das características hidrofóbicas do polímero. Por isso, alertam quanto à utilização de antibióticos na forma de pó em extrações recentes.

BOYES-VARLEY, CLEATON-JONES e LOWNIE (1988) pesquisaram o efeito de uma combinação de drogas para aplicação tópica após exodontia em macacos, bem como seu comportamento no processo de reparo alveolar. Essa composição era formada por dois agentes antifibrinolíticos (ácido propil-hidroxi-benzóico e ácido tranexâmico), um antisséptico local (tri-iodo metano), um anestésico local (cincaína clorídrica), um antibacteriano (metronidazol) e excipiente. Os resultados mostraram que essa combinação aplicada topicamente nos alvéolos dos macacos, agiu de forma compatível com o processo normal de reparo alveolar.

CARVALHO (1989) observou em alguns espécimes, restos de material nas proximidades do epitélio e células gigantes ao utilizar o Alveosan[®] (ácido acetil salicílico, bálsamo do Peru, eugenol e lanolina como veículo) para tratar alvéolos infectados de ratos. Na presença de Alveoliten[®] (óxido de zinco, iodofórmio, paramonoclorofenol, resina branca e

excipiente) foi relatada a presença de infiltrado inflamatório agudo no tecido conjuntivo circunjacente (CARVALHO; ARAÚJO; POI, 1990; CARVALHO; POI; GARCIA JÚNIOR, 1992).

MARIANO (1991) analisou o efeito da Rifocina “M” associada ou não ao Gelfoam sobre o processo de reparo em alvéolos infectados de ratos, concluindo que o grupo tratado apenas com o medicamento apresentou reparação acelerada em comparação com os demais produtos experimentados, também apresentando resultados clínicos interessantes (MARIANO; OLIVEIRA FILHO; COSTA, 1994).

MEIRA (1993) estudou a eficácia da aplicação tópica de associações entre triancinolona e antimicrobianos em alvéolos infectados de ratos. Os resultados mostraram-se melhores no grupo em que apenas a limpeza cirúrgica e irrigação com soro fisiológico foram empregadas, pois o grupo tratado mostrou deficiência na formação óssea e retardo significativo na cronologia de reparo alveolar.

Tanto o uso sistêmico quanto tópico de antibióticos para o tratamento da alveolite também têm sido descritos. ROOD e DANDFORD (1981) empregaram o metronidazol na dosagem de 400 mg ao dia, por 5 dias, para o tratamento da alveolite, obtendo bons resultados, inclusive em relação ao alívio da dor. PANKHURST, LEWIS e CLARK (1994) prescreveram o metronidazol na dosagem de 200mg 3 vezes ao dia, por 3 dias, para o tratamento de pacientes HIV soropositivos acometidos pela alveolite.

POI (1994) analisou a pasta utilizada em humanos por MITCHELL (1984), após aplicação em tecido subcutâneo de ratos. Nesse ensaio, a composição estudada foi metronidazol a 10%, lidocaína a 2%, carboximetilcelulose como veículo e menta como aromatizante. Concluiu-se que a pasta apresentava características que indicam sua utilização tópica.

De acordo com BETTS et al. (1995), o curativo ideal para o preenchimento do alvéolo deveria ser este: bactericida, antifibrinolítico, analgésico e contribuir para a reparação alveolar. Um fator relevante para os autores é a manipulação durante o tratamento, pois a limpeza e o próprio curativo inevitavelmente intensificam a dor. Os autores comentam a necessidade de técnicas para instrumentação dessas lojas ósseas com o mínimo de desconforto, acompanhada por um imediato e duradouro alívio da dor. Desse modo, os autores acreditam que um gel de lidocaína a 2% seja útil nessas situações, promovendo analgesia rápida nas terminações nervosas logo após a instrumentação, sem efeitos colaterais, conforme mostrado em seus resultados.

POI et al. (1998) estudaram a influência da pasta à base de metronidazol e lidocaína no processo de reparo em alvéolos infectados de ratos. Nesse estudo, foram analisados quatro

grupos: I- Alvéolo não infectado; II- Alvéolo infectado sem tratamento; III- Alvéolo tratado por limpeza cirúrgica com cureta e irrigação com soro fisiológico; IV- Limpeza cirúrgica com cureta, irrigação com soro fisiológico e preenchimento do alvéolo com pasta à base de metronidazol 10% e lidocaína 2%, utilizando lanolina como veículo e menta; V- Limpeza cirúrgica com cureta, irrigação com soro fisiológico e preenchimento do alvéolo com pasta à base de metronidazol 10% e lidocaína 2%, utilizando carboximetilcelulose como veículo e menta. A partir da análise dos resultados do Grupo I, foram observadas as mesmas características já descritas por OKAMOTO e RUSSO (1973), CARVALHO e OKAMOTO (1987), ou seja, a presença de tecido conjuntivo neoformado, rico em fibroblastos e bastante vascularizado nas proximidades das paredes alveolares dos terços alveolares estudados (apical, médio e cervical), logo aos 6 dias pós-operatórios. Em contrapartida, um elevado número de polimorfonucleares neutrófilos foi notado no grupo II (alveolite sem tratamento), além de as paredes ósseas sofrerem intensa reabsorção, com presença de células multinucleadas, fatos relatados em outras pesquisas (CURY et al., 1983; CARVALHO; ARAÚJO; POI, 1990). Já os achados do GRUPO III (curetagem + soro) são concordantes com os de CARVALHO (1989), MARIANO (1991). O tratamento empregado nesse grupo (Grupo III) pouco favorece o processo de reparo ao ser comparado a outros métodos, talvez, segundo ele, por necessitar a alveolite de uma terapêutica medicamentosa local que impeça a proliferação bacteriana e proteja as paredes alveolares, fato anteriormente observado por ERICKSON, WAITE e WILKISON (1960), BRESCO-SALINAS et al. (2006), em sua recente revisão sobre infecções odontogênicas, acreditam que sempre que existir contaminação, a limpeza cirúrgica e a antibioticoterapia são mandatórias. Porém, a limpeza cirúrgica é contra-indicada por alguns autores, do ponto de vista clínico, pela possibilidade de exacerbar o processo infeccioso (ABRÃO, 1981; KRUGER, 1984).

Para o tratamento com pastas, a curetagem e a irrigação são consideradas indispensáveis, pois removem os restos necróticos do alvéolo para permitir adequada proteção das paredes alveolares com os medicamentos específicos (CARVALHO; OKAMOTO; BARBOSA, 1991). É importante destacar que não foi observada, nos dois grupos em que as pastas curativas foram utilizadas (Grupos IV e V), a presença de intenso infiltrado inflamatório junto ao material no interior do alvéolo, ao contrário do relatado por CURY et al. (1983), CARVALHO, ARAÚJO e POI (1990), além de apresentarem um reparo mais adiantado, sobretudo no Grupo V. O mesmo Grupo V (pasta “B”, com carboximetilcelulose como veículo) apresentou, em alguns casos, tecido conjuntivo neoformado pouco organizado, com moderado número de linfócitos e macrófagos. Nos terços médio e apical dos espécimes do grupo V

(carboximetilcelulose), o tecido conjuntivo neoformado exibiu trabéculas ósseas delgadas intercaladas por outras espessas. Essa mesma pasta empregada no grupo IV foi estudada clinicamente por SILVA et al. (2006), mostrando também bons resultados para o tratamento da alveolite, incluindo redução significativa da dor e ausência de efeito adverso local e/ou sistêmico.

POI et al. (2000) estudaram novamente a pasta à base de metronidazol, lidocaína 2%, carboximetilcelulose e menta associados ao ascorbosilane C (Ascorbyl methylsilanol pectinate) a 5%, tendo como propriedades principais: redutor de radicais livres; protetor da membrana celular e regenerador dos tecidos cutâneos, além de favorecer a síntese de colágeno e elastina. Com base nos resultados, foi possível concluir que a pasta foi eficaz no tratamento da infecção e não interferiu na cronologia normal do processo de reparo, em modelo experimental, de alvéolos dentários infectados de ratos.

Em virtude dos experimentos demonstrando o papel das bactérias anaeróbias nas infecções bucais, entre elas a alveolite, algumas combinações antissépticas tópicas, capazes de liberar grande quantidade de oxigênio nascente, parecem ser eficazes no combate a tais microorganismos. Um exemplo dessas combinações é o iodeto de sódio e o peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio é um composto instável que se dissocia facilmente em oxigênio molecular e água. A solução utilizada terapeuticamente é a solução de peróxido de hidrogênio a 3%. Ao entrar em contato com o tecido, o oxigênio é liberado e a ação germicida ocorre. É esse mecanismo de efervescência que promove a limpeza das feridas, removendo detritos (GOODMAN; GILMAN, 1973). SASAKI e OKAMOTO (1968) utilizaram para o tratamento dos alvéolos infectados de ratos: Alveolex; cânfora e peróxido de hidrogênio; sulfa-antibiótico; e curetagem seguida de sutura, encontrando resultados melhores com a curetagem e sutura em relação ao reparo alveolar, embora a associação sulfa-antibiótico tivesse sido mais eficaz no combate à infecção. O grupo tratado pela cânfora e água oxigenada apresentou resultados intermediários, apresentando uma intensa reação de corpo estranho.

Um tratamento utilizado experimentalmente em cães, por ZHANG et al. (1983), foi a limpeza do alvéolo com algodão embebido em peróxido de hidrogênio a 3%, introdução de gaze iodoformada acrescida de uma pasta produzida pela dissolução de benzocaína em óleo de cravo e pó de sulfatiazol, por 4 dias. Após análise microscópica, concluíram que essa pasta provocava um acentuado retardo no reparo e que a sulfa em pó originava reação de corpo estranho.

Apesar de reais as controvérsias na literatura sobre o efeito bactericida do peróxido de hidrogênio, diferentes autores vêm utilizando esse antisséptico para o controle de gengivites e periodontites. SCHNEIDER e FRANKE (1989) realizaram testes clínicos aplicando peróxido

de hidrogênio 3% para tratar gengivites e periodontites, verificando bons resultados nas gengivites.

Os efeitos do peróxido de hidrogênio sobre a bacteremia, após extrações dentárias, foram avaliados por YAMALIK, YUCETAS e ABBASOGLU (1992), que encontraram redução nos níveis sanguíneos de micro-organismos, especialmente anaeróbios. Esses autores também encontraram bons resultados quando da utilização de PVP-I.

Um estudo *in vitro* sobre a susceptibilidade a agentes antimicrobianos das cepas de *Pseudomonas e Staphylococcus* isolados de feridas foi realizado por CAUFIELD, ALLEN e CHILDERS (1986), evidenciando que a solução de peróxido de hidrogênio a 1% foi eficaz contra esses micro-organismos.

MRZLIKAR (1990), atendendo 122 pacientes com dor pós-extração, tratou seus alvéolos com peróxido de hidrogênio a 6%, conseguindo alívio da dor em todos os pacientes, necessitando de 1 a 8 sessões de irrigação.

Para RAMP et al. (1987), o peróxido de hidrogênio apresenta efeitos danosos sobre o osso, inibindo metabolismo de glicose e síntese de colágeno no osso. Os autores discutem a necessidade de outros estudos analisando concentrações e tempos de exposição diferentes, além de investigações especificamente na região bucal.

ZIED et al. (2005) avaliaram microscopicamente o processo de reparo alveolar em ratos após tamponamento com gaze embebida em peróxido de hidrogênio a 3%, por 2 minutos, seguido de sutura. Os autores concluíram que esse composto foi um fator complicador do processo de reparo alveolar.

Já os compostos à base de iodo provavelmente ainda são os antissépticos mais eficazes em utilização. Seu espectro germicida inclui todas as formas de patógenos vegetativos, bactérias, vírus, fungos e protozoários. Até mesmo os esporos são eliminados quando da longa exposição ao iodo. O elemento iodo é viável (como sais de sódio ou potássio para aumentar solubilidade) em soluções aquosas ou como tintura (com etanol 50%). Os iodetos, em geral, não são inibidos pela presença de matéria orgânica, não são corrosivos e têm toxicidade muito baixa em comparação ao seu poder germicida. Reações alérgicas são pouco encontradas (GOODMAN; GILMAN, 1973; NEIDLE; YAGIELA, 1989).

O iodeto de sódio é um agente germicida com atividade antisséptica longa em feridas contaminadas e, dependendo da sua concentração e pH, as soluções tornam-se mais ou menos bactericidas (RODEHEAVER et al., 1976). A concentração do iodeto regula o equilíbrio do iodo dissolvido entre sua forma livre e complexada. Aumentando a concentração de iodeto, há

diminuição da quantidade de iodo livre na solução, sendo que o nível de iodo livre é que determina sua atividade antisséptica.

A combinação de substâncias à base de iodo com peróxido de hidrogênio pode trazer algumas vantagens. MARUNIAK et al. (1992) avaliaram o efeito de três soluções para bochechos sobre o desenvolvimento de placa e gengivite, dentre elas uma solução contendo peróxido de hidrogênio e PVP-I. Seus resultados clínicos mostraram que a combinação dos compostos apresentou diferentes efeitos dos exibidos por cada um dos compostos separadamente. Confirmando os achados de SABATH (1968), CAUFIELD, ALLEN e CHILDERS (1986), CLARK et al. (1989), a combinação PVP-I e peróxido de hidrogênio exerceram efeitos bactericidas sinérgicos contra bactérias periodontopatógenas, permitindo que MARUNIAK et al. (1992), concluíssem que existe um efeito de redução marcante da placa dentária e gengivite com o uso da combinação iodo-peróxido de hidrogênio.


TOY (1980) avaliou a eficiência de um composto protetor alveolar à base de iodeto e timol associado ao “Dentalone[®]”. Composto com propriedades germicida e anestésica foi considerado efetivo sobre *staphylococcus aureus*. O autor sugere o uso dessa pasta, descreve a forma de utilização, mas não apresenta resultados que demonstrem sua efetividade.

Embora a maioria dos autores concorde que é melhor prevenir a alveolite que tratá-la, até o momento nenhum método isolado de prevenção ou tratamento alcançou sucesso ou aceitação plena, ainda que a maioria dos clínicos continue a utilizar “métodos próprios”, muitas vezes na forma de antimicrobianos tópicos, utilizados em outras infecções bucomaxilofaciais, comumente sem quaisquer estudos científicos que comprovem tal eficácia para o tratamento da alveolite (BLUM, 2002). Um exemplo seria a utilização da irrigação utilizando-se iodeto de sódio a 2% associado com peróxido de hidrogênio a 3%, utilizado no tratamento de pacientes hospitalizados com osteorradionecrose, devido a radioterapia, apresentando os melhores resultados clínicos em relação a outros tratamentos, inclusive o debridamento cirúrgico (SOUZA; BARBOSA, 1991; BIAZOLLA; CASTRO; PINTO, 1996). Essa associação, por sua propriedade anti-anaeróbia, mostrou-se eficaz em áreas infectadas por esses micro-organismos (WENSTROM; LINDHE, 1979). Também tem ação física na remoção de detritos e restos necróticos, podendo eliminar a necessidade da limpeza cirúrgica da área (BIAZOLLA; CASTRO; PINTO, 1996).

A escassez de estudos sobre essa solução irrigadora associada aos resultados contraditórios dos estudos inviabiliza o estabelecimento de uma opinião concreta sobre a real efetividade desse composto (SOUZA; BARBOSA, 1991; MARIANO, 1995; BIAZOLLA;

CASTRO; PINTO, 1996). Isso reflete a necessidade de maiores investigações experimentais e clínicas sobre o seu uso.

A importância da análise de métodos que permitam o tratamento da alveolite é de fundamental importância, especialmente naquelas situações em que as medidas preventivas não surtam o desejado efeito.



Proposição


3 Proposição

O objetivo deste trabalho foi:

1- Analisar a expressão de genes envolvidos no processo de reparo ósseo (para colágeno tipo I, VEGF, osteocalcina, fosfatase alcalina, RUNX2 e TNF- α) através da RealTimePCR (Reação em cadeia da polimerase, em tempo real), em alvéolos intencionalmente infectados de ratos, e comparar duas diferentes modalidades de tratamento da alveolite.

2- Correlacionar essa expressão com as características microscópicas observadas durante o processo de reparo de alvéolos infectados de ratos quando submetidos a duas diferentes formas de tratamento:

- Irrigação única com solução de iodeto de sódio a 2% e peróxido de hidrogênio a 3% na proporção de 1:1;
 - Curetagem, irrigação com solução fisiológica e preenchimento com pasta à base de metronidazol a 10%, lidocaína a 2%, carboximetilcelulose e menta.
-



Material e Métodos

4 Material e Métodos

4.1 Alveolite experimental e tratamentos

Foram utilizados, neste experimento, 84 ratos (*Rattus norvegicus, albinus, Wistar*) machos, com peso entre 150 e 200 g. Foram utilizados somente ratos machos para evitar influência das variações hormonais sobre o processo de reparo alveolar. Realizou-se exame coproparasitológico de todos os animais pelo método da flutuação e sedimentação (FOREYT, 2005), por meio do qual se observou apenas a presença do parasita comensal e não patogênico *Entamoeba muris*. Os animais foram alimentados com ração sólida (Ração Ativada Produtor - Anderson & Clayton S.A.) e água *ad libitum*, com exceção das primeiras 24 horas pós-cirurgia, quando a alimentação foi triturada. Os animais foram acondicionados em caixas individuais, previamente descontaminadas por ação de detergente enzimático (Detergerm Enzimático- Johnson Diversey), e forradas com maravalha estéril, evitando qualquer fator de interferência externa na infecção induzida.

Para a realização dos procedimentos cirúrgicos, os animais foram anestesiados e sedados com ketamina e xilazina mediante injeção intraperitoneal. Inicialmente, receberam uma medicação pré-anestésica à base de cloridrato de xilazina (15 mg/kg), via intramuscular e foram anestesiados com uma combinação de cloridrato de ketamina (25 mg/kg) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg), via intramuscular. Em seguida, os animais foram identificados na orelha, com auxílio de um perfurador de borracha utilizado em procedimentos odontológicos, por grupo correspondente, para evitar a troca de animais durante o manejo dos mesmos. Após a antisepsia da área cirúrgica com iodo tópico (Dermoidine - Gessy Lever Industrial Ltda.), **(Figura 1)** o incisivo superior direito de cada animal foi extraído com a utilização de instrumentos adaptados para esse procedimento. Foi utilizada uma espátula devidamente afiada para desinserção dos tecidos moles e luxação do dente **(Figura 2A, 2B, 3A e 3B)** e uma pinça previamente desgastada para a apreensão e extração do dente. **(Figuras 4A, 4B, 5A, 5B, 6 e 7)** Apenas com esse procedimento, 21 animais constituíram o grupo controle (Grupo I: Alvéolo não infectado).

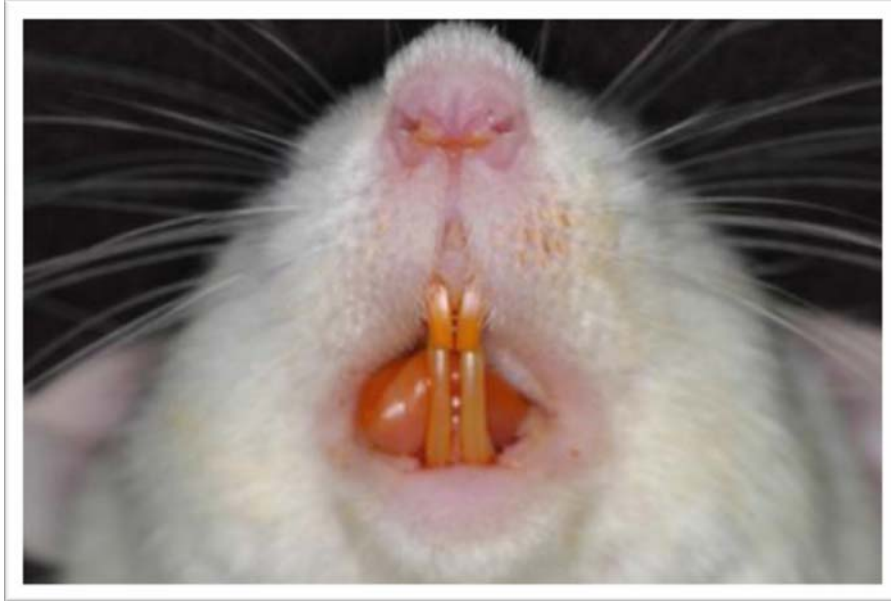


Figura 1- Vista frontal do animal após a antissepsia extra e intrabucal com iodo tópico.

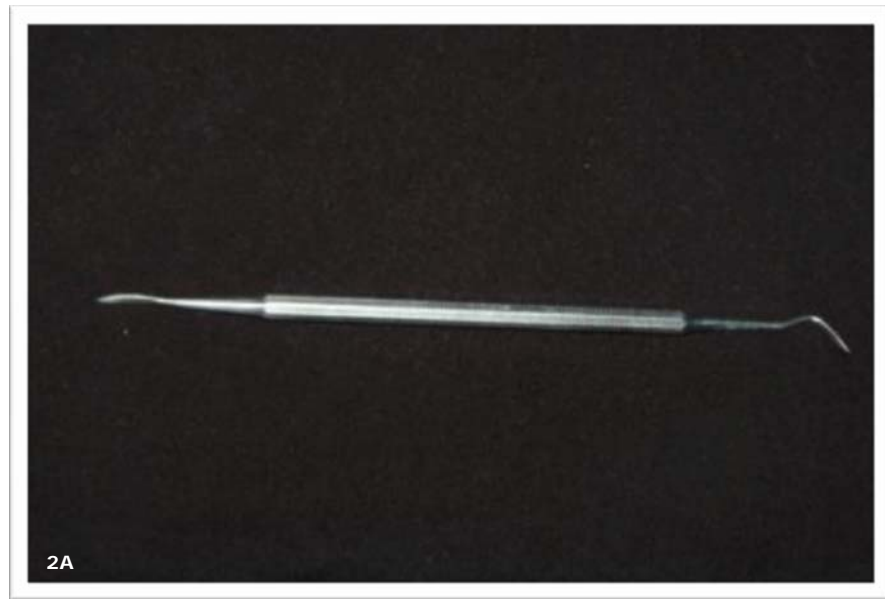


Figura 2A e 2B - Espátula utilizada para a exodontia, especificamente na desinserção dos tecidos moles e na luxação do dente.

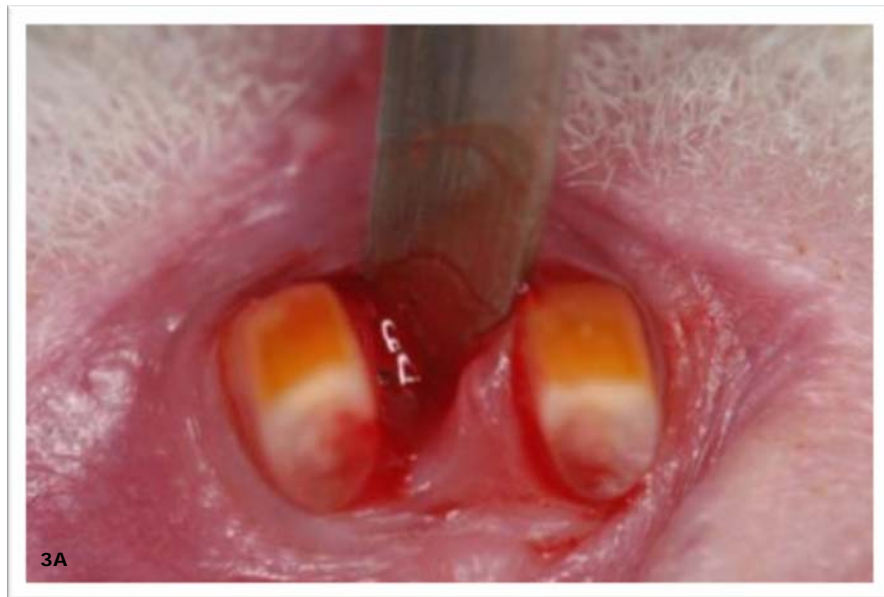


Figura 3A e 3B - Posicionamento do instrumento e luxação do incisivo central superior direito.



Figura 4A e 4B - Pinça utilizada na exodontia e posicionamento da mesma.

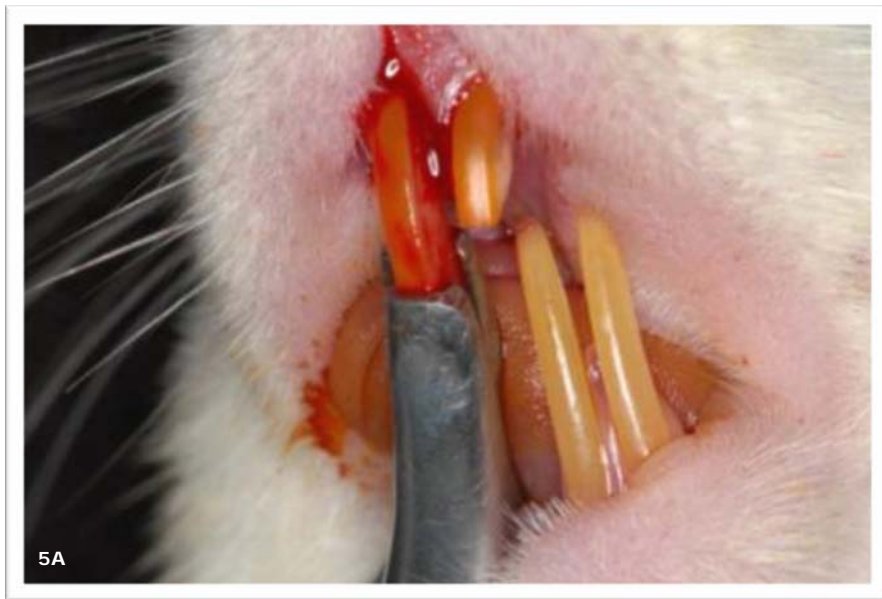


Figura 5A e 5B - Exodontia.



Figura 6 e 7 - Alvéolo após exodontia e incisivo central superior direito.

Na seqüência, foi provocada isquemia alveolar nos 63 animais restantes, pela introdução de um cone de papel absorvente durante 1 minuto, (Sybon-Kerr, segunda série) embebido em Adrenalina a 1:1000 (Ariston Indústria Química Farmacêutica Ltda.). Após a retirada do cone, os animais permaneceram em observação por 60 a 90 segundos, com o objetivo de se comprovar a ausência de coágulo sanguíneo no interior dos alvéolos (**Figuras 8A e 8B**).



Figura 8A e 8B - Introdução de um cone absorvente embebido em adrenalina 1:1000 no alvéolo e sua isquemia após 1 minuto.

Em seguida, os alvéolos foram contaminados com uma suspensão homogênea de secreção purulenta proveniente de "ratos doadores", com o auxílio de cones de papel absorvente mantidos no interior do alvéolo por um minuto (**Figuras 9A e 9B**). A suspensão utilizada neste estudo foi fornecida pela Disciplina de Microbiologia da FOA-UNESP, e foi mantida pela Disciplina de Microbiologia da FOB-USP. Essa suspensão contém os micro-

organismos: *C. ochracea*, *F. nucleatum ss nucleatum*, *P. melaninogenica*, *S. anginosus*, *T. socranskii* e *S. sanguis*. Esses micro-organismos foram identificados pela técnica de hibridização tipo Checkerboard DNA-DNA, dentre 39 espécies conhecidas de periodontopatógenos (SOCRANSKY et al., 1994), embora possam existir outros micro-organismos periodontopatógenos e não-periodontopatógenos, não detectáveis por esse método. A identificação dos micro-organismos periodontopatógenos da suspensão foi realizada na UNG (Universidade de Guarulhos) sob a supervisão da Prof. Dra. Magda Feres.

A suspensão homogênea de secreção purulenta utilizada foi obtida de um grupo de 8 ratos com infecção alveolar previamente induzida. Essa indução é produzida pela introdução de cone de papel absorvente embebido em Adrenalina a 1: 1000 (Ariston Indústria Química Farmacêutica Ltda.), no interior do alvéolo por 1 minuto, após a extração de um dos incisivos superiores, o qual permanece exposto ao meio bucal por 3 dias. Após este período, os animais já exibem secreção purulenta na entrada do alvéolo. A secreção é coletada introduzindo-se cones de papel absorvente no interior do alvéolo por 1 minuto. Os cones são removidos e transferidos para um pequeno frasco contendo meio de transporte com substâncias redutoras (MRT) e pérolas de vidro. Em seguida, o frasco é agitado por 30 segundos para homogeneização. O conteúdo é fracionado e conservado em nitrogênio líquido na temperatura de -196°C (D'ANTONIO, 1984).

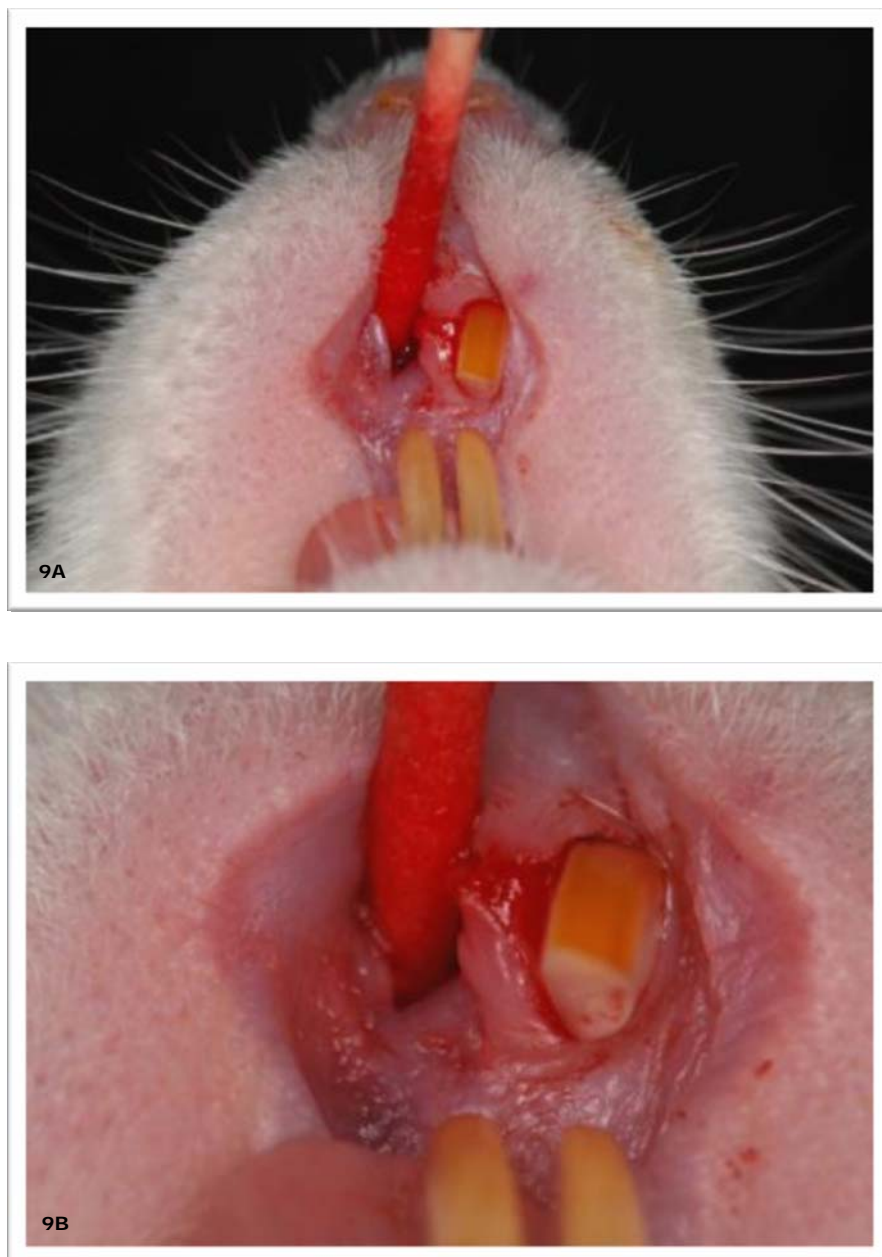


Figura 9A e 9B - Contaminação do alvéolo com um cone absorvente embebido com a suspensão de bactérias.

No terceiro dia pós-operatório, sob nova anestesia, e comprovada a instalação de alveolite pela observação de pus na entrada do alvéolo (**Figura 10**), os grupos experimentais em número de quatro, com 7 animais em cada, foram definitivamente formados da seguinte maneira: Grupo II: Alvéolo infectado que não recebeu tratamento; Grupo III: Tratado com irrigação com solução de iodeto de sódio a 2% (Laboratório de Bioquímica da FOB-USP) e peróxido de hidrogênio (Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda.), 10 volumes, na proporção 1:1 e Grupo IV: Tratado com curetagem, irrigação com soro fisiológico e preenchimento do

alvéolo com uma pasta à base de metronidazol a 10% (Flagyl, Rhodia Pharma S. A.) e lidocaína a 2% (Merrel-Lepetit, Indústrias farmacêuticas), utilizando carboximetilcelulose (Pharmácia Específica) como veículo e menta (Pharmácia Específica) como aromatizante.



Figura 10 - Alveolite constatada no terceiro dia após a exodontia.

A pasta utilizada nos animais do grupo IV foi levada ao interior dos alvéolos com o auxílio de seringa Luer plástica descartável (Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda), com agulhas hipodérmicas (25x8) previamente preparadas para melhor adaptação ao formato alveolar, ou seja, pré-curvadas e sem bisel. Em seguida, os excessos foram removidos com gaze estéril. Para as irrigações também foram utilizadas seringas Luer plásticas descartáveis (Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda), com agulhas hipodérmicas (25x8) previamente preparadas da mesma maneira. Os excessos também foram removidos com gaze estéril. (**Figuras 11, 12, 13**).



Figura 11- Curetagem do alvéolo realizada no Grupo IV.



Figura 12 - Alvéolo preenchido pela pasta à base de metronidazol no Grupo IV.



Figura 13 - Irrigação com iodeto de sódio 2% e peróxido de hidrogênio 3% no Grupo III.

4.2 Coleta e Processamento para a Análise das Amostras

A eutanásia dos animais foi realizada 6, 15 e 28 dias após a exodontia, sob sedação, por injeção de dose excessiva de anestésico por via intramuscular. Em cada período, foram eutanasiados 28 animais, (7 animais por grupo) sendo que, de cada grupo, 4 animais foram para a análise microscópica e 3 para a análise molecular (RealtimePCR), escolhidos aleatoriamente.

4.2.1 Preparo das amostras para análise microscópica

Após a eutanásia, foram removidas as maxilas dos animais com o auxílio de lâminas para micrótomo. As maxilas foram separadas na rafe palatina, seccionadas à distal do terceiro molar e os tecidos em excesso removidos com o auxílio de uma lâmina de bisturi número 15 (**Figuras 14A e 14B**). As peças foram fixadas em formalina a 10% tamponada e, uma semana depois foram feitas radiografias antes de dar início à desmineralização em solução de EDTA (EDTA 4,13% em pH 7,0). Foram utilizados filmes oclusais, sendo que, em cada filme foram radiografadas duas peças e adequadamente identificadas. Utilizou-se um aparelho Yoshida da

clínica de radiologia da FOB-USP, com um tempo de exposição de 0,17 segundos, distância foco-filme de 40 cm, numa mesa forrada com jornal e com um mapa que indicava a posição correta do filme.



Figura 14A e 14B - Imagens da maxila do rato removida para análise microscópica do alvéolo.

As peças permaneceram na solução de EDTA por 50 dias, sendo que a solução era substituída a cada 7 dias. Ao final dos 50 dias, foram realizadas novas radiografias de todas as peças. Constatada a desmineralização, elas foram desidratadas com álcool 70° e álcool absoluto e diafanizadas com xilol até a inclusão das mesmas em blocos de parafina.

Os blocos foram submetidos a cortes longitudinais semiseriados com 5 micrômetros de espessura, utilizando-se um micrótomo Leica Jung RM 2045. As lâminas foram coradas com hematoxilina de Harris e eosina de Lison, montadas adequadamente e analisadas microscopicamente. Para análise descritiva (qualitativa), foi utilizado um microscópio óptico (OLYMPUS, modelo CH-2), com objetiva de aumento de até 40x.

Para a análise quantitativa, utilizou-se uma ocular Zeiss Kpl de 8x (Carl Zeiss MicroImaging Inc.), contendo uma grade ou retículo de integração Zeiss II, constituída por 10 linhas paralelas com 100 pontos simetricamente distribuídos dentro dessa área quadrangular. Em cada alvéolo foram observados 45 campos microscópicos distintos, com aumento de 40x, 15 em cada terço do alvéolo (apical, médio e cervical), após randomização ou amostragem sistemática, na qual os campos foram escolhidos a intervalos regulares em cada corte, de maneira a se obter uma amostra representativa de toda área do corte (WEIBEL, 1969). As estruturas histológicas quantificadas pela análise histométrica do reparo alveolar foram: tecido ósseo, tecido conjuntivo, infiltrado inflamatório, coágulo sanguíneo e vasos sanguíneos.

4.2.2 Preparo das amostras para análise molecular

4.2.2.1 Extração de RNA e Transcrição Reversa

Decorridos os períodos 6, 15 e 28 dias, 3 animais por grupo (totalizando 36 animais) foram eutanasiados com a associação de Cloridrato de xilasina e cloridrato de ketamina (Vetbrands®). Após as eutanásias, a região do alvéolo do dente incisivo superior direito de 3 animais de cada grupo foi removida e armazenada em tubos de microcentrífuga contendo 1mL de Trizol® (Invitrogen) (**Figuras 15A e 15B**), sendo agitadas por 30 segundos e deixadas em temperatura ambiente por 5 minutos. As amostras foram, então, congeladas a -80°C, no Centro Integrado em Pesquisas da FOB/USP (CIP). No momento da extração do RNA, os alvéolos foram triturados com a ajuda de uma tesoura e seguindo o protocolo recomendado

pelo

fabricante.

(Invitrogen,

USA).



Figura 15A e 15B - Imagens do alvéolo isolado da maxila e triturado para análise molecular.

Para a extração do RNA, os tubos contendo os alvéolos já triturados foram incubados por 5 minutos a 4°C e, então, foi adicionado um volume de 20% de clorofórmio. Os tubos foram vigorosamente agitados e deixados em repouso a 4°C por 5 minutos, sendo em seguida centrifugados a 12.000 g por 25 minutos. A camada superior (fase aquosa) foi recuperada em alíquotas de 400µL, que foram colocadas em tubos de microcentrífuga de 1,5 mL contendo 400µL de isopropanol. Os tubos foram agitados vigorosamente e deixados em repouso a 4°C por 15 minutos. Após centrifugação a 15.000 g por 20 minutos a 4°C, o precipitado de RNA

foi obtido e, em seguida, o sobrenadante foi descartado e ao precipitado adicionado 1mL de etanol 70% em água com dietil pirocarbonato 0,1% (DEPC), agitando-se vigorosamente. Foi realizada nova centrifugação a 15.000 g por 10 minutos a 4°C, descartando-se o sobrenadante e repetindo-se outra centrifugação com 1 mL de etanol 70% a 15.000 g por 10 minutos a 4°C. Para permitir a secagem das amostras, o sobrenadante foi descartado e os tubos foram deixados abertos em temperatura ambiente por 5 minutos dentro de uma capela de fluxo laminar vertical (para impedir a contaminação das amostras). Para redissolver o RNA total, os tubos de microcentrifuga receberam um volume de 50 µL de água tratada com DEPC 0,1% e foram incubados a 65°C por 15 a 30 minutos até a dissolução dos precipitados.

Quantificação do RNA total

A concentração de RNA total nas amostras foi determinada por diluição do RNA (fator de diluição conhecido) e leitura em cubetas de quartzo em espectrofotômetro Pharmacia (Ultrospec 2000) no comprimento de onda de 260 nm (A260). A fórmula para calcular a concentração de RNA total foi a seguinte: $(RNA) = A_{260} \times 40 \times \text{fator de diluição conhecido}$, sendo o resultado expresso em mg/mL. A qualidade do RNA total nas amostras foi determinada pela diluição do RNA (em Tris-HCl 10 mM, pH 7,8) e leitura da absorbância em cubetas de quartzo em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 260 e 280 nm (A260 e A280). Foi calculada a relação A260/A280, a qual foi considerada aceitável entre 1,9 e 2,1, pois valores nesse intervalo indicam ausência de DNA na amostra.

Transcrição do RNA em cDNA

Foram utilizados 5µg de RNA total para a transcrição em DNA complementar (cDNA) por meio da enzima transcriptase reversa (Kit de transcrição reversa - Superscript III, Invitrogen). Aos tubos contendo o RNA foi adicionado 0,2 µg de hexadeoxinucleotídeos (dNTPs) e 1µl de Oligo dT primer (invitrogen), sendo essa mistura incubada a 65°C por 5 minutos. Após a incubação foi colocado no tubo 1µl de DTT, 1µl da enzima transcriptase reversa e 4µl do Tampão e incubado novamente a 50°C por 1 hora seguido de outra incubação a 70°C por 15 minutos.

4.2.2.2 Reações de RealTimePCR

A quantificação da expressão de mRNA (RNA mensageiro) codificando genes de fatores integrantes do reparo alveolar (osteocalcina, fosfatase alcalina, RUNX2, VEGF e TNF- α) foi realizada através de reações de RealTimePCR, utilizando-se o sistema SYBRGreen em um aparelho MiniOpticon (BioRad).

Pares de primers adequados para cada uma das reações de amplificação foram criados a partir de seqüências de mRNA para os genes alvo, utilizando-se o programa Primer Express (Applied Biosystems), os quais se encontram descritos, assim como as propriedades de cada reação (concentração de primer utilizada, temperatura de annealing, temperatura de melting, tamanho do fragmento de amplificação) na tabela 1.

Tabela 1 - Desenho dos primers criado pelo programa Primer Express (Applied Biosystem).

Alvo ((primers))	Pareamento de bases (Pb) Temperatura de anelamento (Ta)	Sense (5'-3')	Anti-sense (5'-3')
<i>β-actina</i>	Tm 82, Pb 150, Ta 60	ATTGAACACGGCATTGTCACC	GGTCATCTTTTCACGGTTGGC
<i>OCN</i>	Tm 83, Pb 57, Ta 61	TACAAGCGCATCTATGGCACC	TGTGCCGTCCATACTTTTCGAG
<i>ALP</i>	Tm 83, Pb 57, Ta 61	CGAGCAGGAACAGAAGTTTGC	TGGCCAAAAGGCAGTGAATAG
<i>RUNX2</i>	Tm 81, Pb 53, Ta 60	TTCAAGGTTGACCCTCGGA	AGATCGTTGAACCTGGCCACT
<i>VEGF</i>	Pb172, Ta 61	GCCCATGAAGTGGTGAAGTT	ACTCCAGGGCTTCATCATTG
<i>TNF-α</i>	Tm 84, Pb 128, Ta 62	GAGGCTCTCCCCAAAAGATG	CCAATCACCCCGAAGTTCAGT

Para todas as reações de RealTimePCR, foram utilizados 13 μ l do reagente SYBRGreen Master Mix (Invitrogen - que contém o fluoróforo SYBRGreen), 5 μ l da solução de cDNA (sintetizado como previamente descrito), 6 μ l de água MiliQ tratada com DEPC, e 1 μ l da solução contendo o par de primer (concentração final igual a 0,2 μ M). Previamente, as

reações de RealTimePCR foram otimizadas com relação às concentrações ideais de cada par de primers e temperatura de annealing, de modo a maximizar eficiência e a especificidade de amplificação.

Os resultados foram analisados com base no valor de CT (cicle threshold – ou ciclo limiar), sendo este o ponto correspondente ao número de ciclos em que a amplificação atinge um dado limiar durante a fase de amplificação exponencial da PCR, que permite a análise quantitativa da expressão do fator avaliado em relação ao nível de expressão de um gene constitutivo. Para as reações de RealTimePCR, foram utilizadas, independentemente, amostras de cDNA provenientes do RNA extraído do alvéolo de 3 animais de cada grupo, coletadas nos tempos de 6, 15 e 28 dias após a exodontia. As reações de RealTimePCR foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular, da disciplina de Histologia, do Departamento de Ciências Biológicas da FOB/USP (equipamentos financiados pela FAPESP, projeto 2006/00534-1), sob co-orientação do Prof. Dr. Gustavo P. Garlet.

4.3 Análise Estatística

Para a comparação estatística dos resultados encontrados nos grupos, períodos e variáveis microscópicas analisadas foram realizados inicialmente os testes Análise de Variância (ANOVA) a um critério e de Kruskal-Wallis, dependendo da normalidade da distribuição dos resultados. Quando os dados não apresentavam distribuição normal, analisados pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e pelo teste de Igualdade de Variâncias, o teste empregado foi o teste de Kruskal-Wallis. A Análise de Variância a um critério (ANOVA) foi o teste escolhido quando os dados apresentavam distribuição normal pelos mesmos testes. Quando os testes iniciais indicavam haver diferença estatística, foram realizados o teste de Dunn e teste de Tukey, para identificar onde havia diferença estatística. Os testes foram executados pelo software SigmaStat (versão 2.0, Systat Software, EUA). A análise de possíveis correlações entre as variáveis analisadas microscopicamente e as variáveis analisadas molecularmente foram investigadas pelo teste de regressão linear. Foram selecionadas as correlações entre as variáveis de interesse. Os testes foram aplicados através dos programas GraphPad InStat 3.05 e GraphPad Prisma 3.0 (GraphPad Software).



Resultados

5 Resultados

5.1 Análise microscópica qualitativa

Previamente à morfometria, a análise qualitativa das lâminas de cada grupo foi analisada, no intuito de conhecer a morfologia do alvéolo dentário e suas estruturas presentes. Algumas diferenças foram encontradas entre os grupos, principalmente no grupo II, em relação aos demais. A morfometria coincidiu com os achados visualizados, portanto foram selecionadas algumas áreas que representam o que mais frequentemente ocorreu nos alvéolos dentários de cada grupo.

Foram fotografadas quatro imagens dos três terços alveolares de cada grupo, por período.

De modo geral, observou-se que existe coágulo sanguíneo em todos os grupos, a neoformação óssea aumenta com o tempo, a presença de vasos se dá em todos os grupos, por períodos, e o tecido conjuntivo se apresenta ora frouxo, ora fibroso.

As estruturas representadas foram identificadas como: tecido ósseo (**TO**), vasos sanguíneos (**VS**), tecido conjuntivo (**TC**), infiltrado inflamatório (**IF**), cortical óssea ou parede alveolar (*), reabsorção óssea (**RO**) e coágulo sanguíneo (**C**).

5.1.1 Imagens dos alvéolos de cada grupo, aos 6 dias.

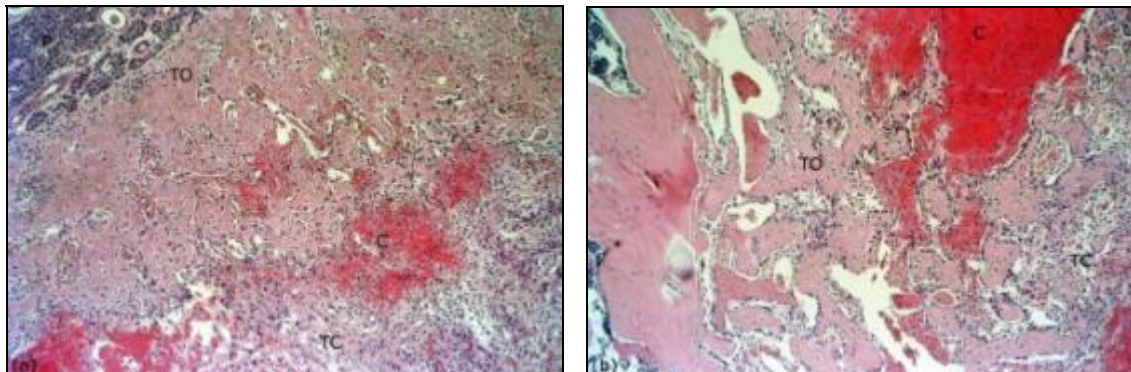


Figura 16 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo I, no período de 6 dias pós-exodontia. **a) região apical:** mostrando tecido ósseo neoformado (TO), trabéculas ósseas envoltas por restos de coágulo sanguíneo (C) e tecido conjuntivo (TC); e **b) região média:** vasos sanguíneos separando a cortical óssea (*) do tecido ósseo neoformado (TO), grande quantidade de coágulo sanguíneo (C) envolvido por tecido conjuntivo (TC). HE, 10x.

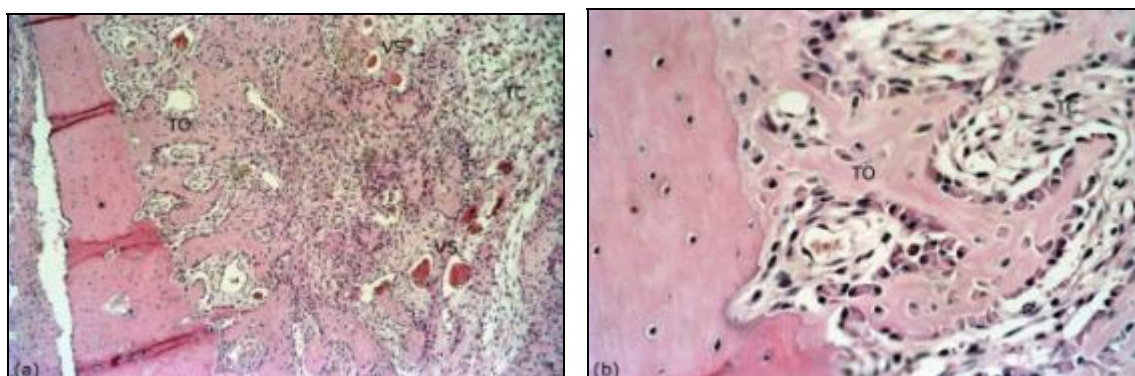


Figura 17 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo I, no período de 6 dias pós-exodontia. **a) região cervical:** trabéculas ósseas neoformadas (TO) entre cortical óssea íntegra (*) e tecido conjuntivo (TO) com a presença de inúmeros vasos sanguíneos (VS). **b) região cervical:** detalhe de uma trabécula neoformada (TO) envolvida por tecido conjuntivo (TC). HE, 10x e 40x, respectivamente.

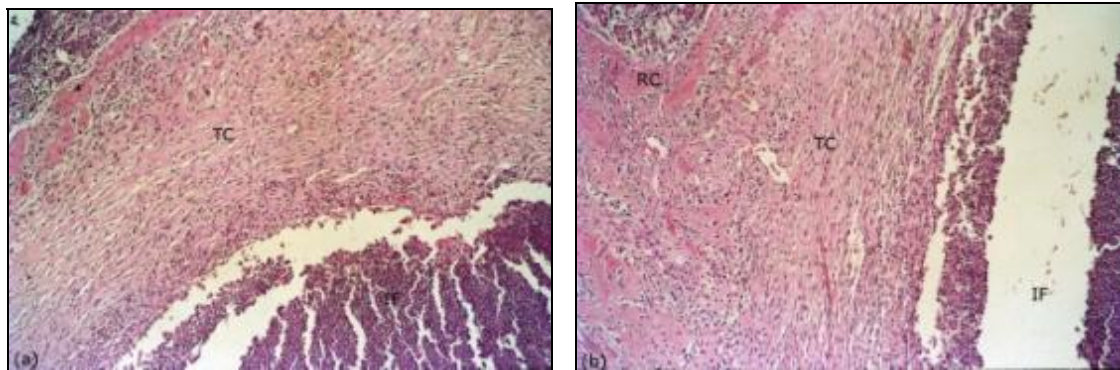


Figura 18 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo II, no período de 6 dias pós-exodontia. **a) região apical:** grande quantidade de infiltrado inflamatório (**IF**) entre cápsula de tecido conjuntivo fibroso (**TC**) e cortical óssea (*). **b) região média:** grande quantidade de infiltrado inflamatório (**IF**) entre tecido conjuntivo fibroso (**TC**) e área de reabsorção óssea da parede alveolar (**RO**). HE, 40x.

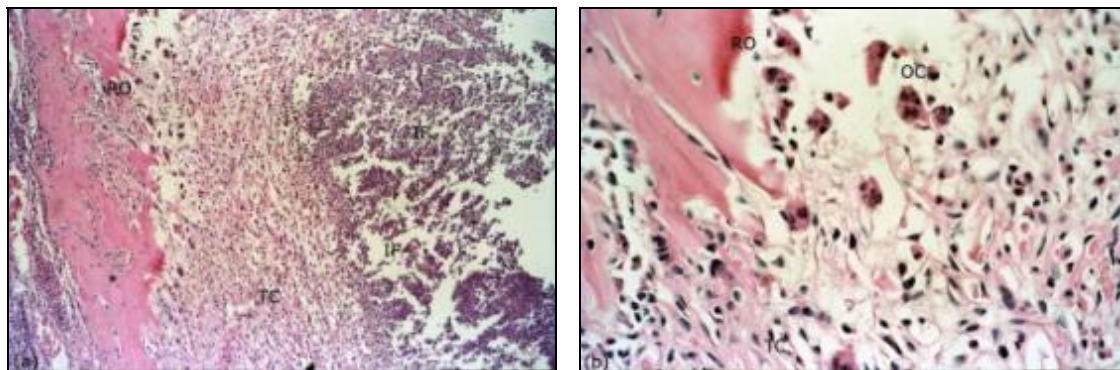


Figura 19 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo II, no período de 6 dias pós-exodontia. **a) região cervical:** área de remodelação óssea (**RO**), tecido conjuntivo entre a cortical óssea (*) e o infiltrado inflamatório (**IF**). **b) região cervical:** detalhe da reabsorção óssea da crista óssea (**RO**) e osteoclastos (**OC**). HE, 10x e 40x, respectivamente.

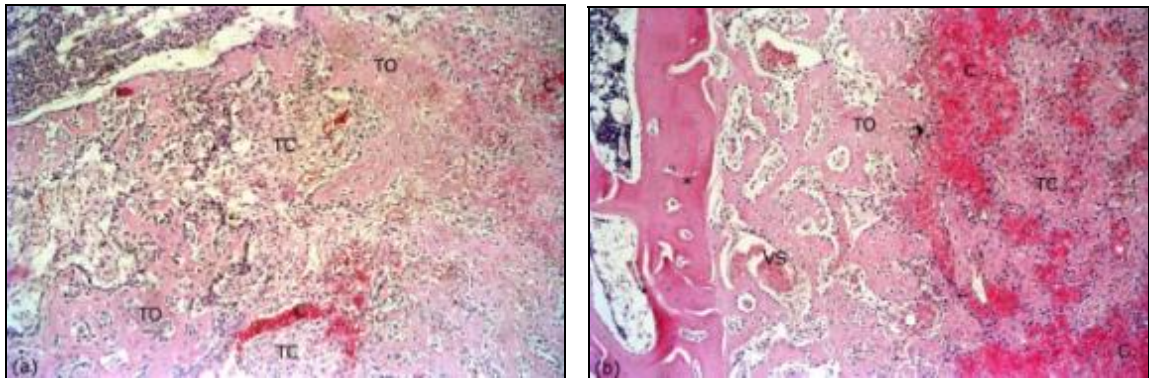


Figura 20 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo III, no período de 6 dias pós-exodontia. **a) região apical:** tecido ósseo neoformado (TO) entre o tecido conjuntivo fibroso (TC) e porções de coágulo sanguíneo (C). **b) região média:** tecido ósseo neoformado (TO) entre a cortical da parede alveolar (*) e o tecido conjuntivo fibroso (TC) com grande quantidade de coágulo sanguíneo (C). HE, 40x.

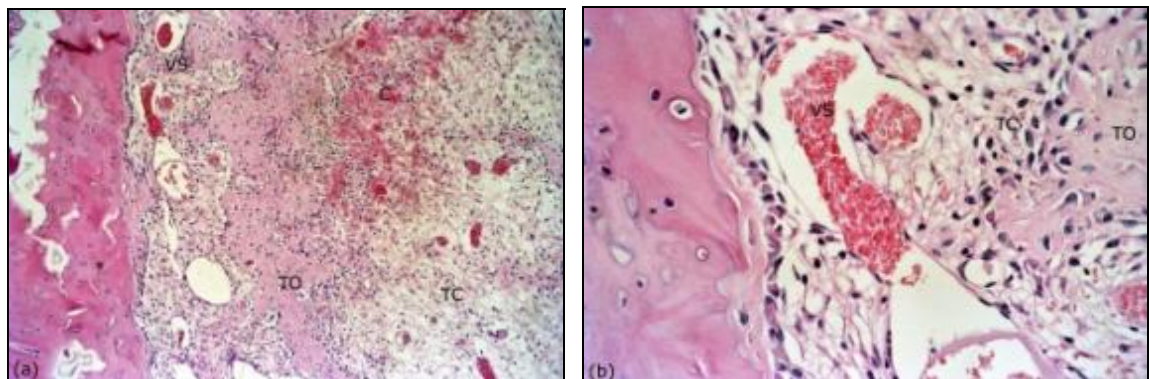


Figura 21 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo III, no período de 6 dias pós-exodontia. **a) região cervical:** vasos sanguíneos entre a neoformação óssea (TO) e a crista alveolar (*). O tecido conjuntivo em permeio às trabéculas ósseas e coágulo sanguíneo (C) é predominantemente frouxo. **b) região cervical:** Detalhe de um vaso sanguíneo (VS) próximo à cortical íntegra. HE, 10x e 40x, respectivamente.

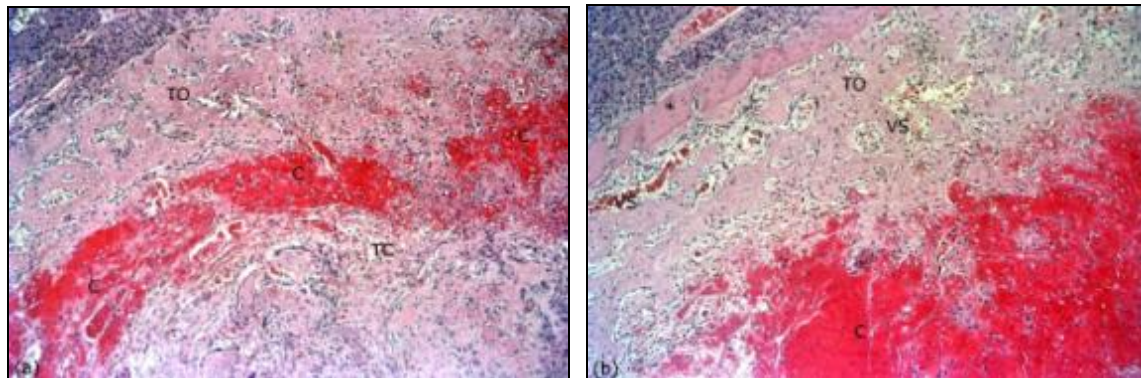


Figura 22 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo IV, no período de 6 dias pós-exodontia. **a) região apical:** tecido ósseo neoformado (**TO**) e porções de coágulo sanguíneo (**C**) separando-o do tecido conjuntivo fibroso (**TC**). **b) região apical:** tecido ósseo neoformado (**TO**) em permeio à vasos sanguíneos (**VS**) e grande área preenchida por coágulo sanguíneo (**C**). HE, 10x.

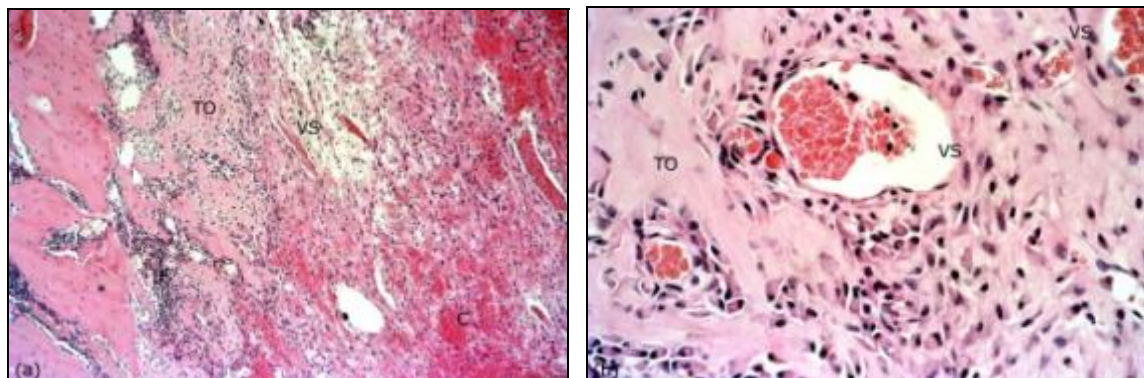


Figura 23 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo IV, no período de 6 dias pós-exodontia. **a) região média:** neoformação óssea (**TO**), tecido conjuntivo (**TC**) em permeio ao coágulo sanguíneo (**C**) e vasos sanguíneos. **b) região cervical:** Detalhe de vasos sanguíneos (**VS**) em permeio ao tecido ósseo imaturo (**TO**) e tecido conjuntivo (**TC**). HE, 10x e 40x, respectivamente.

5.1.2 Imagens dos alvéolos de cada grupo, aos 15 dias.

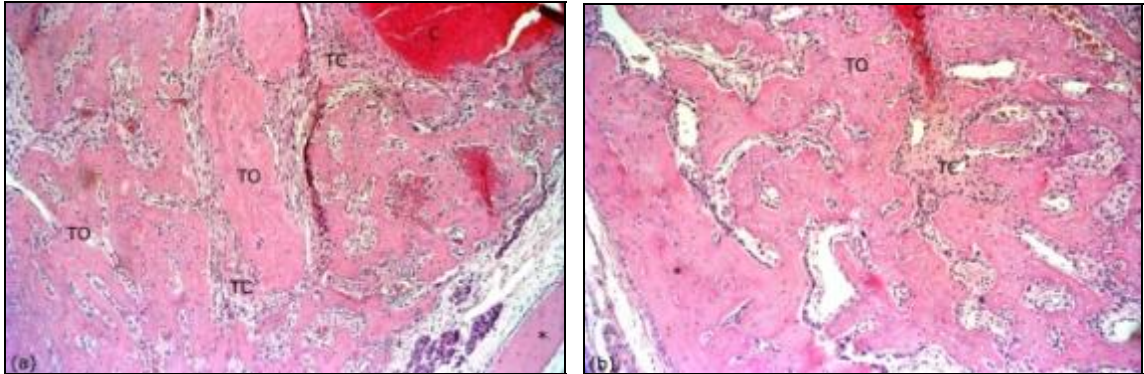


Figura 24 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo I, no período de 15 dias pós-exodontia. **a) região apical:** tecido ósseo neoformado (TO), em permeio ao tecido conjuntivo fibroso (TC) e área circunscrita de coágulo sanguíneo (C). **b) região média:** tecido ósseo neoformado (TO), entre a cortical íntegra (*) e ocupando a região mais central do alvéolo em permeio ao tecido conjuntivo fibroso (TC) HE, 10x.

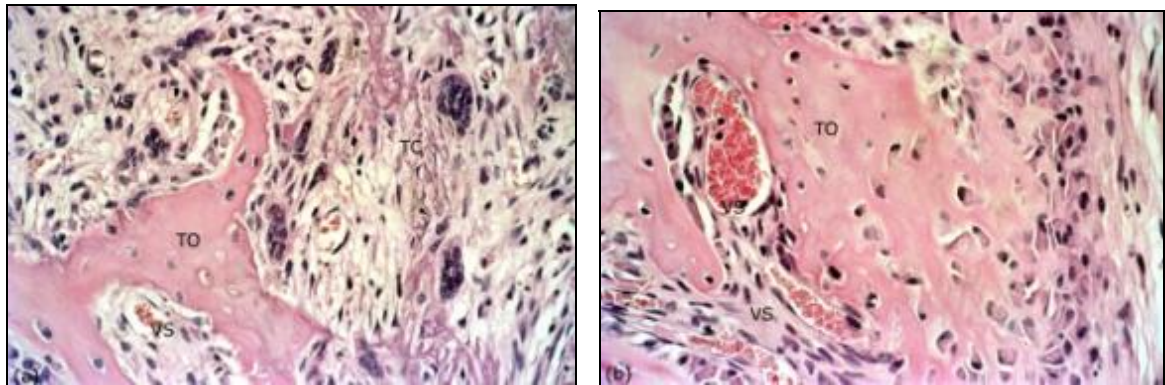


Figura 25 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo I, no período de 15 dias pós-exodontia. **a) região cervical:** vasos sanguíneos (VS) entre a remodelação óssea. Trábecula óssea neoformada (TO). **b) região cervical:** Detalhe de vasos sanguíneos (VS) próximos à área de neoformação óssea. HE, 40x.

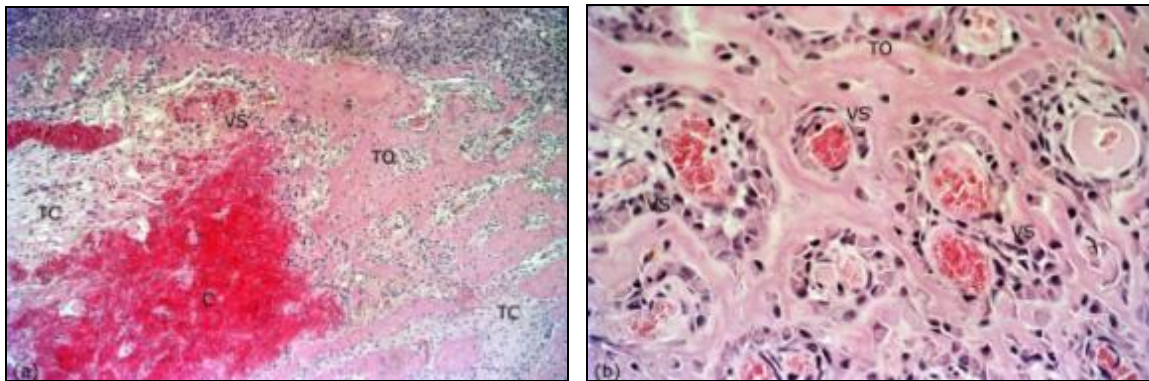


Figura 26 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo II, no período de 15 dias pós-exodontia. **a) região apical:** tecido ósseo neoformado (TO), em permeio ao tecido conjuntivo fibroso (TC), grande área de coágulo sanguíneo (C) e vasos sanguíneos (VS). **b) região apical:** detalhe dos vasos (VS) em permeio ao tecido ósseo imaturo (TO). HE, 10x e 40x, respectivamente.

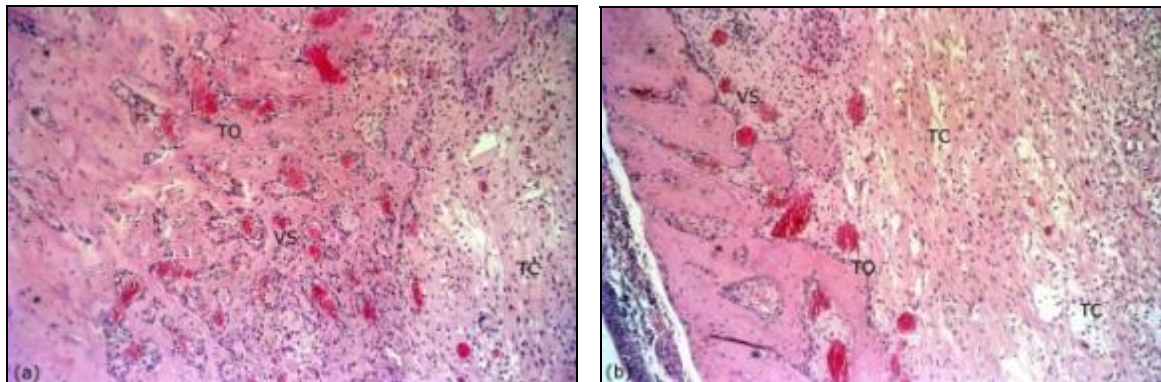


Figura 27 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo II, no período de 15 dias pós-exodontia. **a) região média:** próximo à parede alveolar está a neoformação óssea (TO) e muitos vasos sanguíneos (VS), mais para o centro do alvéolo predomina tecido conjuntivo (TC), ora fibroso, ora mais frouxo. **b) região cervical:** crista alveolar sendo remodelada (*), muitos vasos sanguíneos (VS) próximos às trabéculas neoformadas e predomínio de tecido conjuntivo (TC) na área central. HE, 10x.

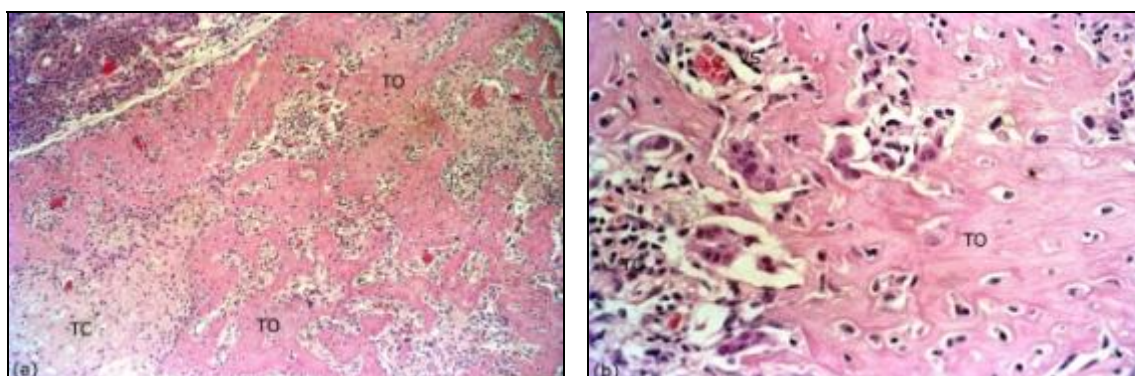


Figura 28 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo III, no período de 15 dias pós-exodontia. **a) região apical:** tecido ósseo neoformado (**TO**), em permeio ao tecido conjuntivo fibroso (**TC**). **b) região apical:** detalhe dos vasos (**VS**) em permeio ao tecido ósseo imaturo (**TO**). HE, 10x e 40x, respectivamente.

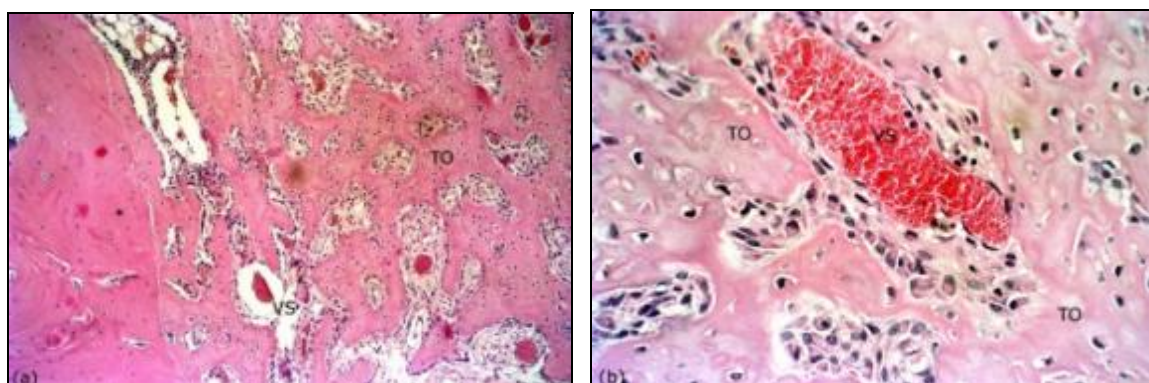


Figura 29 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo III, no período de 15 dias pós-exodontia. **a) região média:** próximo à parede alveolar (*) estão muitos vasos sanguíneos (**VS**) e mais para o centro do alvéolo a neoformação óssea (**TO**). **b) região cervical:** detalhe de um vaso sanguíneo (**VS**) entre o tecido ósseo imaturo (**TO**) na área central. HE, 10x e 40x, respectivamente.

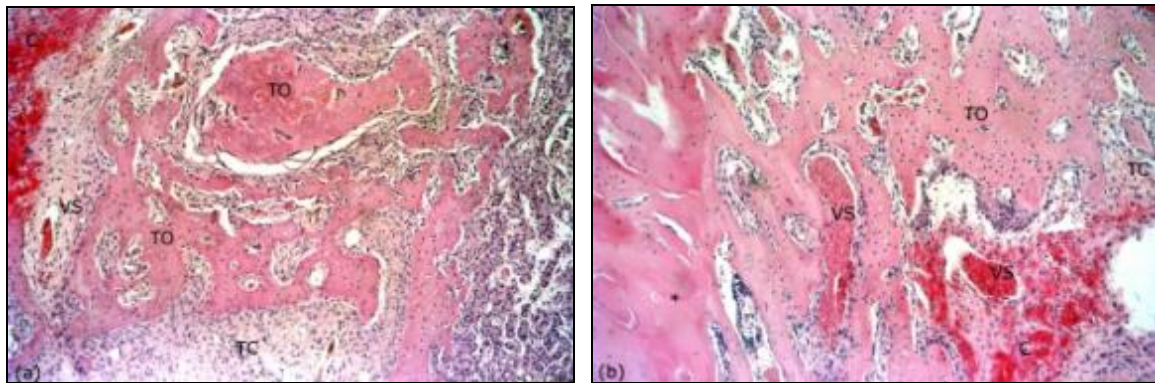


Figura 30 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo IV, no período de 15 dias pós-exodontia. **a) região apical:** tecido ósseo neoformado (TO), em permeio ao tecido conjuntivo fibroso (TC) e porções de coágulo sanguíneo (C). **b) região média:** detalhe dos vasos sanguíneos (VS) em permeio ao tecido ósseo neoformado na região central do alvéolo (TO). HE, 10x.

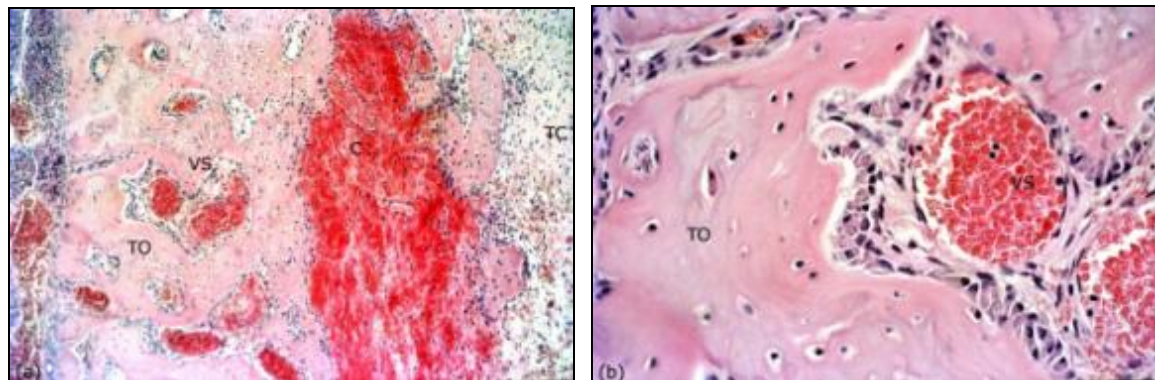


Figura 31 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo IV, no período de 15 dias pós-exodontia. **a) região cervical:** coágulo sanguíneo (C) entre o osso neoformado (TO) e tecido conjuntivo fibroso (TC). Presença de muitos vasos sanguíneos (VS) entre o tecido ósseo (TO). **b) região cervical:** detalhe de um vaso sanguíneo (VS) entre o tecido ósseo (TO). HE, 10x e 40x, respectivamente.

5.1.3 Imagens dos alvéolos de cada grupo, aos 28 dias.

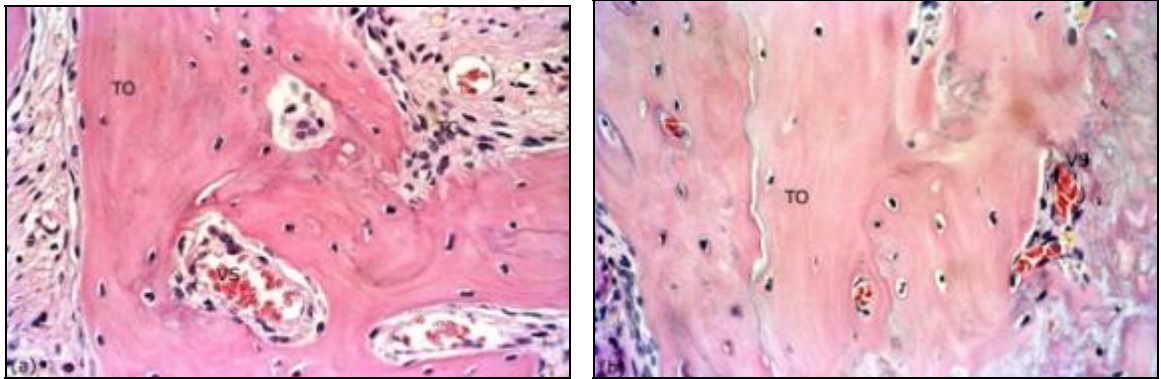


Figura 32 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo I, no período de 28 dias pós-exodontia. **a) região apical:** tecido ósseo (TO) entre tecido conjuntivo fibroso maduro (TC) e alguns vasos sanguíneos (VS). **b) região cervical:** tecido ósseo (TO) e alguns vasos sanguíneos (VS) entre o tecido ósseo imaturo (TO) na área central. HE, 40x.

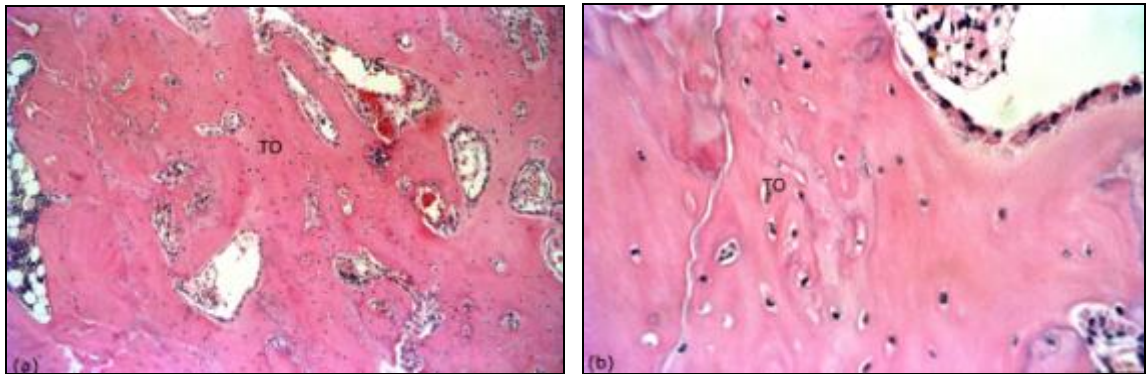


Figura 33 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo I, no período de 28 dias pós-exodontia. **a) região média:** preenchimento grande do alvéolo por tecido ósseo (TO) e alguns vasos sanguíneos (VS). **b) região média:** detalhe do tecido ósseo desta região (TO). HE, 10x e 40x, respectivamente.

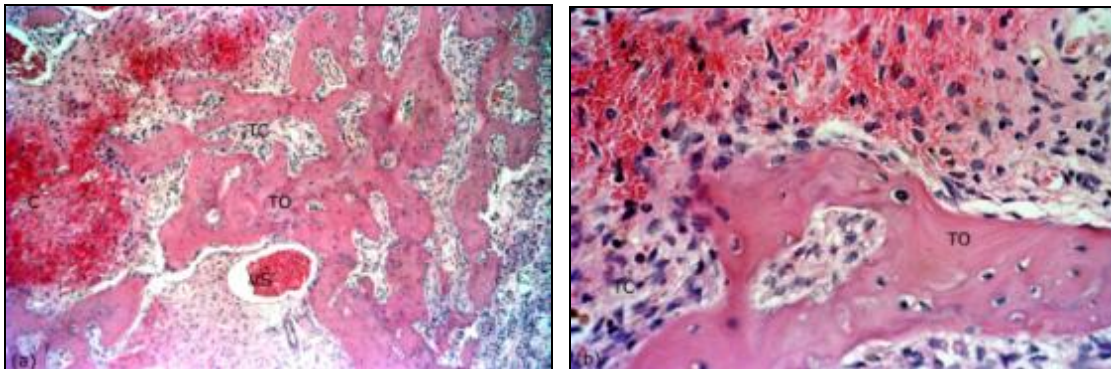


Figura 34 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo II, no período de 28 dias pós-exodontia. **a) região apical:** preenchimento desta região por tecido ósseo (TO) e bastante tecido conjuntivo ainda (TC), sendo frouxo em algumas áreas. Presença grande de coágulo sanguíneo (C). **b) região apical:** detalhe de uma trabécula óssea (TO), entre o tecido conjuntivo (TC) e o coágulo sanguíneo (C). HE, 10x e 40x, respectivamente.

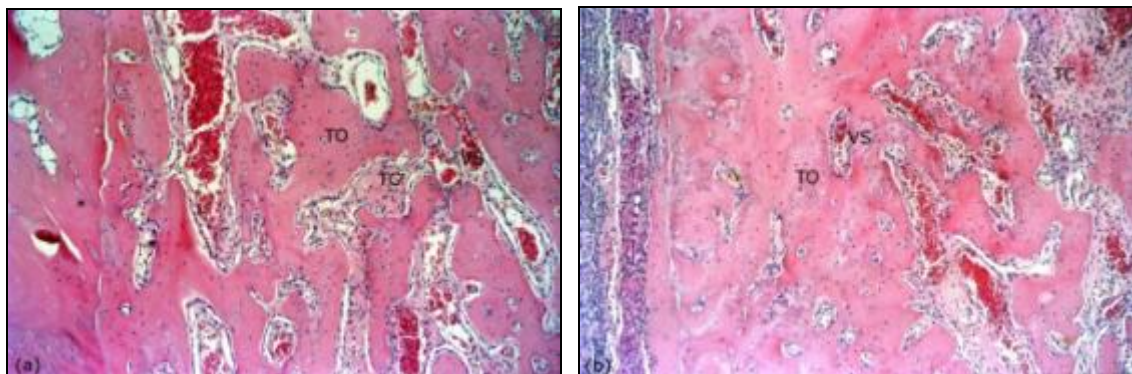


Figura 35 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo II, no período de 28 dias pós-exodontia. **a) região média:** tecido ósseo (TO) em permeio ao tecido conjuntivo (TC) e muitos vasos sanguíneos (VS). **b) região cervical:** tecido ósseo (TO) na periferia do alvéolo e mais para o centro, o tecido conjuntivo (TC). HE, 10x.

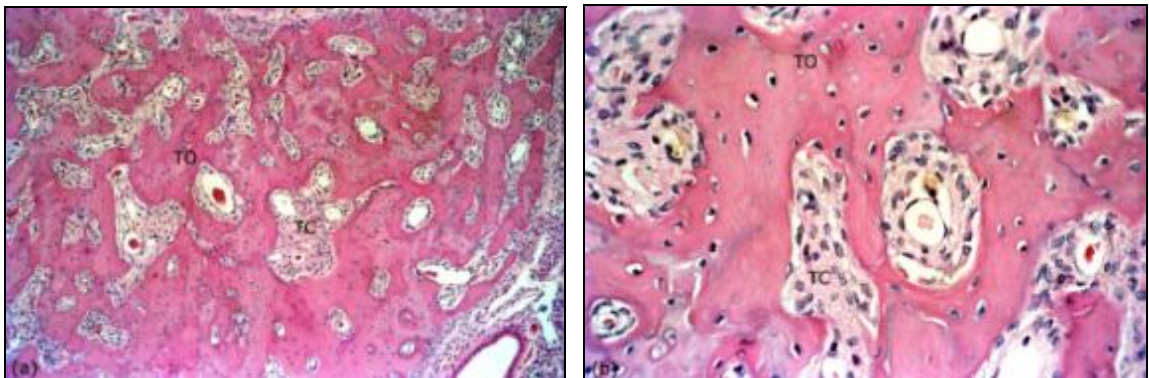


Figura 36 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo III, no período de 28 dias pós-exodontia. **a) região apical:** tecido ósseo (TO) em permeio ao tecido conjuntivo (TC). **b) região apical:** detalhe da região. HE, 10x e 40x, respectivamente.

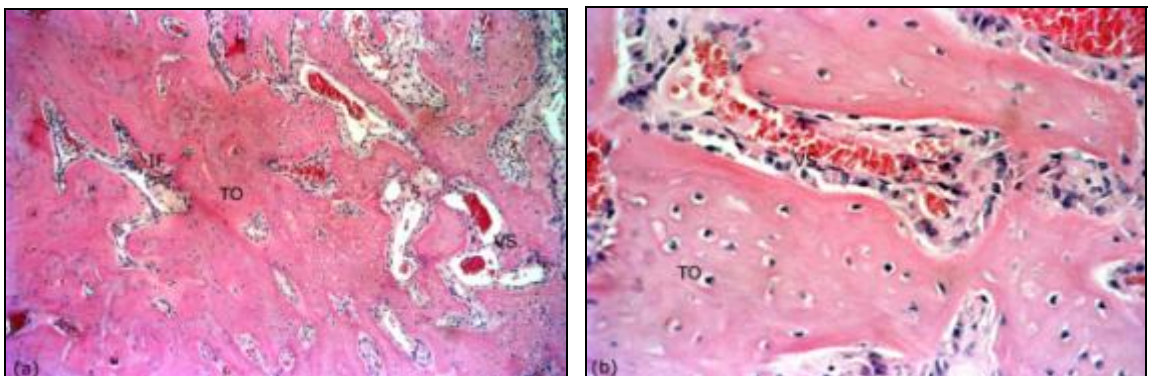


Figura 37 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo III, no período de 28 dias pós-exodontia. **a) região média:** bastante tecido ósseo (TO) em permeio a vasos sanguíneos (VS). Pequena área de infiltrado inflamatório (IF). **b) região cervical:** detalhe de um vaso sanguíneo (VS) entre o tecido ósseo (TO). HE, 10x e 40x, respectivamente.

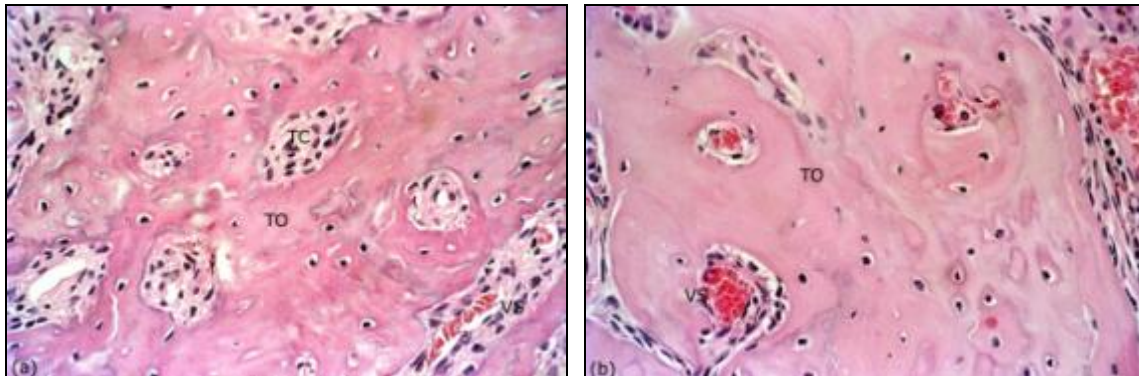


Figura 38 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo IV, no período de 28 dias pós-exodontia. **a) região apical:** predomínio de tecido ósseo (TO). **b) região média:** detalhe do tecido ósseo (TO) entre alguns vasos sanguíneos (VS). HE, 10x e 40x, respectivamente.

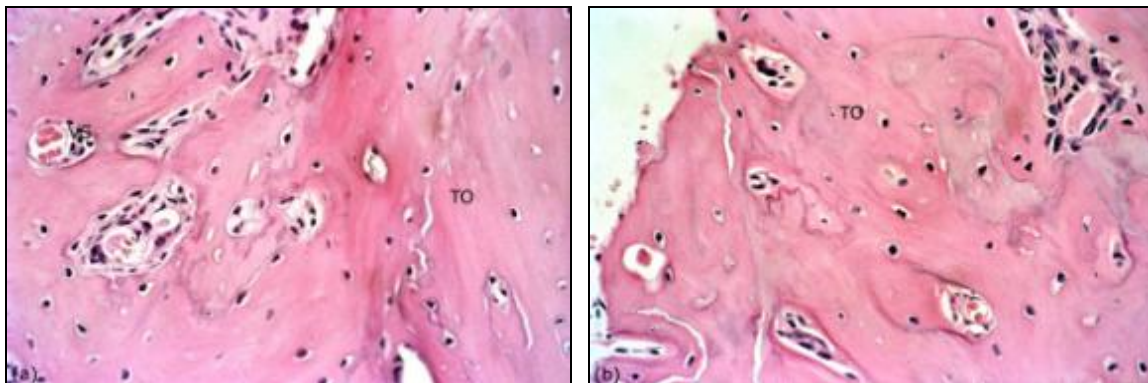


Figura 39 - Imagens de cortes microscópicos longitudinais do alvéolo de ratos do Grupo IV, no período de 28 dias pós-exodontia. **a) e b) região cervical:** predomínio de tecido ósseo (TO) e a presença de alguns vasos sanguíneos (VS). HE, 40x.

5.2 Análise Quantitativa

5.2.1 Amostra analisada microscopicamente

Os resultados provenientes da análise quantitativa foram computados a partir da média da densidade de cada estrutura tecidual encontrada nos cortes histológicos analisados por microscopia óptica (tecido ósseo, tecido conjuntivo, infiltrado inflamatório, coágulo sanguíneo e vasos sanguíneos), por animal. A densidade foi calculada dividindo-se o total de pontos computados por 45 (número de campos microscópicos contados por alvéolo). Estão apresentadas em tabelas a média, desvio padrão e mediana dos resultados encontrados por grupo e por período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente por comparações entre os grupos, por período e entre os períodos. Inicialmente, cada conjunto de dados foi submetido ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e ao teste de Igualdade de Variância. Nos casos em que a amostra apresentava distribuição normal, aplicou-se a Análise de Variância (ANOVA), a um critério (F), seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas entre os grupos ou períodos quando da constatação de diferença estatisticamente significativa. Por outro lado, quando a distribuição da amostra não apresentava normalidade, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (H), seguido do teste de Dunn para comparações múltiplas entre os grupos e períodos estudados quando da detecção de diferença estatisticamente significativa. Em todos os testes estatísticos foi adotado nível de significância de 5 % ($p < 0,05$).

5.2.1.1 Variável Tecido Ósseo

Tabela 2 - Média, desvio padrão e mediana da densidade óssea por grupo, em cada período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente entre os grupos, por período e entre os períodos, por grupo, empregando-se os testes de variância ANOVA (F) e Kruskal-Wallis (H).

Períodos		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	DIF. GRUPOS (por período)
6 DIAS	Média	7,94	1,94	3,68	4,78	H= 13,4
	DP	2,66	1,04	0,62	0,65	
	Mediana	8,11	1,66	3,59	5,00	p= 0,004*
15 DIAS	Média	22,12	7,14	18,44	19,38	F=10,99
	DP	5,60	3,59	4,31	0,75	
	Mediana	20,91	6,29	17,06	19,20	p <0,001*
28 DIAS	Média	53,30	29,30	40,20	45,90	H=11,27
	DP	7,59	2,99	6,88	1,46	
	Mediana	51,60	28,80	39,90	46,10	p= 0,010*
DIF. PERÍODOS (por grupo)		F= 67,26	F=110,52	H=9,85	F=1656,73	
		p <0,001*	p <0,001*	p <0,001*	p <0,001*	

* Diferença estatisticamente significativa

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos, no período de 6 dias, aplicou-se o teste de Dunn:

Tabela 3 - Diferenças entre grupos, pelo teste de Dunn, aos 6 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. POSTOS	Q	p<0,05
GRUPO I vs GRUPO II	11,750	3,490	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	8,000	2,376	Não Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	4,250	1,262	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO III	3,750	1,114	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	7,500	2,228	Não Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	3,750	1,114	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos, no período de 15 dias, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 4 - Diferenças entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 15 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
GRUPO I vs GRUPO II	14,980	7,520	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	3,680	1,847	4	Não Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	2,747	1,379	4	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO III	11,300	5,673	4	Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	12,233	6,141	4	Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	0,933	0,468	4	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos, no período de 28 dias, aplicou-se o teste de Dunn:

Tabela 5 - Diferenças entre grupos, pelo teste de Dunn, aos 28 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
GRUPO I vs GRUPO II	11,000	3,267	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	6,250	1,857	3	Não Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	3,750	1,114	2	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO III	4,750	1,411	2	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	7,250	2,154	3	Não Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	2,500	0,743	2	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo I, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 6 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo I.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	14,180	5,012	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	45,352	16,031	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	31,172	11,019	3	Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo II, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 7 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo II.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	5,207	3,766	3	Não Significante
6 dias vs. 28 dias	27,373	19,797	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	22,165	16,031	3	Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo III, aplicou-se o teste de Dunn:

Tabela 8 - Diferença entre períodos, pelo teste de Dunn, no Grupo III.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	4,000	1,569	2	Não Significante
6 dias vs. 28 dias	8,000	3,138	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	4,000	1,569	2	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo IV, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 9 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	14,593	28,529	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	41,070	80,293	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	26,477	51,764	3	Significante

5.2.1.2 Variável Tecido Conjuntivo

Tabela 10 - Média, desvio padrão e mediana da densidade de tecido conjuntivo, por grupo, em cada período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente entre os grupos, por período e entre os períodos, por grupo, empregando-se os testes de variância ANOVA (F).

Períodos		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	DIF. GRUPOS (por período)
6 DIAS	Média	43,6	36,5	41,7	46,5	F= 2,73
	DP	5,19	5,30	2,37	6,50	
	Mediana	44,80	35,6	42,1	44,9	p=0,0901
15 DIAS	Média	52,0	51,1	49,1	42,9	F= 1,60
	DP	2,32	10,24	6,49	3,84	
	Mediana	52,0	53,7	47,9	43,6	p=0,2404
28 DIAS	Média	28,8	30,8	38,4	31,5	F=2,35
	DP	6,98	2,63	7,36	2,97	
	Mediana	30,4	30,8	39,3	31,0	p=0,1242
DIF. PERÍODOS (por grupo)		F= 20,361 p= 0,001*	F= 9,433 p= 0,006*	F= 3,560 p= 0,073	F= 11,1 p< 0,004*	

*Diferença estatisticamente significativa

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo I, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 11 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo I.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	8,387	3,226	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	14,783	5,686	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	23,170	8,912	3	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo II, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 12 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo II.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	14,597	4,276	3	Significante

6 dias vs. 28 dias	5,743	1,682	3	Não Significante
15 dias vs. 28 dias	20,340	5,957	3	Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo IV, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 13 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	3,570	1,524	3	Não Significante
6 dias vs. 28 dias	14,942	6,379	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	11,372	4,855	3	Significante

5.2.1.3 Variável Infiltrado Inflamatório

Tabela 14- Média, desvio padrão e mediana da densidade de infiltrado inflamatório, por grupo, em cada período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente entre os grupos, por período e entre os períodos, por grupo, empregando-se os testes de variância de Kruskal-Wallis (H) ou ANOVA (F).

Períodos						DIF. GRUPOS (por período)
		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	
6 DIAS	Média	0,173	15,753	9,460	8,180	H= 9,066
	DP	0,113	10,940	10,764	4,988	
	Mediana	0,205	17,675	6,085	6,220	p=0,028*
15 DIAS	Média	0,0650	8,4650	4,8250	2,1625	H=14,201
	DP	0,130	3,056	0,522	0,513	
	Mediana	0,00	7,14	4,72	2,08	p=0,003*
28 DIAS	Média	0,128	4,338	0,898	1,075	H=13,257
	DP	0,0556	0,6162	0,2518	0,2965	
	Mediana	0,140	4,365	0,795	0,965	p=0,004*
DIF. PERÍODOS (por grupo)		F=1,066 p=0,384	H=4,308 p=0,114	H=4,192 p=0,131	H=9,846 p<0,001*	

*Diferença estatisticamente significativa

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos, no período de 6 dias, aplicou-se o teste de Dunn:

Tabela 15 - Diferença entre grupos, pelo teste de Dunn, aos 6 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
GRUPO I vs GRUPO II	9,500	2,822	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	7,250	2,154	3	Não Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	7,250	2,154	2	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO III	2,250	0,668	2	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	2,250	0,668	3	Não Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	0	0	2	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos no período de 15 dias, aplicou-se o teste de Dunn:

Tabela 16 - Diferença entre grupos, pelo teste de Dunn, aos 15 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
GRUPO I vs GRUPO II	12,000	3,575	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	8,000	2,383	3	Não Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	4,000	1,192	2	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO III	4,000	1,192	2	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	8,000	2,383	3	Não Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	4,000	1,192	2	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos no período de 28 dias, aplicou-se o teste de Dunn:

Tabela 17 - Diferença entre grupos, pelo teste de Dunn, aos 28 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
GRUPO I vs GRUPO II	12,000	3,565	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	4,750	1,411	2	Não Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	7,250	2,154	3	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO III	7,250	2,154	3	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	4,750	1,411	2	Não Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	2,500	0,743	2	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo IV, aplicou-se o teste de Dunn:

Tabela 18 - Diferença entre períodos, pelo teste de Dunn, no Grupo IV.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	Q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	4,000	1,569	2	Não Significante
6 dias vs. 28 dias	8,000	3,138	3	Não Significante
15 dias vs. 28 dias	4,000	1,569	2	Significante

5.2.1.4 Variável Coágulo Sanguíneo

Tabela 19 - Média, desvio padrão e mediana da densidade de coágulo, por grupo, em cada período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente entre os grupos, por período e entre os períodos, por grupo, empregando-se os testes de variância Kruskal-Wallis (H) ou ANOVA (F).

Períodos		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	DIF. GRUPOS (por período)
6 DIAS	Média	41,3	41,6	38,4	33,4	F=0,948
	DP	0,934	11,795	7,952	6,295	
	Mediana	41,4	39,9	39,8	34,0	p=0,4481
15 DIAS	Média	13,5	19,9	14,4	18,1	F=0,393
	DP	8,07	13,17	9,53	7,00	
	Mediana	10,1	14,3	14,5	19,0	p=0,7601
28 DIAS	Média	2,49	15,51	4,52	4,81	F=15,493
	DP	1,20	4,56	1,90	3,14	
	Mediana	2,33	15,01	4,50	5,13	p<0,001*
DIF. PERÍODOS (por grupo)		H=9,881 p<0,001*	F=7,032 p=0,014*	F=23,075 p<0,001*	F=24,970 p<0,001*	

* Diferença estatisticamente significativa

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos no período de 28 dias, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 20 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 28 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
GRUPO I vs GRUPO II	13,025	8,723	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	2,038	1,364	4	Não Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	2,323	1,555	4	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO III	10,988	7,358	4	Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	10,703	7,167	4	Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	0,285	0,191	4	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo I, aplicou-se o teste de Dunn:

Tabela 21 - Diferença entre períodos, pelo teste de Dunn, no Grupo I.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	4,000	1,572	2	Não Significante
6 dias vs. 28 dias	8,000	3,143	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	4,000	1,572	2	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo IV, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 22 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo II.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	21,723	4,122	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	26,098	4,952	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	4,375	0,830	3	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo V, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 23 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey no Grupo III.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	23,995	6,620	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	33,855	9,340	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	9,860	2,720	3	Não Significante

Tabela 24 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	Q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	15,273	5,331	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	28,610	9,986	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	13,338	4,656	3	Significante

5.2.1.5 Variável Vasos Sanguíneos

Tabela 25- Média, desvio padrão e mediana da densidade de espaços vazios por grupo, em cada período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente entre os grupos, por período e entre os períodos, por grupo, empregando-se os testes de variância Kruskal-Wallis (H) ou ANOVA (F).

Períodos		Grupo				DIF. GRUPOS (por período)
		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	
6 DIAS	Média	7,00	4,18	6,81	7,14	F=1,33
	DP	4,241	0,497	1,528	1,811	
	Mediana	5,57	4,39	6,57	7,54	p=0,3113
15 DIAS	Média	12,4	13,4	13,2	17,4	F=1,88
	DP	4,92	2,15	1,79	3,32	
	Mediana	11,4	14,2	13,0	16,1	p=0,1866
28 DIAS	Média	15,3	20,1	15,9	16,7	H=4,910
	DP	0,859	4,331	1,787	0,887	
	Mediana	15,3	19,9	15,3	16,6	p=0,179
DIF. PERÍODOS (por grupo)		H=6,038 p=0,037*	H=9,846 p<0,001*	F=30,200 p<0,001*	F=26,264 p<0,001*	

* Diferença estatisticamente significativa

Para análise das diferenças significantes entre os períodos no Grupo III, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 26 - Diferença entre períodos, pelo teste de Dunn, no Grupo I.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	3,500	1,373	2	Não Significante
6 dias vs. 28 dias	6,250	2,451	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	2,750	1,079	2	Não Significante

Tabela 27 - Diferença entre períodos, pelo teste de Dunn, no Grupo II.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	4,000	1,569	2	Significante
6 dias vs. 28 dias	8,000	3,138	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	4,000	1,569	2	Significante

Tabela 28 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo III.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	6,418	7,517	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	9,138	10,703	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	2,720	3,186	2	Não Significante

Tabela 29 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	10,270	9,165	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	9,588	8,556	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	0,682	0,609	3	Não Significante

5.2.2 Amostra analisada pelas reações de RealTimePCR

A expressão quantitativa de genes de fatores integrantes do reparo alveolar selecionados (osteocalcina, fosfatase alcalina, RUNX2, VEGF e TNF- α) foi analisada através de reações de RealTimePCR, utilizando-se o sistema SYBRGreen em um aparelho MiniOpticon (BioRad).

Os resultados foram analisados com base no valor de Ct (cicle threshold – ou ciclo limiar), sendo este o ponto correspondente ao número de ciclos em que a amplificação das amostras atinge um limiar (determinado entre o nível de fluorescência dos controles negativos e a fase de amplificação exponencial das amostras) que permite a análise quantitativa da expressão do fator avaliado. Todas as amostras também foram submetidas a reações para a detecção de RNA mensageiro para a beta-actina, um gene de expressão constitutiva, utilizado como controle positivo da reação de amplificação; assim como os níveis de expressão de beta-actina foram utilizados para a normalização dos níveis de expressão do gene alvo. Uma amostra negativa (água) foi submetida a reação com cada par das sequências dos primers utilizados. Os resultados apresentados representam os valores da média \pm DS, da intensidade

de expressão de mRNA para o gene alvo, normalizado pela expressão da beta-actina, obtidos de 3 animais de cada grupo.

Estão apresentadas em tabelas a média, desvio padrão e mediana dos resultados encontrados por grupo e por período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente por comparações entre os grupos, por período e entre os períodos. Inicialmente, cada conjunto de dados foi submetido ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e ao teste de Igualdade de Variância. Nos casos em que a amostra apresentava distribuição normal, aplicou-se a Análise de Variância (ANOVA) a um critério (F), seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas entre os grupos ou períodos quando da constatação de diferença estatisticamente significativa. Por outro lado, quando a distribuição da amostra não apresentava normalidade, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (H), seguido do teste de Dunn para comparações múltiplas entre os grupos e períodos estudados quando da detecção de diferença estatisticamente significativa. Em todos os testes estatísticos foi adotado nível de significância de 5 % ($p < 0,05$).

5.2.2.1 Variável Osteocalcina

Tabela 30 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de osteocalcina por grupo, em cada período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente entre os grupos, por período e entre os períodos, por grupo, empregando-se os testes de variância Kruskal-Wallis (H) ou ANOVA (F).

Períodos		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	DIF. GRUPOS (por período)
						F=2,256
6 DIAS	Média	4,32	2,40	3,06	1,71	
	DP	1,177	1,582	1,378	0,873	
	Mediana	4,13	1,96	2,77	1,25	p=0,159
15 DIAS	Média	13,37	5,63	6,50	7,00	F=6,941
	DP	2,53	2,22	2,56	1,94	
	Mediana	12,90	6,31	6,58	6,37	p=0,013*
28 DIAS	Média	7,73	7,71	8,90	5,21	F=0,723
	DP	0,786	4,531	3,241	2,900	
	Mediana	7,68	6,59	7,15	5,97	p=0,566
DIF. PERÍODOS (por grupo)		F=22,3 p=0,0017*	F=2,30 0,1810	F=4,10 p=0,0756	F=5,04 p=0,0520	

* Diferença estatisticamente significativa

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos no período de 15 dias, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 31 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 15 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
GRUPO I vs GRUPO II	7,733	5,757	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	6,863	5,110	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	6,363	4,737	4	Significante
GRUPO II vs GRUPO III	0,870	0,648	4	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	1,370	1,020	4	Não Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	0,500	0,372	4	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo I, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 32 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo I.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	9,047	9,355	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	3,410	3,526	3	Não Significante
15 dias vs. 28 dias	5,637	5,829	3	Significante

5.2.2.2 Variável Fosfatase Alcalina

Tabela 33 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de fosfatase alcalina por grupo, em cada período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente entre os grupos, por período e entre os períodos, por grupo, empregando-se os testes de variância Kruskal-Wallis (H) ou ANOVA (F).

Períodos		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	DIF. GRUPOS (por período)
6 DIAS	Média	7,23	3,52	8,00	14,48	F=3,062
	DP	2,07	1,79	3,65	7,78	
	Mediana	6,30	2,82	8,33	17,48	p=0,091
15 DIAS	Média	18,33	6,36	8,50	9,01	F=5,449
	DP	4,75	2,02	4,24	4,20	
	Mediana	17,21	6,29	7,12	9,51	p=0,025
28 DIAS	Média	12,42	8,67	13,02	10,45	F=0,598
	DP	2,39	2,08	5,66	6,05	
	Mediana	13,55	8,64	13,22	8,07	p=0,634
DIF. PERÍODOS (por grupo)		F=8,55 p=0,0175	F=5,140 p=0,050	F=1,09 p=0,3954	F=0,6300 p=0,5643	

* Diferença estatisticamente significativa

5.2.2.3 Variável Colágeno Tipo I

Tabela 34 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de colágeno tipo I por grupo, em cada período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente entre os grupos, por período e entre os períodos, por grupo, empregando-se os testes de variância Kruskal-Wallis (H) ou ANOVA (F).

Períodos		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	DIF. GRUPOS (por período)
6 DIAS	Média	4,65	2,64	4,93	9,86	F=2,369
	DP	3,43	2,10	3,64	4,28	
	Mediana	2,91	1,58	3,99	10,91	p=0,146
15 DIAS	Média	5,65	3,12	4,79	3,74	F=0,564
	DP	2,98	1,86	3,04	2,25	
	Mediana	5,39	3,78	3,93	2,51	p=0,654
28 DIAS	Média	3,62	4,07	4,41	5,87	F=0,420
	DP	1,000	3,309	2,624	2,867	
	Mediana	3,90	2,70	3,74	4,82	p=0,744
DIF. PERÍODOS (por grupo)		F=0,4280 p=0,6791	F=0,2510 p=0,7860	F=0,0224 p=0,9780	F=2,75 p=0,1419	

* Diferença estatisticamente significativa

5.2.2.4 Variável RUNX2

Tabela 35 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de RUNX2 por grupo, em cada período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente entre os grupos, por período e entre os períodos, por grupo, empregando-se os testes de variância Kruskal-Wallis (H) ou ANOVA (F).

Períodos		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	DIF. GRUPOS (por período)
6 DIAS	Média	4,77	1,52	3,24	3,62	F=3,445
	DP	1,02	1,21	1,19	1,55	
	Mediana	5,03	1,14	3,08	3,84	p=0,072
15 DIAS	Média	12,67	3,15	7,02	9,05	F=9,674
	DP	3,01	2,24	1,50	1,82	
	Mediana	13,26	3,41	6,37	8,18	p=0,005*
28 DIAS	Média	9,12	5,85	9,44	8,65	F=2,042
	DP	2,16	2,73	1,59	1,12	
	Mediana	8,32	6,16	9,47	8,47	p=0,187
DIF. PERÍODOS (por grupo)		F=9,540 p=0,014*	F=3,09 p=0,1196	F=14,158 p=0,005*	F=11,9 p=0,0082*	

* Diferença estatisticamente significativa

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos no período de 15 dias, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 36 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 15 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
GRUPO I vs GRUPO II	9,523	7,449	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	5,650	4,420	4	Não Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	3,617	2,829	4	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO III	3,873	3,030	4	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	5,907	4,620	4	Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	2,033	1,591	4	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo I, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 37- Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo I.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	7.897	6.167	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	4.350	3.397	3	Não Significante
15 dias vs. 28 dias	3.547	2.770	3	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo III, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 38 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo III.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	3,777	4,550	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	6,197	7,466	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	2,420	2,916	3	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo IV, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 39 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	5,433	6,184	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	5,033	5,728	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	0,400	0,455	3	Não Significante

5.2.2.5 Variável VEGF

Tabela 40 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de VEGF por grupo, em cada período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente entre os grupos, por período e entre os períodos, por grupo, empregando-se os testes de variância Kruskal-Wallis (H) ou ANOVA (F).

Períodos		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	DIF. GRUPOS (por período)
6 DIAS	Média	3,13	1,29	2,79	2,36	F=1,054
	DP	1,756	0,505	1,532	1,266	
	Mediana	2,45	1,17	3,44	2,13	p=0,420
15 DIAS	Média	1,77	1,95	2,08	2,08	F=0,0720
	DP	0,996	0,626	1,015	1,105	
	Mediana	1,22	1,81	1,67	2,11	p=0,973
28 DIAS	Média	3,18	2,27	3,00	2,65	F=0,460
	DP	0,496	1,287	0,526	1,425	
	Mediana	3,21	1,65	3,27	2,84	p=0,718
DIF. PERÍODOS (por grupo)		F=1,33 p=0,3325	F=0,981 p=0,4280	F=0,565 p=0,5960	F=0,151 p=0,8633	

* Diferença estatisticamente significante

5.2.2.6 Variável TNF- α

Tabela 41 - Média, desvio padrão e mediana da expressão de TNF- α por grupo, em cada período estudado. Os dados foram analisados estatisticamente entre os grupos, por período e entre os períodos, por grupo, empregando-se os testes de variância Kruskal-Wallis (H) ou ANOVA (F).

Períodos		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	DIF. GRUPOS (por período)
6 DIAS	Média	4,88	10,40	5,11	5,00	F=18,101
	DP	1,481	0,747	1,083	0,955	
	Mediana	5,26	10,24	4,74	5,19	P<0,001*
15 DIAS	Média	2,22	7,04	3,54	3,70	F=7,817
	DP	1,014	2,239	0,624	0,212	
	Mediana	2,38	6,34	3,62	3,60	p=0,009*
28 DIAS	Média	0,150	3,550	1,410	1,427	F=16,785
	DP	0,0656	0,7637	0,5453	0,7328	
	Mediana	0,140	3,860	1,240	1,500	P<0,001*
DIF. PERÍODOS (por grupo)		F=15,7 p=0,0041*	F=17,1 p=0,0033*	F=16,7 p=0,0035*	F=19,7 p=0,0023*	

* Diferença estatisticamente significativa

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos no período de 6 dias, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 42 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 6 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
GRUPO I vs GRUPO II	5,513	8,683	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	0,227	0,357	4	Não Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	0,113	0,178	4	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO III	5,287	8,326	4	Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	5,400	8,504	4	Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	0,113	0,178	4	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos no período de 15 dias, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 43 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 15 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
GRUPO I vs GRUPO II	4,820	6,560	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	1,317	1,792	4	Não Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	1,473	2,005	4	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO III	3,503	4,768	4	Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	3,347	4,555	4	Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	0,157	0,213	4	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os grupos no período de 28 dias, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 44 - Diferença entre grupos, pelo teste de Tukey, aos 28 dias.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	P	p<0,050
GRUPO I vs GRUPO II	3,400	9,77	4	Significante
GRUPO I vs GRUPO III	1,260	3,660	4	Não Significante
GRUPO I vs GRUPO IV	1,277	3,709	4	Não Significante
GRUPO II vs GRUPO III	2,140	6,217	4	Significante
GRUPO II vs GRUPO IV	2,123	6,169	4	Significante
GRUPO III vs GRUPO IV	0,0167	0,0484	4	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo I, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 45 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo I.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	2,660	4,442	3	Significante
6 dias vs. 28 dias	4,733	7,905	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	2,073	3,462	3	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo II, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 46 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo II

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	3,353	4,054	3	Não Significante
6 dias vs. 28 dias	6,847	8,278	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	3,493	4,224	3	Não Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo III, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 47 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo III.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	1,570	3,453	3	Não Significante
6 dias vs. 28 dias	3,700	8,138	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	2,130	4,685	3	Significante

Para individualizar as diferenças significantes entre os períodos no Grupo IV, aplicou-se o teste de Tukey:

Tabela 48 - Diferença entre períodos, pelo teste de Tukey, no Grupo IV.

COMPARAÇÃO	DIF. MÉDIAS	q	p	p<0,050
6 dias vs. 15 dias	1,300	3,191	3	Não Significante
6 dias vs. 28 dias	3,570	8,763	3	Significante
15 dias vs. 28 dias	2,270	5,572	3	Significante

5.3 Resultados da correlação entre variáveis analisadas microscopicamente e molecularmente

Foram investigadas, pelo teste de regressão linear, algumas correlações entre as variáveis analisadas microscopicamente e as variáveis analisadas molecularmente. A seleção das correlações entre as variáveis foi baseada no conhecimento de cada uma e maior interesse em comparar o comportamento de variáveis que atuam numa mesma fase do reparo. Os testes foram aplicados através dos programas GraphPad InStat 3.05 e GraphPad Prisma 3.0 (GraphPad Software).

As seguintes correlações foram feitas:

- **Tecido ósseo x osteocalcina, fosfatase alcalina, colágeno tipo I, RUNX2, TNF- α**
- **Tecido conjuntivo x colágeno tipo I**
- **Vasos sanguíneos x VEGF**
- **Coágulo sanguíneo x VEGF**
- **Coágulo x TNF- α**
- **Infiltrado inflamatório x TNF- α**

Foram feitos gráficos das correlações indicando o valor de p e r^2 (Figura 40).

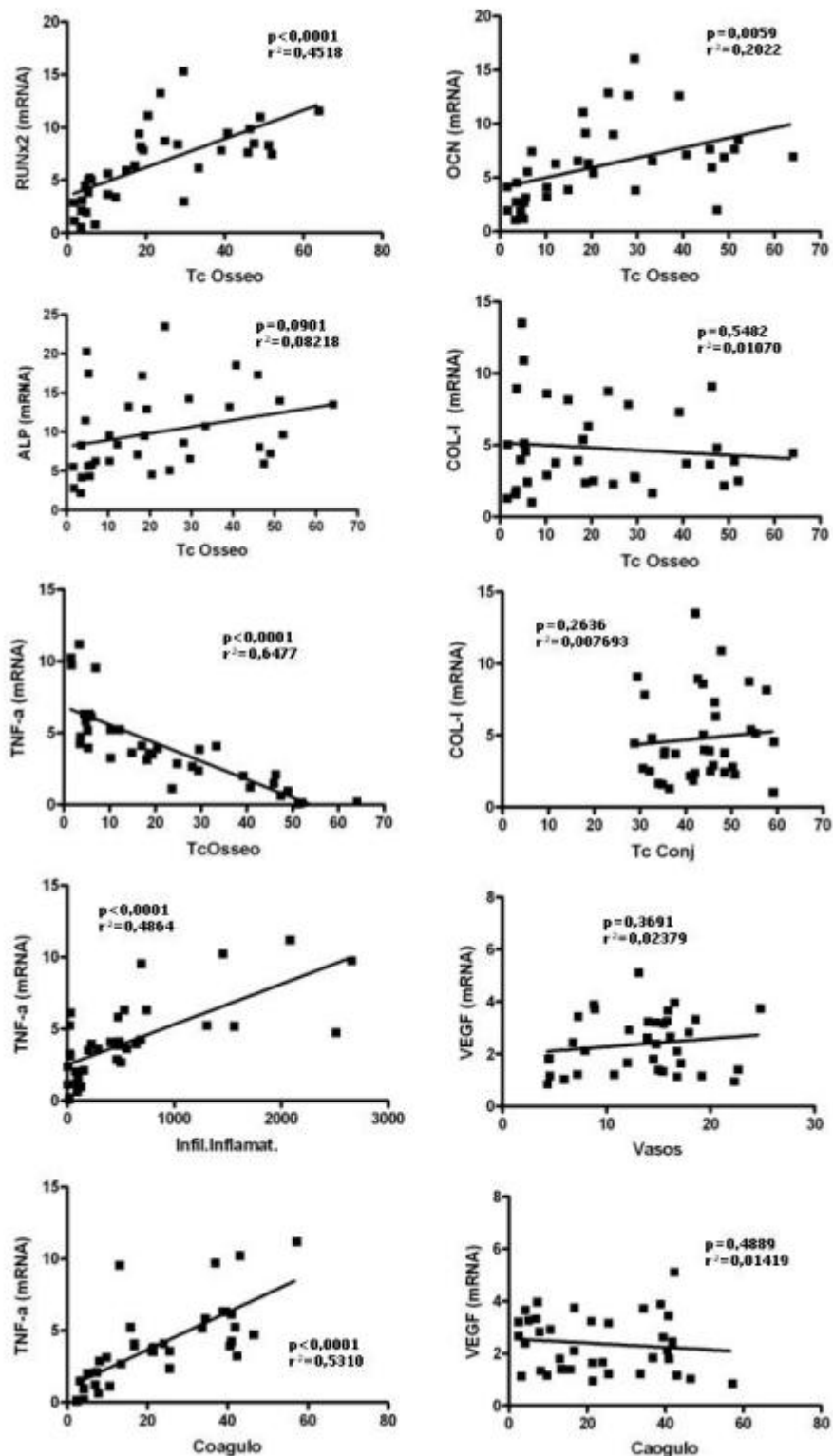


Figura 40 - Representação gráfica da correlação entre as variáveis selecionadas, realizada pelo teste de regressão linear. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.



Discussão

6 DISCUSSÃO

6.1 A importância do tema

A alveolite é uma complicação que ainda tem uma importante incidência após exodontias. Na maioria dos trabalhos, ela é de 5 a 30% acometendo molares inferiores não irrompidos e de 1 a 4% os demais dentes (BUTLER; SWEET, 1977; TURNER, 1982; TRIEGER; SCHLAGEL, 1991; AL-KHATEEB, 1991; BLUM, 2002; NOROOZI; PHILBERT, 2009). Causa momentos desagradáveis ao paciente, devido à presença de dor e odor fétido, não existindo nenhuma etiologia definida de causa e efeito, apenas possíveis fatores de risco. Portanto a prevenção diante dessa complicação deve ser incorporada à rotina da prática de exodontias.

Trabalhos recentes discutem os fatores relacionados com sua etiologia para que se estabeleçam métodos de prevenção (CARDOSO et al., 2008; NOROOZI; PHILBERT, 2009). Alguns autores consideram como fator etiológico um transoperatório complicado e prolongado (BLUM, 2002; NOROOZI; PHILBERT, 2009). Outros consideram a técnica cirúrgica e a experiência do operador como fatores determinantes (TURNER, 1982). Embora a maioria dos autores acredite que exista correlação entre trauma cirúrgico e alveolite (BIRN, 1973; BUTLER; SWEET, 1977; MACGREGOR, 1978; HEASMAN, 1984; COLBY, 1997; VEZEAU, 2000) alguns discordam (MEYER, 1971; GOLDMAN et al., 1973).

Também se acredita na influência da idade e do gênero (AWANG, 1989; LARSEN, 1991). SWEET e BUTLER (1978) descreveram uma incidência da alveolite de 4,1% nas mulheres e 0,5% nos homens. LILLY et al. (1974), GARCIA et al. (2003) encontraram uma relação com o uso de contraceptivos orais, além disso, tem sido descrito que o estrógeno pode elevar a atividade fibrinolítica, afetando a estabilidade do alvéolo após a exodontia (IGGE et al., 1969)

No estudo de BOER et al. (1995), entretanto, não houve diferenças significantes em relação ao gênero num total de 1.797 pacientes. Já a idade foi um fator relevante, pois a incidência de complicações aumenta em pacientes mais velhos.

Pacientes fumantes tem uma incidência maior de alveolite comparado aos não fumantes (MEECHAN et al., 1988). Sabe-se que, na presença das substâncias tóxicas do cigarro, ocorre um comprometimento da defesa local, afetando a quimiotaxia e fagocitose celular. Além disso, a nicotina presente age como um vasoconstrictor. SWEET e BUTLER

(1979) encontraram uma incidência de 6,4% e 1,4% em pacientes fumantes e não fumantes, respectivamente, em 400 exodontias.

O não-cumprimento dos princípios de biossegurança durante uma exodontia também contribui para aumentar o risco de alveolite. A irrigação adequada antes da síntese reduz a chance de contaminação (HOUSTON, 2002). O uso excessivo de anestésicos locais com vasoconstrictores causa redução no sangramento e pode reduzir a tensão de oxigênio necessária para o reparo (MEECHAN, 1987).

Assim, a melhor forma de prevenir a alveolite é seguir os princípios básicos de cirurgia, além de controlar fatores sistêmicos que possam interferir no pós-operatório, como o uso de corticóides e contraceptivos orais.

Além da prevenção, saber conduzir essa complicação é de fundamental importância, pois um quadro clínico infeccioso mais severo, supurativo, ou com manifestações sistêmicas como a febre, pode evoluir para quadros de abscesso (CARDOSO et al., 2008) e osteomielite, e quando invadem os espaços fasciais primários e secundários podem levar pacientes imunocomprometidos a óbito ou deixar sequelas como as parestesias. A literatura descreve um caso raro de parestesia do nervo facial como consequência de infecção odontogênica, particularmente associada a um terceiro molar não irrompido (BOBBITT, 2000). Ainda, em se tratando de sequelas, MOSES, LANGE e ARREDONDO (1998) descreveram um caso atípico de artrite séptica da articulação têmporo-mandibular, seguida da exodontia do terceiro molar. Outros autores relataram cinco casos de abscessos crônicos submassetéricos, que foram diagnosticados através de Tomografias Computadorizadas, sendo dois deles após exodontia do terceiro molar (JONES et al., 2003). Daí a importância deste estudo em também determinar um método eficaz de tratamento.

6.2 Metodologia

Em relação ao animal, o rato (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) foi o animal escolhido em razão da facilidade de obtenção e de controle pós-operatório e da relativa facilidade de execução da técnica cirúrgica descrita por OKAMOTO e RUSSO (1973). Além de suportarem bem o procedimento experimental, não houve perda de animais, mesmo em avaliações por longos períodos. A cronologia de reparação alveolar no rato, conforme os achados de HUEBSCH (1958), é compatível com a metade do tempo de reparação em

humanos. No presente estudo, as análises foram feitas a curto (6 dias), médio (15 dias) e longo prazo, ou fase final de reparo (28 dias), assim como POI (1998). Ainda sobre a análise dos tempos pós-operatórios, procurou-se criar uma condição bastante semelhante àquela encontrada na rotina clínica. A ocorrência real da alveolite acontece cerca de 3 dias após a exodontia. Dessa forma, para a análise da reparação nos grupos tratados, é necessário que seja computada a perturbação alveolar ocorrida como sendo parte integrante da cronologia de reparação, sendo que os grupos tratados, aos 6 dias, terão 3 dias de terapia instituída. Conhecendo a cronologia de reparo alveolar e tendo meios para simular situações presentes em humanos, que levam à perturbação na cronologia normal de reparo, como é o caso da alveolite, pode-se consolidar um modelo experimental. ROZANIS, SCHOFIELD e KOGON (1976) utilizaram ratos cujos alvéolos foram inoculados, imediatamente após a exodontia, com uma suspensão de *Actinomyces viscosus* e *Streptococcus mutans*, depositada com o auxílio de um cateter plástico. ZHANG et al. (1983), em alvéolos de cães, aplicaram no alvéolo algodão embebido com *Streptococcus* e *Staphylococcus*, associado à sutura da margem gengival. Após 3 dias, houve a produção de um quadro compatível com alveolite similar ao encontrado em humanos, segundo os autores.

No presente estudo, foi utilizada a metodologia descrita por D'ANTONIO (1984), respaldada por vários trabalhos conduzidos na sequência, com comprovação da capacidade efetiva de induzir a infecção alveolar na totalidade dos casos (CARVALHO, 1989; CARVALHO; ARAÚJO; POI, 1990; MARIANO, 1991; CARVALHO; POI; GARCIA JÚNIOR, 1992; MEIRA, 1993; MARIANO, 1995; POI, 1998).

A análise coproparasitológica foi julgada de fundamental importância neste tipo de estudo, pois a presença de parasitas patogênicos nos animais pode modificar a resposta imune e inflamatória do hospedeiro, podendo interferir diretamente nos resultados.

RODRIGUES (2007), ao instituir essa metodologia para justificar o uso de certas drogas de espectro restrito, como é o caso do metronidazol, julgou necessária a identificação dos micro-organismos presentes no material de inoculação. O método de hibridização tipo Checkerboard DNA-DNA permite a identificação, a partir do DNA bacteriano, de micro-organismos presentes numa amostra (SOCRANSKY et al., 1994). Sondas de DNA, oriundas de trinta e nove cepas de espécies conhecidas de micro-organismos periodontopatógenos foram utilizadas para a identificação dos micro-organismos inoculados neste estudo. A grade de periodontopatógenos contém o maior número de anaeróbios presentes na boca, por isso a escolha desse método de identificação. A Tabela 49 apresenta as espécies que podem ser identificadas por esse método e os respectivos códigos ATCC (American Type Culture

Collection) das cepas, exceto para *T. denticola* e *T. socranskii*, obtidas de isolados clínicos provenientes do Forsyth Institute (CARVALHO et al., 2005).

NITZAN, SPERRY e WILKINS (1978) mostraram uma possível relação entre micro-organismos anaeróbios (predominantes na pericoronarite) com a etiologia da alveolite. Esses autores também observaram uma alta atividade fibrinolítica nas culturas do anaeróbio *Treponema denticola*, que também é encontrado na doença periodontal, não detectado em nosso material de inoculação. D'ANTONIO (1984) isolou micro-organismos gram negativos anaeróbios estritos, como o *Bacterioides fragilis*, presentes em 100% dos alvéolos infectados de ratos. Vale ressaltar que esse micro-organismo não pôde ser detectado no presente estudo, pois não fez parte do rol de bactérias identificáveis pelo Checkerboard. Esse autor ainda destacou que bactérias anaeróbias periodontopatogênicas são micro-organismos potencialmente desencadantes da alveolite. MITCHELL (1986) identificou algumas bactérias periodontopatógenas produtoras de enzimas com atividade fibrinolítica como *Porphyromonas gingivalis*, e *Fusobacterium nucleatum*, esta última presente em nossa suspensão de inoculação. MELO JÚNIOR et al. (2002), ao utilizarem em seu estudo o modelo experimental de alvéolos infectados de ratos, detectaram: *Enterococos*, *Streptococcus viridans* entre outros *Streptococcus*, *Bacillus corineforme*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* e *E. coli* proveniente do material biológico intra-alveolar.

Os micro-organismos presentes no material de inoculação utilizado neste trabalho, detectados, foram: *C. ochracea*, *F. nucleatum ss nucleatum*, *P. melaninogenica*, *S. anginosus*, *T. socranskii* e *S. sanguis*. A *Capnocytophaga ochracea*, bactéria anaeróbia facultativa periodontopatógena é produtora de radicais que aumentam significativamente o dano tecidual local e ainda inibem a fagocitose e locomoção de polimorfonucleares neutrófilos, portanto, apresentando fatores de virulência indiretos (THOMPSON; WILTON, 1991). *Fusobacterium nucleatum ss. nucleatum*, bacilo gram negativo anaeróbio não esporulante está diretamente ligado à doença periodontal e gengivite. Está entre as espécies amoxicilina-resistentes, mas apresenta alta sensibilidade ao metronidazol (FERES et al., 2002). Cepas de *Fusobacterium nucleatum* foram sensíveis ao sistema composto por “Horseradish” peroxidase, iodeto de potássio e peróxido de hidrogênio. Houve redução de quase 45% do número de bactérias após 1 hora de incubação a 37°C. Neste estudo, o *Fusobacterium nucleatum* foi sensível a uma concentração de 2,5 mM de peróxido de hidrogênio. É evidente que o uso de uma solução a 3% de peróxido de hidrogênio (880 mM) está muito acima da concentração bactericida. NICHOLSON et al. (1998) verificaram dano substancial à osteoblastos, *in vitro*, incubados na presença de peróxido de hidrogênio à 30 mM (0,1%). RAMP et al. (1987, também

encontraram alterações metabólicas em osteoblastos em concentrações ainda menores. Esses achados sugerem que o uso clínico de peróxido de hidrogênio a 1,5 e 3% está enormemente acima de sua atividade antisséptica e em concentrações danosas aos tecidos.

Tabela 49- Micro-organismos identificáveis pelo método Checkerboard DNA-DNA (SOCRANSKY et al., 1994)

Micro-organismo	ATCC	Micro-organismo	ATCC
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	23860	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss. <i>polymorphum</i>	10953
<i>Actinomyces israelii</i>	12102	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss. <i>vincentii</i>	49256
<i>Actinomyces naeslundii</i> g1	12104	<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693
<i>Actinomyces naeslundii</i> g2	43146	<i>Peptostreptococcus micros</i>	33270
<i>Streptococcus gordonii</i>	10558	<i>Prevotella intermedia</i>	25611
<i>Streptococcus intermedius</i>	27335	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563
<i>Streptococcus mitis</i>	49456	<i>Streptococcus constellatus</i>	27823
<i>Streptococcus oralis</i>	35037	<i>Tannerella Forsythensis</i>	43037
<i>Streptococcus sanguis</i>	10556	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277
<i>Actinomyces actinomycetemcomitans</i>	43718 29523	<i>Treponema denticola</i>	B1
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624	<i>Gemella morbillorum</i>	27824
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596	<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612	<i>Neisseria mucosa</i>	19696
<i>Eikenella corrodens</i>	23834	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845
<i>Campylobacter gracilis</i>	33236	<i>Propionibacterium acnes</i>	11827 11828
<i>Campylobacter rectus</i>	33238	<i>Selenomonas noxia</i>	43541
<i>Campylobacter showae</i>	51146	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Eubacterium nodatum</i>	33099	<i>Treponema socranskii</i>	S1
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss. <i>nucleatum</i>	25586	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929
<i>Veillonella parvula</i>	10790		

A *Prevotella melaninogenica*, bacilo gram negativo anaeróbio estrito, periodontopatógeno mostrou, em contato com oxigênio, dano oxidativo ao DNA dessas bactérias, sendo, portanto, extremamente sensíveis à presença de oxigênio (TAKEUCHI et al., 2000). *Streptococcus anginosus*, coco anaeróbio facultativo gram positivo do grupo Milleri (β -hemolítico), frequentemente encontrado em abscessos profundos e osteomielites, também foi detectado no material de inoculação empregado neste estudo. Esse micro-organismo

também tem presença marcante em tumores esofágicos (NARIKIYO et al., 2004). *Streptococcus sanguis*, coco gram positivo α -hemolítico do grupo Viridans relacionado a abscessos e endocardite bacteriana (CARVALHO et al., 2005). Outro micro-organismo detectado foi o *Treponema socranskii*, espiroqueta anaeróbia gram negativa observada na periodontite (EHMKE et al., 2004).

Semelhantemente à doença periodontal, a alveolite é provocada por diferentes micro-organismos. GARLET et al. (2005) induziram doença periodontal em camundongos apenas inoculando uma única espécie periodontopatógena, o *Actinomyces actinomycetemcomitans*, assim como ROZANIS, SCHOFIELD e KOGON (1976), que induziram infecção alveolar a partir da inoculação de *Actinomyces viscosus* e *Streptococcus mutans* e ZHANG et al. (1983), que aplicaram suspensão à base de *Streptococcus* e *Staphylococcus*, para indução da alveolite em animais. Isso sugere que a inoculação de uma única ou de algumas espécies existentes nas infecções parece ser suficiente para provocar sua manifestação, mesmo na ausência de outras espécies eventualmente observadas, estabelecendo, assim, um modelo experimental viável.

6.3 Dos Resultados

Um dos propósitos deste estudo foi analisar o reparo alveolar de duas formas diferentes. É unânime na literatura a análise microscópica neste tipo de metodologia para o estudo da alveolite. Com os adventos da biologia molecular e o acesso a equipamentos e produtos financiados por empresas de auxílio pecuniário, foi possível um estudo do processo de reparo alveolar e da alveolite induzida, através da técnica da RealtimePCR. Sendo um recurso prático e rápido, o interesse em validar esse tipo de análise no estudo de reparação tecidual alveolar é grande, em relação ao grande tempo de processamento histotécnico e análise morfométrica, necessário para a análise microscópica. Na microscopia obtemos a visualização do que está ocorrendo, possível de quantificar e qualificar as estruturas. A análise molecular permite obter a expressão do gene que comanda a produção dessas estruturas; portanto deve haver uma correlação entre as expressões desses genes e a presença dessas estruturas. Sendo assim, foram selecionados alguns fatores que atuam no metabolismo ósseo e reparo alveolar, como: osteocalcina, fosfatase alcalina, RUNX2, colágeno tipo I, VEGF, TNF- α , no intuito de os correlacionar com as estruturas que foram observadas microscopicamente: tecido ósseo, tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e infiltrado inflamatório.

6.3.1 Variável Tecido Ósseo e a Expressão de Marcadores Bioquímicos do Metabolismo Ósseo

De acordo com o que se conhece do processo de reparo alveolar em condições normais, podemos observar que, microscopicamente, o grupo I (controle) apresentou o esperado em todos os períodos, tendo um aumento gradativo culminando numa maior densidade de tecido ósseo aos 28 dias.

O aumento da densidade de tecido ósseo neoformado foi observado em todos os grupos, ao longo do tempo, porém em níveis diferentes (**Gráfico 1**). Mesmo o grupo II, que teve os alvéolos infectados sem nenhum tipo de tratamento, apresentou neoformação óssea, porém, evidenciando menor quantidade de tecido que os demais grupos em todos os períodos.

Os grupos III e IV foram muito semelhantes entre si ao longo do tempo e ambos apresentaram menor quantidade de tecido ósseo quando comparado ao grupo I (**Gráfico 1**).

A variação da densidade de tecido ósseo, entre os grupos, neste estudo foi semelhante ao estudo de RODRIGUES (2007). Em ambos os estudos, os grupos tratados apresentaram resultados semelhantes, sendo que o grupo tratado através da pasta à base de metronidazol a 10% e lidocaína a 2%, carboximetilcelulose e menta teve neoformação óssea pouco maior. Autores como POI et al, 1998, ao estudarem o processo de reparo em alvéolos infectados de ratos, após o tratamento com a mesma pasta, obtiveram resultados semelhantes.

Entretanto os grupos II, III e IV deste estudo apresentaram maior densidade de neoformação óssea, em todos os períodos, se comparados aos de estudo de RODRIGUES (2007).

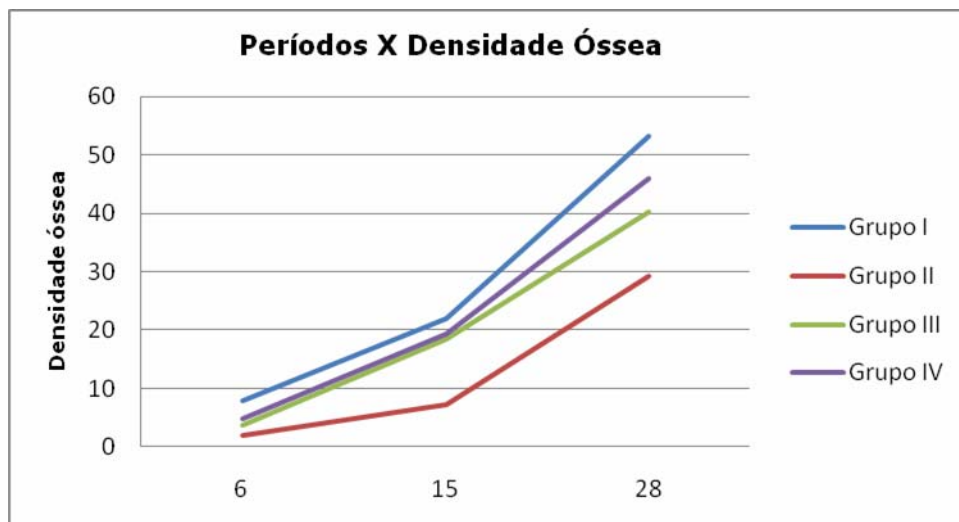


Gráfico 1 - Densidade de tecido ósseo, por grupo, ao longo dos períodos.

Comparando a densidade de tecido ósseo com marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo, foi obtida uma correlação positiva significativa entre a formação de tecido ósseo e os marcadores osteocalcina e RUNX2, a qual pode ser observada na figura 40, no capítulo de resultados. Entretanto, a fosfatase alcalina, apesar de estar sempre presente, não mostrou correlação significativa.

Analisando o grupo I, é possível observar o que deveria ocorrer, em condições normais, em relação aos marcadores moleculares da neoformação óssea.

A osteocalcina expressa formação óssea e os grupos I e IV, que apresentaram maiores níveis de osteocalcina aos 15 dias, foram os que também apresentaram maior densidade de tecido ósseo. Após 15 dias, houve uma queda dos níveis de osteocalcina em ambos os grupos, sem comprometer a densidade de tecido ósseo.

Com relação à cinética de expressão de osteocalcina, aos 28 dias os alvéolos se mostram completamente reparados, havendo, dessa forma, redução na atividade dos osteoblastos e, conseqüentemente, uma menor produção de osteocalcina realmente é esperada.

Quando comparado aos demais grupos, a maior expressão de osteocalcina no grupo I pode explicar a maior densidade de tecido ósseo verificada neste grupo. O grupo IV apresentou uma cinética de expressão similar à do grupo I, porém com menores níveis de expressão de osteocalcina, o que poderia justificar, juntamente com a infecção do alvéolo, a menor densidade de tecido ósseo apresentada pelo grupo IV quando comparado ao grupo I.

Os grupos II e III apresentaram uma cinética distinta, na qual um aumento gradativo na expressão de osteocalcina foi verificado ao longo do tempo, sem a queda verificada nos demais grupos (**Gráfico 2**).

Com relação aos grupos II e III, tendo em vista o retardo no processo de reparo devido à infecção não tratada (grupo II) ou tratada com peróxido de hidrogênio que tem ação tóxica sobre algumas células (grupo III), é possível que a manutenção da expressão de osteocalcina reflita a manutenção da atividade osteoblástica por um período mais longo, de modo a completar o processo de reparo.

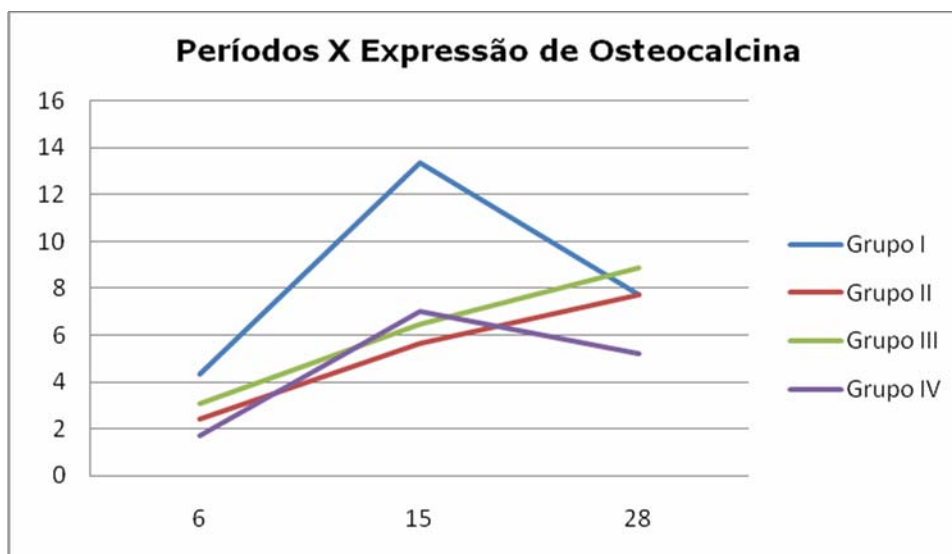


Gráfico 2 – Expressão de osteocalcina, por grupo, ao longo dos períodos.

A fosfatase alcalina é outro marcador de formação óssea e está relacionada à mineralização óssea. De forma distinta ao descrito para a osteocalcina, não houve correlação significativa entre as variáveis tecido ósseo e os níveis de fosfatase alcalina (**Figura 40**), porém, no grupo II, sua expressão foi menor e a neoformação óssea também foi menor (**Gráfico 3**).

Além disso, pode-se observar, ainda no **Gráfico 3**, que o grupo IV apresentou queda dos níveis de fosfatase alcalina nos primeiros 15 dias e depois teve aumento semelhante ao observado nos grupos II e III. Não se pode ter certeza, mas, provavelmente, isso se deve a algum dos componentes da pasta utilizada para o tratamento dos animais deste grupo.

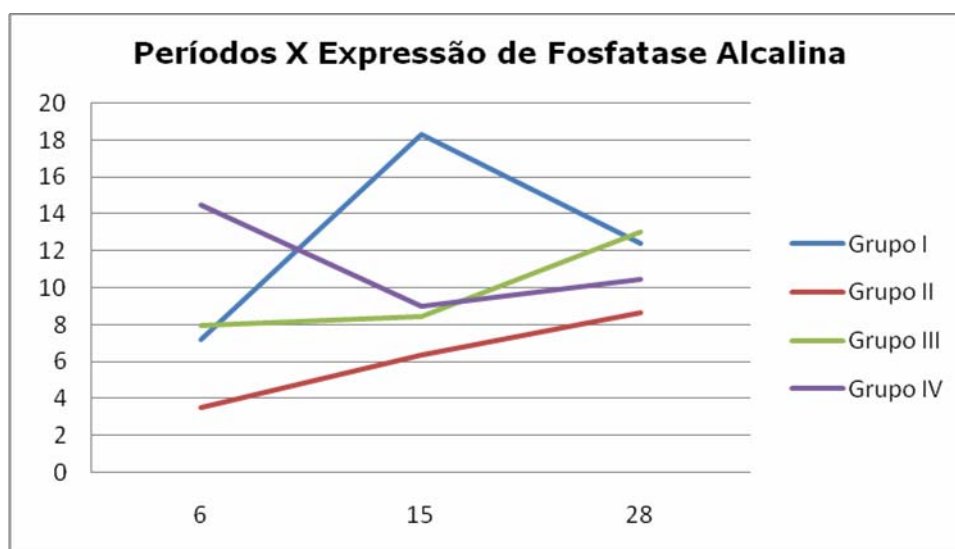



Gráfico 3 – Expressão de fosfatase alcalina, por grupo, ao longo dos períodos.



O marcador RUNX2 é responsável pelo estímulo da diferenciação de células precursoras em osteoblastos. Portanto, os fatores produzidos pelos osteoblastos como a osteocalcina e a fosfatase alcalina acompanham o aumento dos níveis de expressão do RUNX2.

O RUNX2 teve sua expressão aumentada ao longo do tempo em todos os grupos, inclusive no grupo II, apesar de este último apresentar a menor expressão (**Gráfico 4**). O grupo I obteve maior expressão, e os grupos III e IV expressaram pouca diferença. A variação da expressão do RUNX2 entre grupos, ao longo do tempo, é muito semelhante à variação de densidade de tecido ósseo entre os mesmos. Os grupos que expressaram mais RUNX2 tiveram maior formação óssea (**Gráficos 1 e 4**).

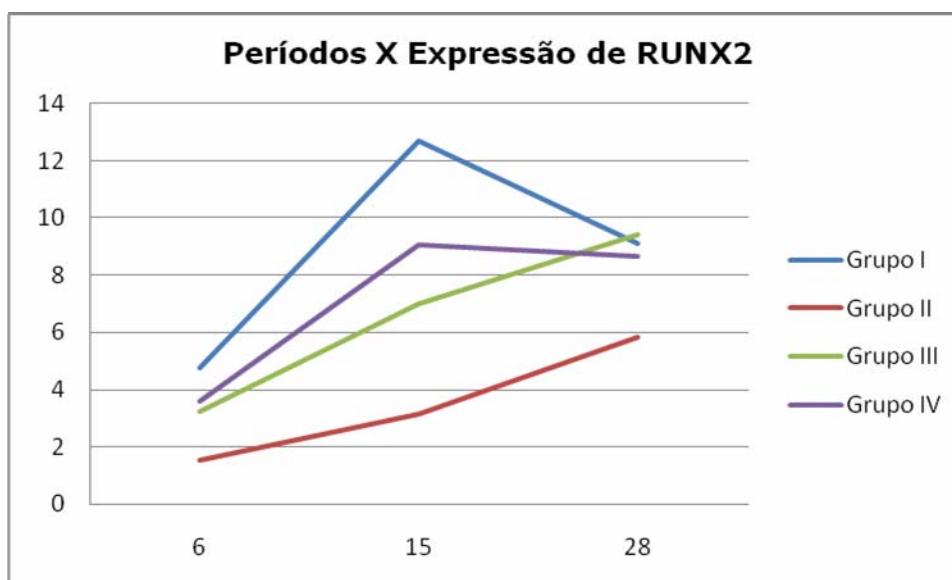


Gráfico 4 – Expressão de RUNX2, por grupo, ao longo dos períodos.

Analisando a correlação entre o tecido ósseo e os marcadores OCN, ALP e RUNX2 (**Gráfico 5**), podemos observar que o grupo I apresentou aumento de todos os fatores durante as primeiras fases do reparo e, a partir dos 15 dias, houve um decréscimo até os 28 dias. Isso, provavelmente, se deva a um maior estímulo para a liberação desses fatores na fase inicial, quando o tecido ainda se encontra imaturo e, com o tempo e a presença de RUNX2, ocorre uma maior proliferação de osteoblastos que resulta na neoformação óssea.

A expressão desses marcadores aos 28 dias, no grupo controle, foi menor em relação aos 15 dias, porém continuaram presentes e em níveis maiores que aos 6 dias. Portanto, a

expressão dessas variáveis no grupo I coincide com o que se espera de um processo de reparo normal (**Gráfico 5**).

No grupo II, pode-se observar qualitativamente e quantitativamente um atraso significativo no reparo por conta da contaminação e falta de tratamento. Em relação aos marcadores, todos tiveram sua maior expressão no início, embora tenham atingindo níveis muito menores que os do grupo controle, o que explica a menor quantidade de tecido ósseo ao longo do tempo.

O tecido ósseo neoformado, pobremente presente, provavelmente, se deve a pouca expressão dos marcadores observados. O RUNX2 em menor expressão atuou menos na diferenciação dos osteoblastos e, conseqüentemente, houve uma menor produção dos outros fatores produzidos por eles resultando em menor quantidade de tecido ósseo neoformado (**Gráfico 6**).

Nos grupos III e IV, a correlação entre osteocalcina e RUNX2 com o tecido ósseo foi bem semelhante ao longo do tempo. O grupo IV apresentou neoformação óssea ligeiramente maior que o grupo III, porém a expressão dos marcadores aos 28 dias foi semelhante entre os grupos, com exceção da fosfatase alcalina que esteve fortemente aumentada aos 6 dias, no grupo IV, provavelmente em decorrência de algum dos componentes da pasta utilizada para o tratamento da alveolite.

A quantidade de tecido ósseo nos grupos tratados foi maior que o grupo II e muito próxima à observada no grupo controle (**Gráficos 7 e 8**).

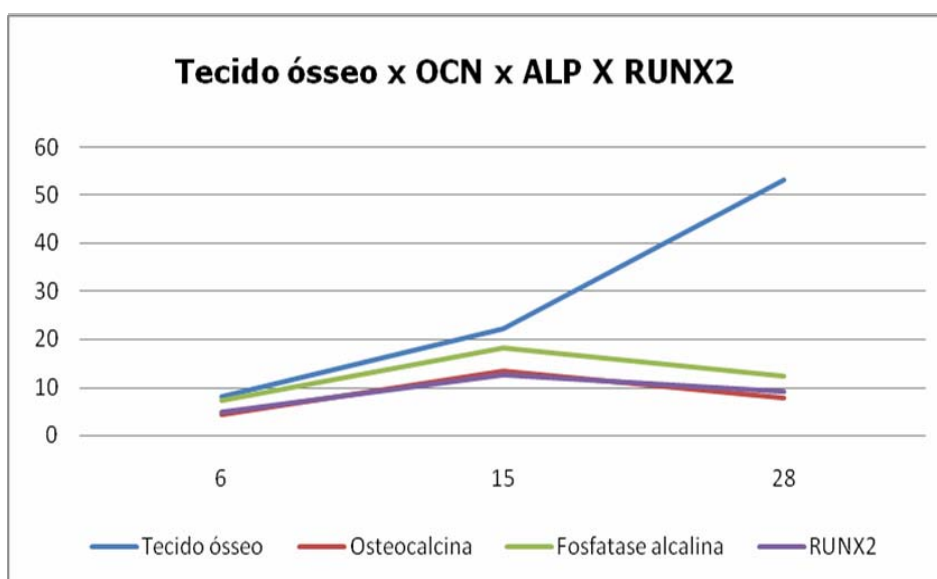


Gráfico 5 – Correlação entre a densidade de tecido ósseo e a expressão de fatores relacionados ao metabolismo ósseo do Grupo I ao longo do tempo.

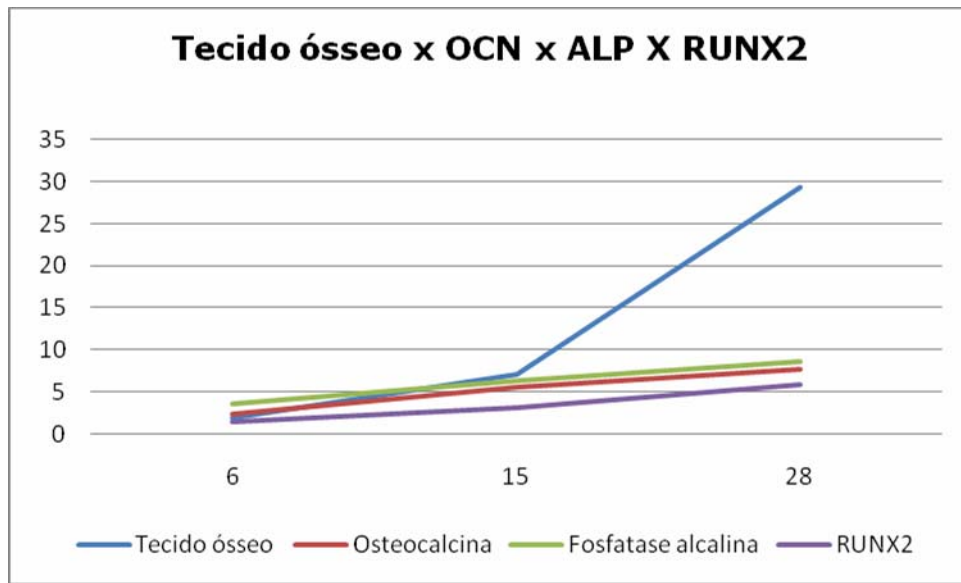


Gráfico 6 – Correlação entre a densidade de tecido ósseo e a expressão de fatores relacionados ao metabolismo ósseo do Grupo II ao longo do tempo.

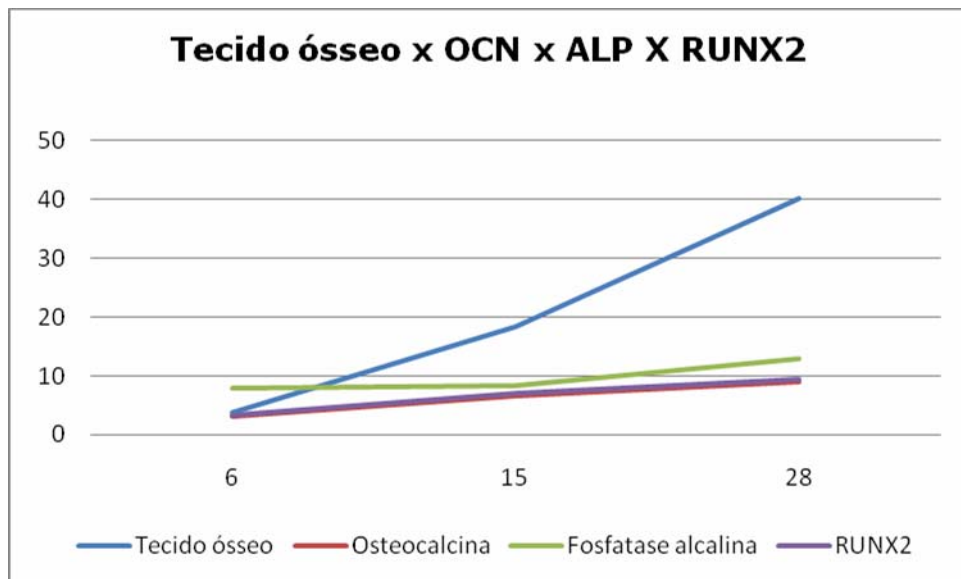


Gráfico 7 – Correlação entre a densidade de tecido ósseo e a expressão de fatores relacionados ao metabolismo ósseo do Grupo III ao longo do tempo.

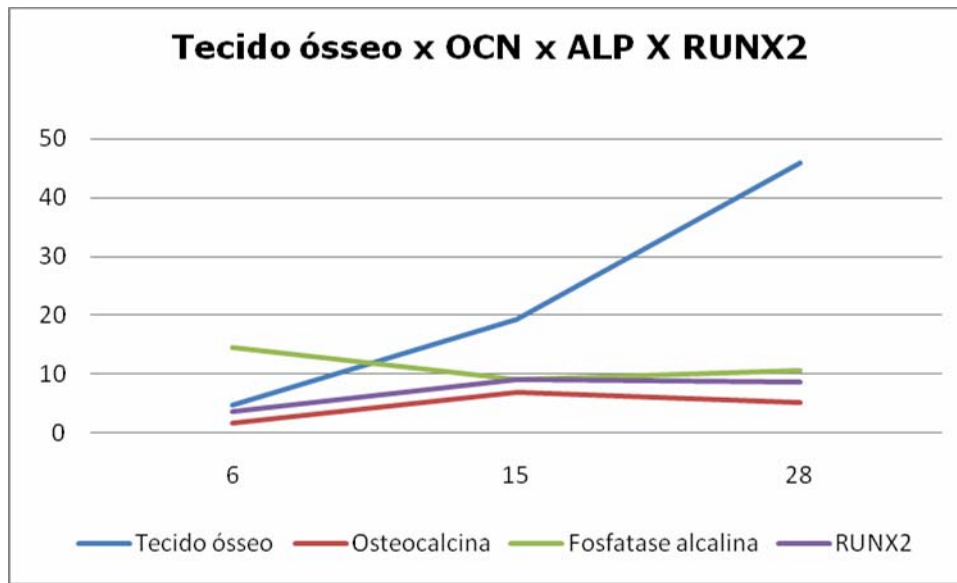


Gráfico 8 – Correlação entre a densidade de tecido ósseo e a expressão de fatores relacionados ao metabolismo ósseo do Grupo IV ao longo do tempo.

6.3.2 Variável Tecido Conjuntivo e a Expressão de Colágeno tipo I

Apesar de o tecido conjuntivo não ter apresentado diferença significativa de densidade entre os grupos (**Gráfico 9**), variou qualitativamente ao longo do tempo.

Aos 6 dias, o grupo que apresentou maior quantidade de tecido conjuntivo foi o IV, e o II, a menor. O grupo I (controle) mostrou uma densidade de tecido conjuntivo entre o grupo II e o grupo IV. Porém, aos 15 dias, esse quadro se alterou significativamente, pois o grupo IV, que tinha a maior quantidade de tecido conjuntivo, apresentou a menor densidade entre os grupos. Aos 28 dias, o grupo I obteve a menor média, não variando muito dos grupos restantes (**Gráfico 9**).

Qualitativamente, houve grande diferença entre os grupos e ao longo dos períodos. Aos 6 dias, o tecido conjuntivo se apresentou predominantemente frouxo em todos os grupos. Aos 15 e 28 se tornou mais maduro, porém aos 28 dias, o grupo II ainda apresentou muito tecido conjuntivo frouxo. A hipótese para explicar tal característica é o atraso no reparo causado pela contaminação e ausência de tratamento, o que coincide com uma menor quantidade de tecido ósseo.

A comparação da expressão de colágeno tipo I com a densidade de tecido conjuntivo teve como objetivo verificar se este marcador serve como parâmetro para avaliar o reparo

alveolar, como outras variáveis microscópicas e marcadores do metabolismo ósseo. Não houve correlação positiva significativa entre esses parâmetros (**Figura 40**), porém, os valores de expressão de colágeno tipo I observados representou o que ocorreu em relação à quantidade de tecido conjuntivo na análise microscópica.

Na fase inicial do processo de reparo predomina a formação de colágeno, principalmente do tipo I (COL-I), um dos principais constituintes dos tecidos.

Vale ressaltar que a menor expressão de colágeno em todos os períodos ocorreu no grupo II, que apresentou maior quantidade de tecido conjuntivo frouxo em todos os períodos (**Gráfico 10**). Aos 28 dias, o grupo I teve menor expressão de colágeno em decorrência da substituição por osso.

Dessa forma, a ausência de correlação entre a expressão de colágeno e as variáveis morfométricas do tecido conjuntivo e tecido ósseo, provavelmente, se deva à presença de colágeno em ambos os tecidos, que apresentam um comportamento distinto ao longo do processo de reparo. Isso sugere que a análise dos níveis de mRNA para colágeno tipo I não é um bom marcador para análise do reparo alveolar.

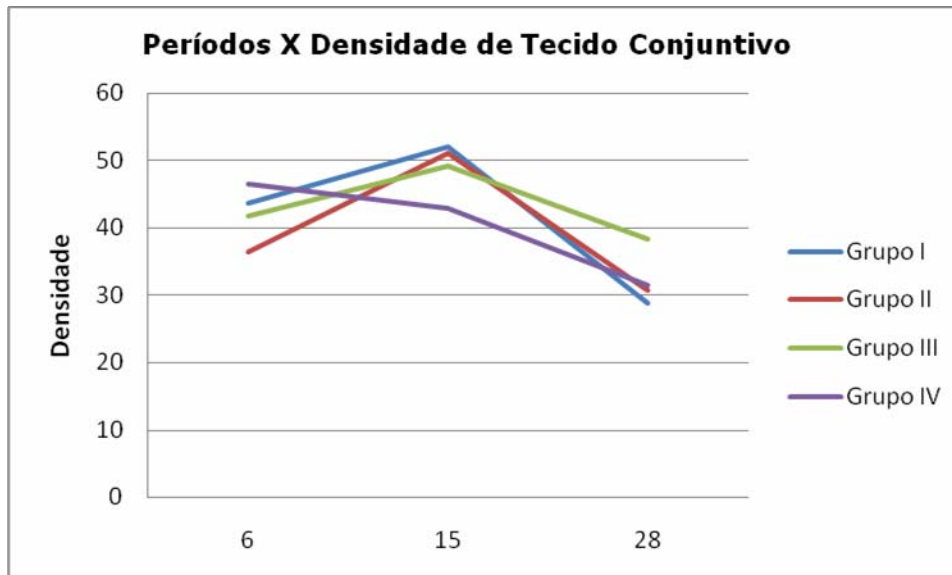


Gráfico 9 - Níveis de densidade de tecido conjuntivo, por grupo, ao longo dos períodos.

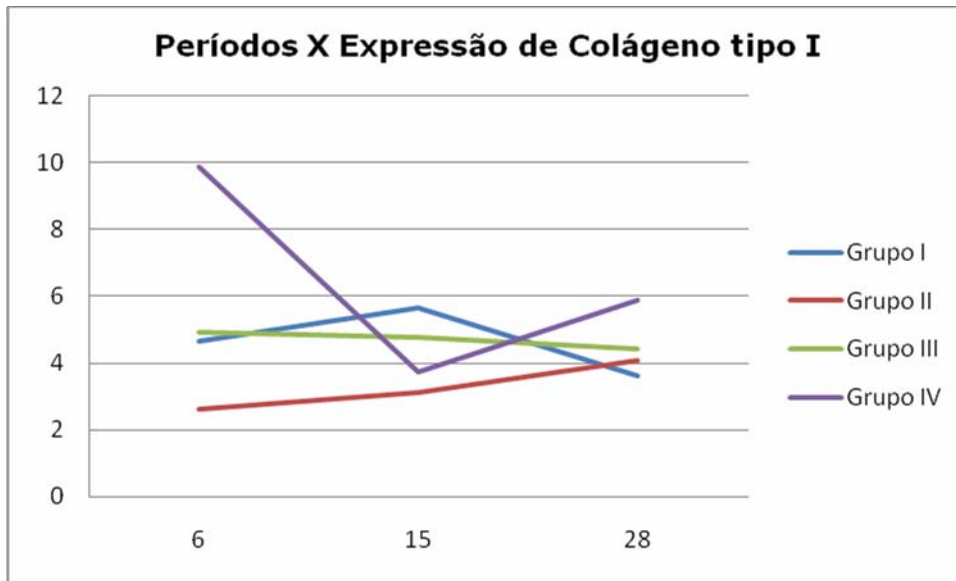


Gráfico 10 – Expressão de colágeno tipo I, por grupo, ao longo dos períodos.

Os **Gráficos 11, 12, 13 e 14** representam o comportamento dessas variáveis nos grupos experimentais ao longo do tempo. Existiu pouca variação da expressão do colágeno e da densidade de tecido conjuntivo entre os grupos. A maior diferença foi encontrada no grupo IV (**Gráfico 14**), onde a expressão de ambos é maior aos 6 dias, provavelmente causada por um dos componentes da pasta.

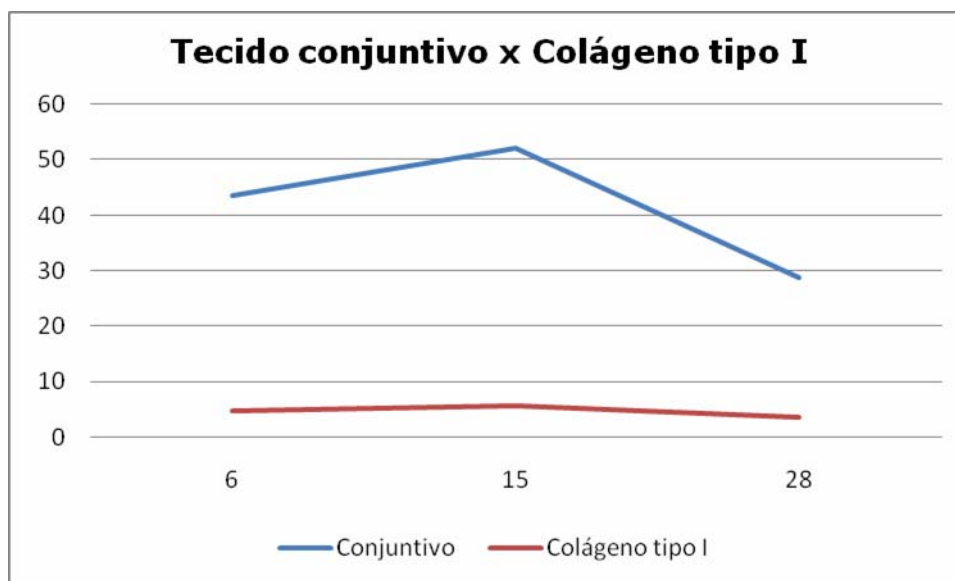


Gráfico 11- Densidade de tecido conjuntivo e expressão de colágeno tipo I, do Grupo I, ao longo do tempo.

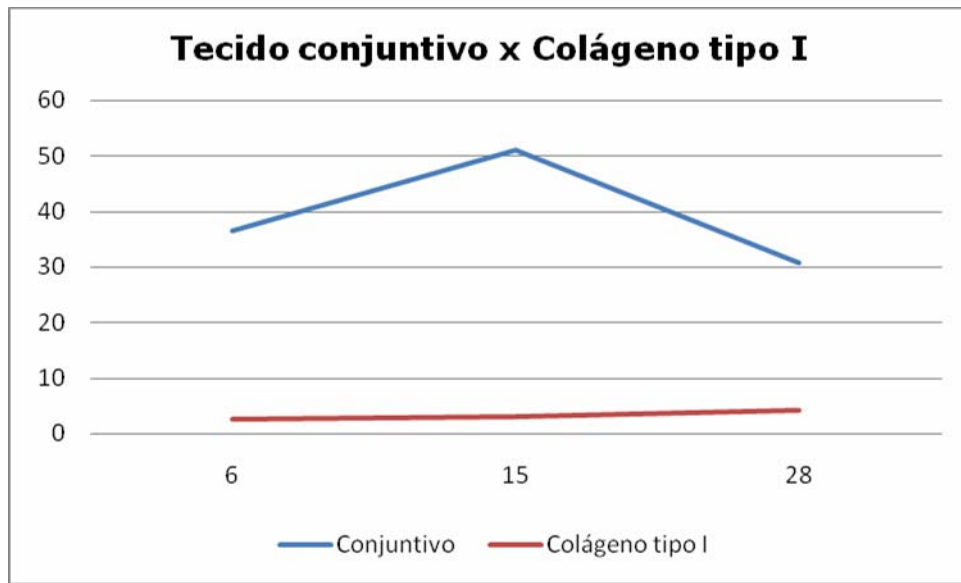


Gráfico 12 – Densidade de tecido conjuntivo e expressão de colágeno tipo I, do Grupo II, ao longo do tempo.

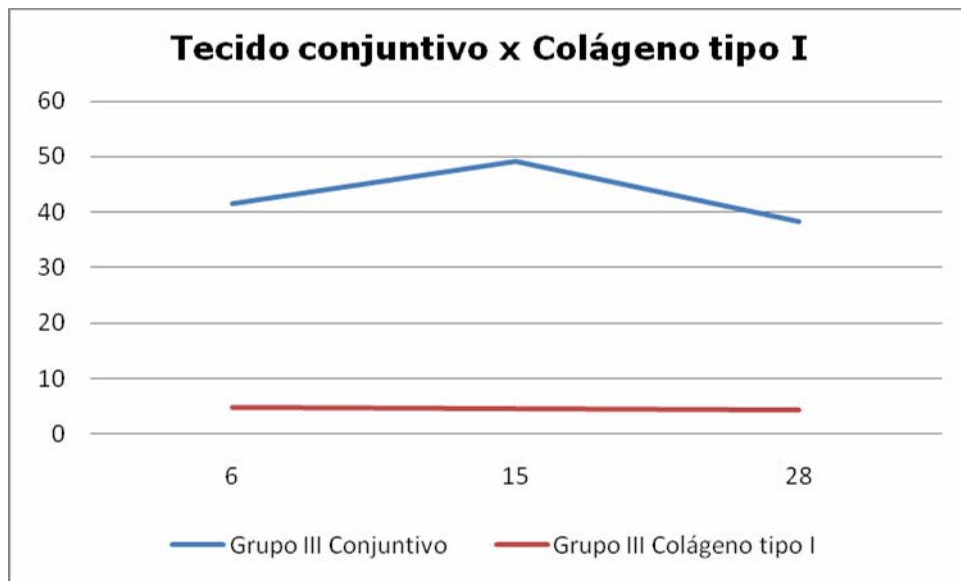


Gráfico 13 – Densidade de tecido conjuntivo e expressão de colágeno tipo I, do Grupo III, ao longo do tempo.

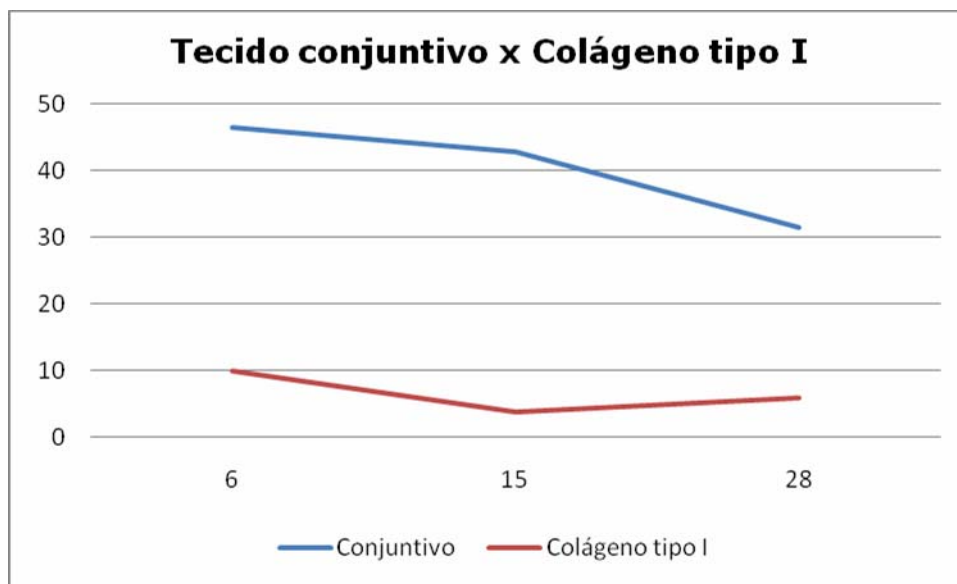


Gráfico 14 – Densidade de tecido conjuntivo e expressão de colágeno tipo I, do Grupo IV, ao longo do tempo.

6.3.3 Variável Infiltrado Inflamatório e a Expressão de TNF- α

Além da resposta inflamatória desencadeada pela exodontia, que faz parte das primeiras fases do reparo, a contaminação por bactérias gera um estímulo inflamatório maior e acaba afetando as fases subseqüentes do reparo alveolar, causando atraso ou comprometendo a reparação completa.

Na análise microscópica, a presença de infiltrado inflamatório no grupo I foi mínima, e marcante no grupo II que não recebeu nenhuma forma de tratamento (**Gráfico 15**).

Os grupos III e IV apresentaram maior quantidade de infiltrado inflamatório que o grupo controle, aos 6 dias. Porém, ao longo do tempo, houve uma redução em todos os grupos, sendo que aos 28 dias, com exceção do grupo II, os demais apresentavam densidade semelhante de infiltrado inflamatório (**Gráfico 15**).

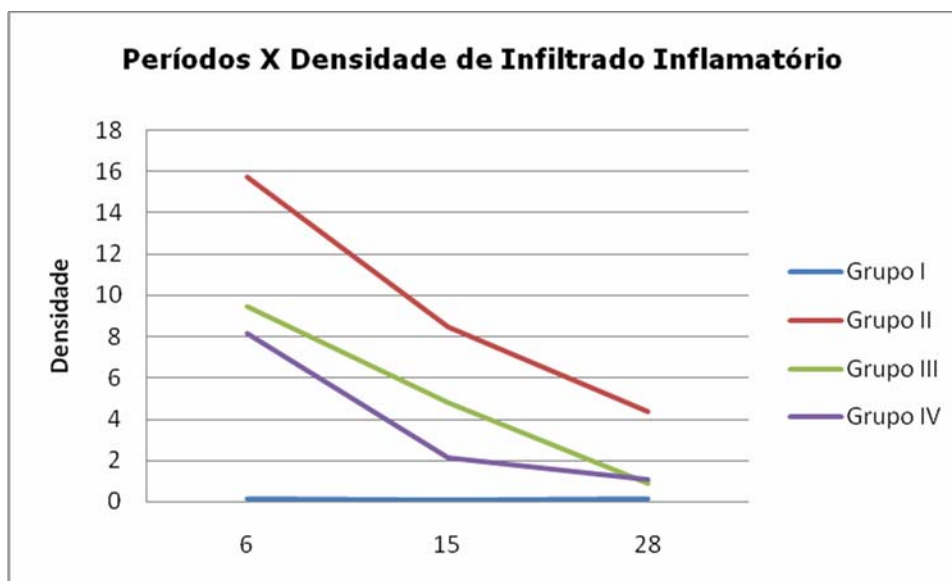


Gráfico 15 - Densidade de infiltrado inflamatório, por grupo, ao longo dos períodos.

A intenção de quantificar a expressão do TNF- α deve-se ao fato de que a presença dessa citocina é marcante na inflamação, atuando de forma importante no processo de migração celular, tanto sobre o endotélio, como em células residentes e inflamatórias.

Esse fator está presente nas fases iniciais da inflamação e, por isso, já se esperava que o pico de expressão de TNF- α ocorresse, em todos os grupos, aos 6 dias, decorrente do estímulo da exodontia.

Da mesma forma que o infiltrado inflamatório, o grupo II apresentou maior expressão de TNF- α , em todos os períodos, enquanto a menor expressão foi no grupo I (**Gráfico 16**). Como no grupo controle o estímulo inflamatório foi menos intenso, quando comparado aos grupos infectados, é coerente o resultado encontrado.

Além disso, houve um decréscimo contínuo de sua expressão, correspondente ao evidenciado microscopicamente pela diminuição do número de células inflamatórias. Em todos os grupos, a expressão foi maior aos 6 dias e reduziu ao longo do tempo.

Assim, houve uma correlação positiva entre as variáveis analisadas de formas diferentes, indicando que a quantificação do TNF- α é um parâmetro confiável para analisar a inflamação presente na alveolite.

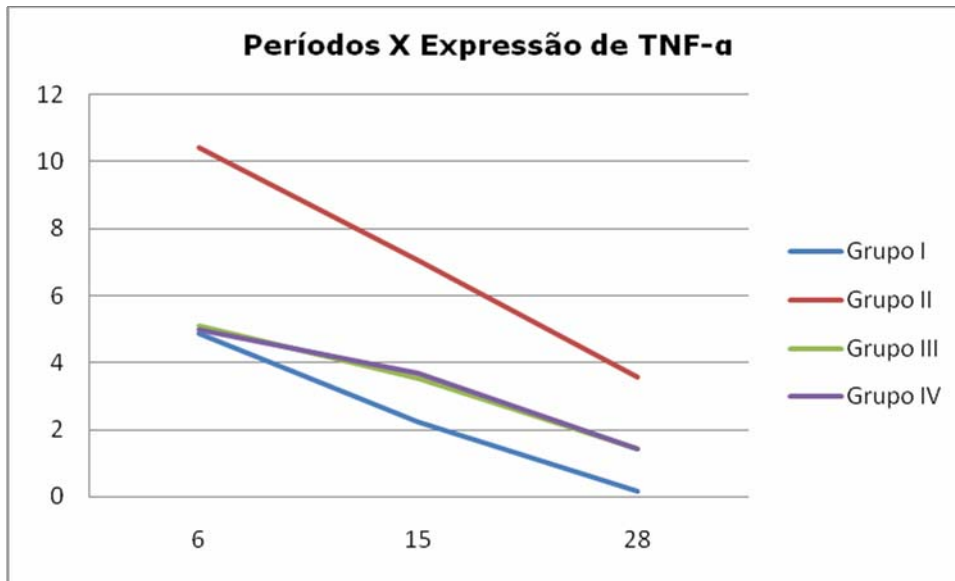


Gráfico 16 – Expressão de TNF- α , por grupo, ao longo dos períodos.

No grupo I, a expressão de TNF- α aos 6 dias foi a menor entre todos os outros grupos e diminuiu com o tempo. Da mesma forma, a densidade de infiltrado inflamatório se manteve mínima e constante ao longo do tempo (**Gráfico 17**).

O grupo II apresentou quase o dobro da expressão de TNF- α comparado aos outros grupos, e o infiltrado inflamatório também foi marcante (**Gráfico 18**). Isso porque, com a infecção, e maior produção de TNF- α , houve maior estímulo de migração de células inflamatórias ao local e, conseqüentemente, maior densidade de infiltrado inflamatório, como observado anteriormente. De fato, produtos microbianos caracteristicamente ativam células residentes e inflamatórias levando à produção de mediadores inflamatórios, entre eles o TNF- α ((MUKAI et al., 2007; YAMSHITA et al., 2008). Aos 28 dias, ainda era possível observar altas quantidades de ambos os parâmetros.

Os grupos III e IV apresentaram uma diminuição das variáveis com o tempo e não mostraram diferenças significantes (**Gráfico 19 e 20**).

A explicação para a redução da resposta inflamatória nos grupos III e IV se deve, provavelmente, aos tratamentos empregados. A expressão de TNF- α diminuiu após o tratamento, reduzindo o estímulo para a migração de células e, conseqüentemente, causando diminuição do infiltrado inflamatório. O grupo IV mostrou menos infiltrado inflamatório que o grupo III, e isso coincide com a maior neoformação óssea.

A correlação entre as variáveis infiltrado inflamatório e TNF- α foi estatisticamente significativa (**Figura 40**).

Em relação à densidade de tecido ósseo, foi observada uma correlação negativa. De fato, o ambiente inflamatório, caracterizado pelos altos níveis de TNF- α , não é mostra favorável à diferenciação e atividade osteoblástica, o que provavelmente contribui diretamente para a menor formação óssea verificada no grupo II, e em menor intensidade nos grupos III e IV.

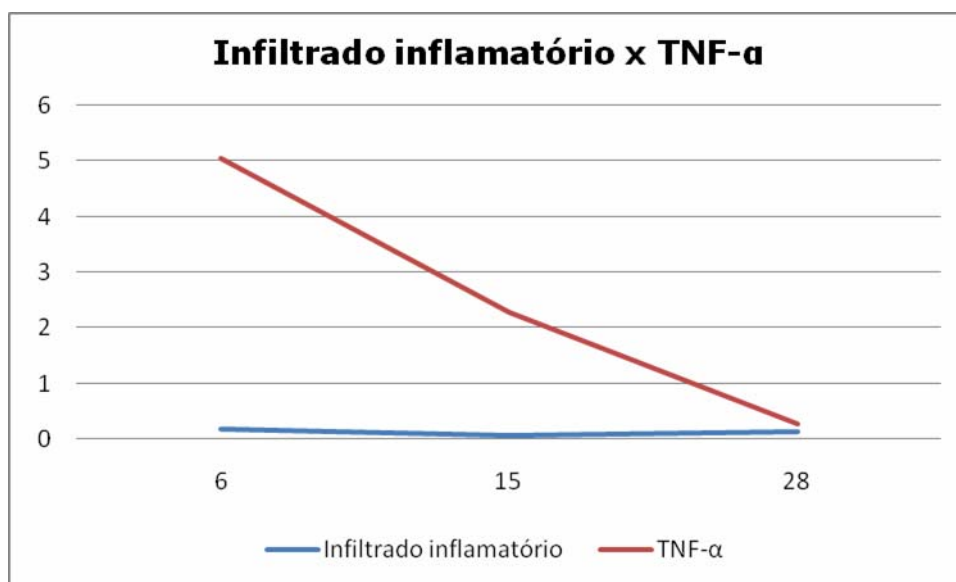


Gráfico 17 – Densidade de infiltrado inflamatório e a expressão de TNF- α , do Grupo I, ao longo do tempo.

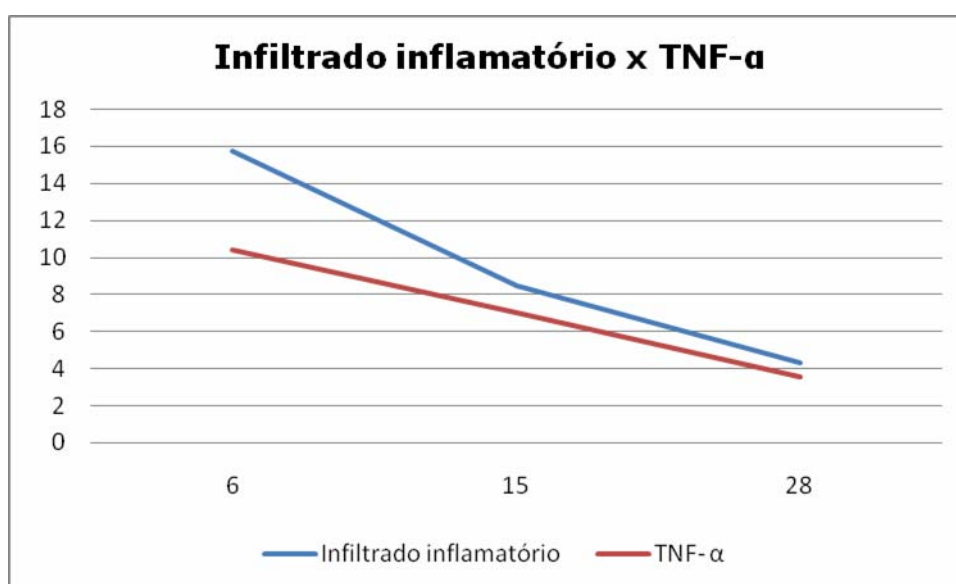


Gráfico 18 - Densidade de infiltrado inflamatório e a expressão de TNF- α , do Grupo II, ao longo do tempo.

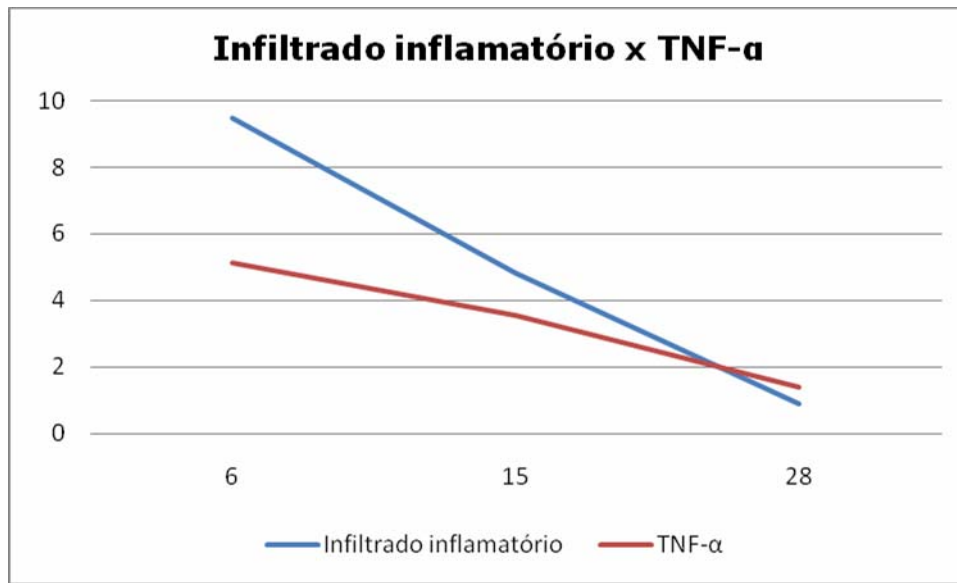


Gráfico 19 – Densidade de infiltrado inflamatório e a expressão de TNF- α , do Grupo III, ao longo do tempo.

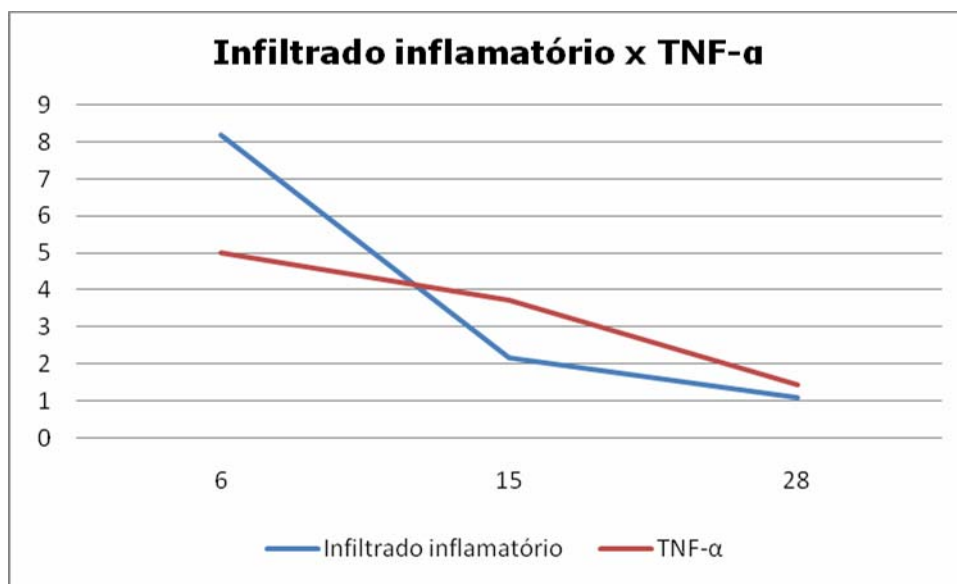


Gráfico 20 – Densidade de infiltrado inflamatório e a expressão de TNF- α , do Grupo IV, ao longo do tempo.

Diante das correlações observadas entre TNF- α e infiltrado inflamatório e TNF- α e tecido ósseo (**Figura 40**) sua expressão foi considerada um parâmetro aplicável na análise de alveolite induzida.

6.3.4 Variável Vaso Sanguíneo e a Expressão de VEGF

A quantidade de vasos sanguíneos aumentou com o tempo em todos os grupos, mas a diferença não foi significativa. Aos 28 dias, o grupo II foi o que obteve maior quantidade de vasos quando comparado aos demais grupos (**Gráfico 21**).

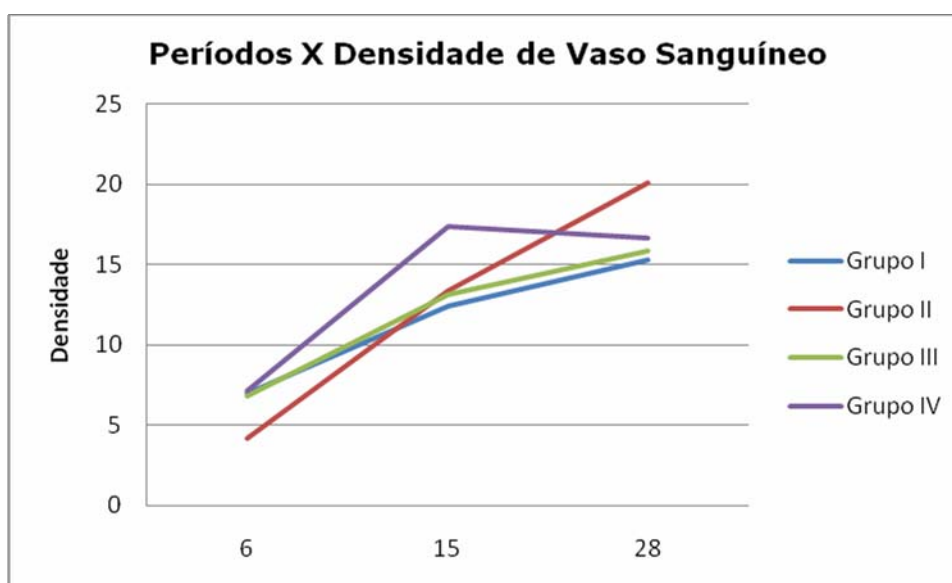


Gráfico 21 - Densidade de vasos sanguíneos, por grupo, nos diferentes períodos.

Neste estudo, optou-se pelo estudo da expressão do VEGF com a intenção de correlacioná-la com a presença de vasos sanguíneos.

O VEGF pode ser produzido por macrófagos, linfócitos T, ou mesmo por células residentes do tecido conjuntivo, e sua produção pode ser aumentada em condições de hipóxia, em lesões teciduais e durante o processo de reparo dessas lesões. O VEGF está presente quando existe proliferação vascular e nos estágios iniciais vasculares da inflamação está em maior quantidade.

Em relação à expressão de VEGF, o grupo II foi o único que apresentou um comportamento diferente, aumentando com o tempo. Os outros grupos tiveram uma queda do período de 6 dias ao 15 dias e um aumento da expressão aos 28 dias, como podemos observar no **Gráfico 22**.

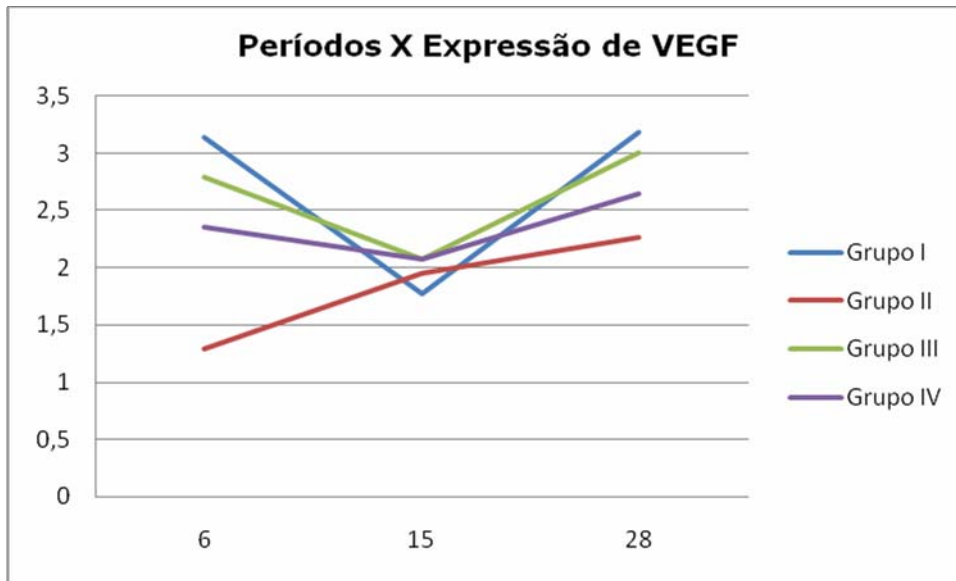


Gráfico 22 – Expressão de VEGF, por grupo, ao longo dos períodos.

A correlação entre a quantidade de vasos e a expressão de VEGF não foi estatisticamente significativa (**Figura 40**). A expressão de VEGF não variou muito entre os grupos (**Gráfico 22**).

Os **Gráficos 23, 24, 25 e 26**, que ilustram a relação entre VEGF e a densidade de vasos sanguíneos em cada grupo, não são muito diferentes. Isso mostra que a quantificação da expressão de VEGF não é aplicável para avaliar a quantidade de vasos sanguíneos.

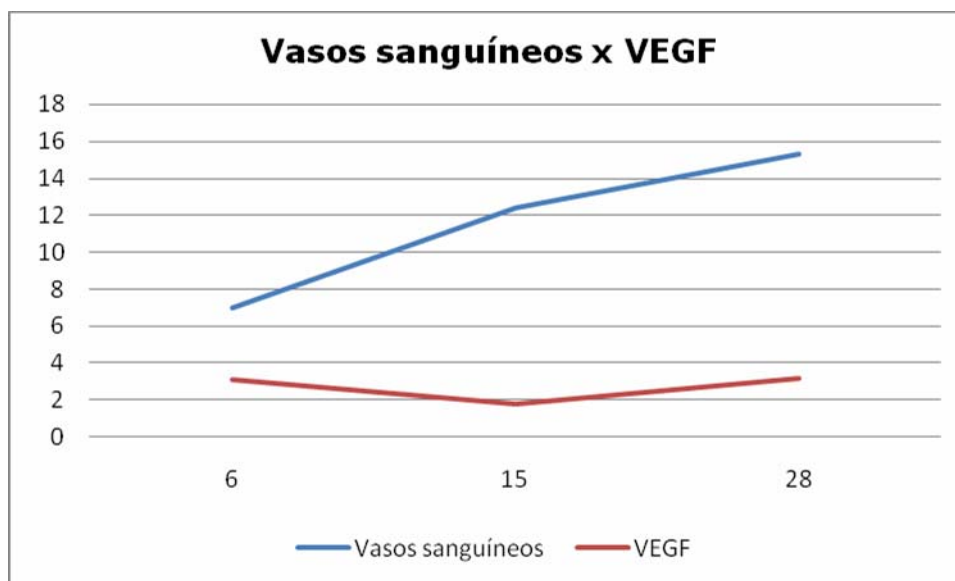


Gráfico 23 – Densidade de vasos sanguíneos e a expressão de VEGF, do Grupo I, ao longo do tempo.

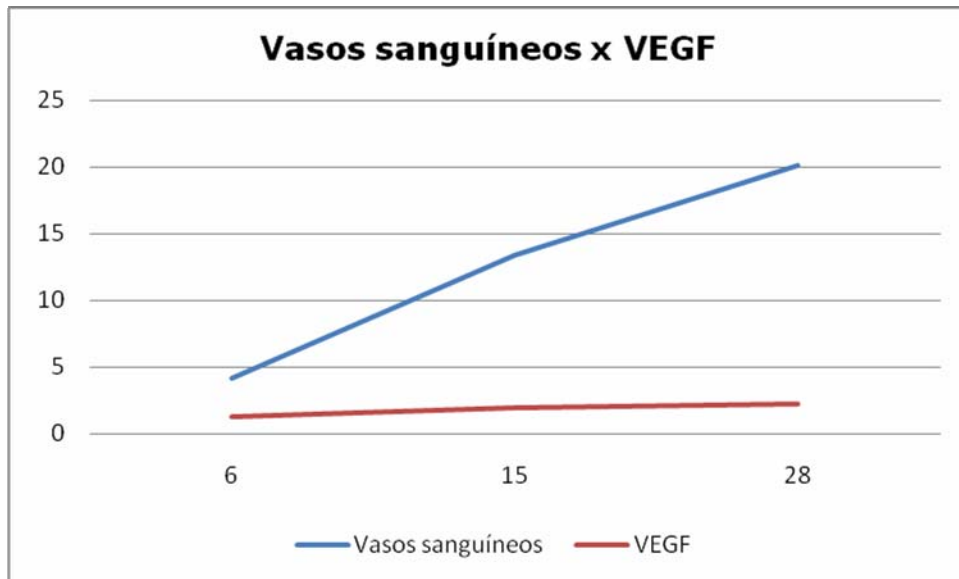


Gráfico 24 – Densidade de vasos sanguíneos e a expressão de VEGF, do Grupo II, ao longo do tempo.

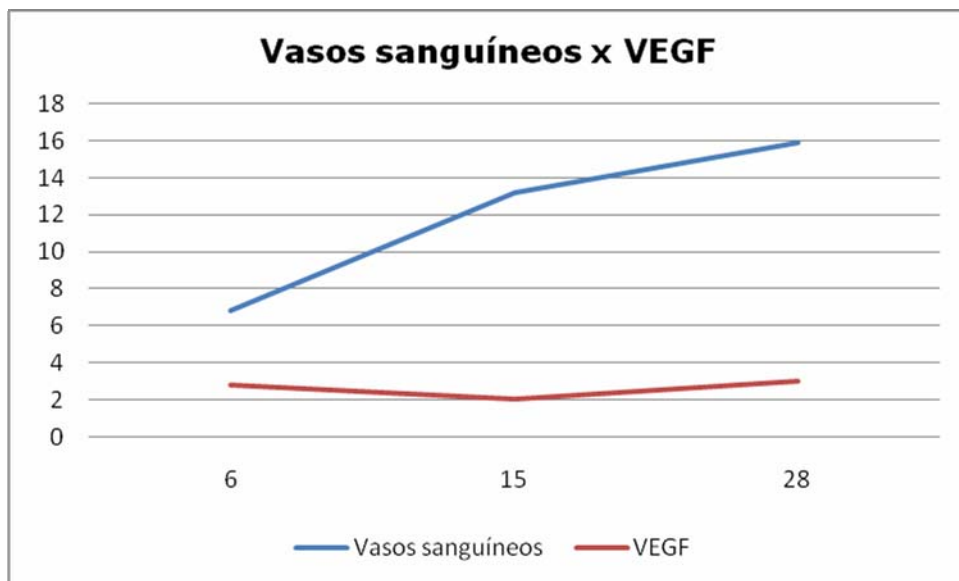


Gráfico 25 – Densidade de vasos sanguíneos e a expressão de VEGF, do Grupo III, ao longo do tempo.

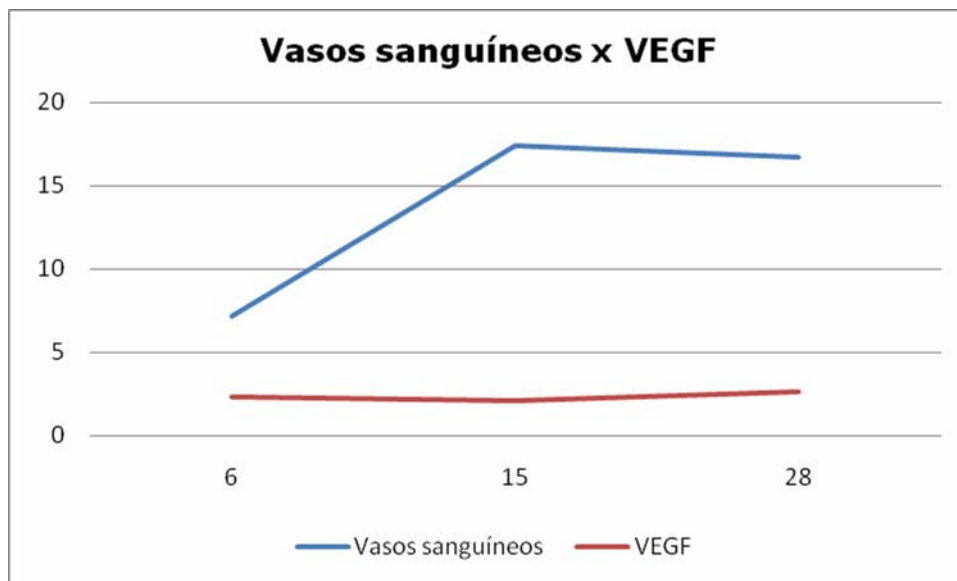


Gráfico 26 – Densidade de vasos sanguíneos e a expressão de VEGF, do Grupo IV, ao longo do tempo.

6.3.5 Variável Coágulo Sanguíneo

O coágulo sanguíneo se forma nos estágios iniciais do reparo. É um tecido transitório essencial que serve de matriz para a substituição de um novo tecido. Sua ausência, no início do reparo, decorrente de fatores já apresentados na revisão de literatura, atrasa todo o processo de reparo alveolar e, conseqüentemente, existe um atraso na formação de tecido ósseo maduro.

Neste estudo, o grupo I apresentou quantidade mínima de coágulo aos 28 dias, pois como não houve interferências, o coágulo se formou e foi substituído adequadamente seguindo a cronologia normal. O grupo II, por não receber nenhum tipo de tratamento, foi o que apresentou menor redução e manteve uma densidade importante de coágulo até os 28 dias. O grupo III e IV foram semelhantes ao longo do tempo (**Gráfico 27**), embora o grupo III tenha tido uma quantidade menor de coágulo observada aos 15 dias.

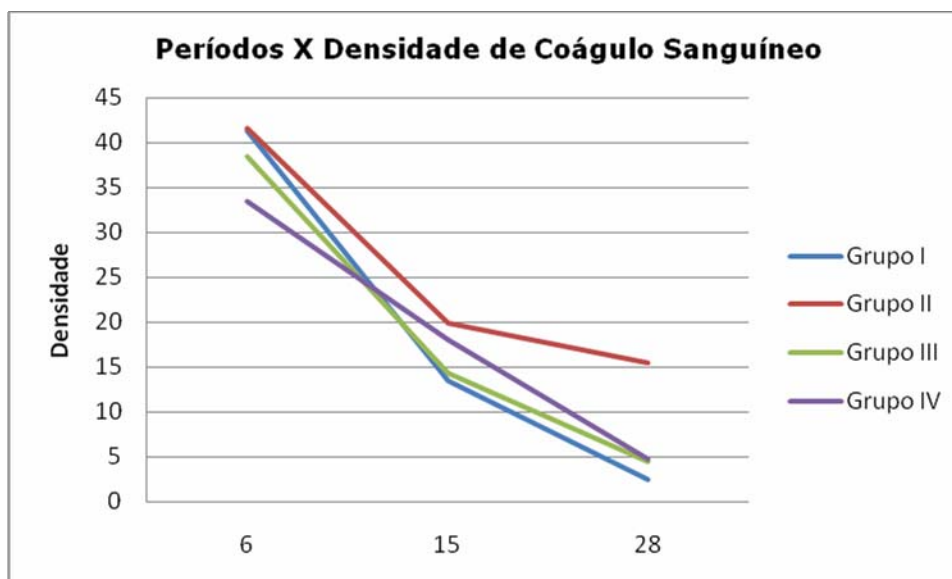



Gráfico 27 - Níveis de densidade de coágulo sanguíneo, por grupo, ao longo dos períodos.

Na análise da correlação entre densidade de coágulo e a expressão dos marcadores estudados, encontrou-se uma correlação significativa com o TNF- α (**Figura 40**). Provavelmente esse fato se deve à maior expressão de TNF- α nos grupos onde havia um atraso no reparo por conta da contaminação e maior presença de coágulo em decorrência do atraso na substituição dos tecidos.

Finalmente, numa análise geral, pode-se afirmar que alguns dos marcadores utilizados foram capazes de demonstrar o que ocorreu no processo de reparo dos alvéolos infectados de ratos, de forma correspondente ao que se observou microscopicamente. Embora ainda haja a preferência dos pesquisadores pela análise microscópica, acreditamos que este seja o início de uma nova metodologia de análise do processo de reparo ósseo, que ainda precisa ser melhor estudada e, gradativamente, substituirá a demorada e trabalhosa análise morfométrica num futuro não muito distante.

A circular inset image showing a close-up of a dental procedure, likely a root canal treatment, with a file being used inside a tooth.

Conclusão

7 Conclusão

Com base nos resultados da análise microscópica e molecular, podemos concluir que:

1. Os marcadores RUNX2, OCN e TNF- α podem ser usados como indicadores para avaliar a neoformação óssea e quantidade de infiltrado inflamatório.
2. Os marcadores ALP e VEGF não representaram adequadamente o que se observou microscopicamente.
3. Embora o tratamento da alveolite com a pasta à base de metronidazol promova maior densidade de neoformação óssea aos 28 dias, não há diferenças entre os tratamentos.



Referências

Referências

1. Abrão A. [Alveolitis: its treatment]. *Quintessencia*. 1981;8(10):21-5.
 2. Al-Belasy FA. The relationship of "shisha" (water pipe) smoking to postextraction dry socket. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62(1):10-4.
 3. Alexander RE. Dental extraction wound management: a case against medicating postextraction sockets. *J Oral Maxillofac Surg*. 2000;58(5):538-51.
 4. Al-Khateeb TL, el-Marsafi AI, Butler NP. The relationship between the indications for the surgical removal of impacted third molars and the incidence of alveolar osteitis. *Oral Maxillofac Surg*. 1991;49:141-5.
 5. Alling CC III, Helfrick JF, Alling RD. *Impacted teeth*. Philadelphia: Saunders; 1993. p. 371.
 6. Amler MH. Pathogenesis of disturbed extraction wounds. *J Oral Surg*. 1973;31(9):666-74.
 7. Archer WH. An analysis of 226 cases of alveolalgia. *J Dent Res*. 1939;18(3):256-7.
 8. Awang MN. The aetiology of dry socket: a review. *Int Dent J*. 1989;39(4):236-40.
 9. Barclay JK. Metronidazole and dry socket: prophylactic use in mandibular third molar removal complicated by non-acute pericoronitis. *N Z Dent J*. 1987;83(373):71-5.
 10. Berwick JE, Lessin ME. Effects of a chlorhexidine gluconate oral rinse on the incidence of alveolar osteitis in mandibular third molar surgery. *J Oral Maxillofac Surg*. 1990;48(5):444-8; discussion 9.
-

-
11. Betts NJ, Makowski G, Shen YH, Hersh EV. Evaluation of topical viscous 2% lidocaine jelly as an adjunct during the management of alveolar osteitis. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995;53(10):1140-4.

 12. Biazolla ER, Castro AL, Pinto DS. Osteorradiomielite da mandíbula. Incidência e avaliação clínica da sua terapêutica. *RGO.* 1996;44(6):362-4.

 13. Birn H. Bacteremia and fibrinolytic activity in "dry socket". *Acta Odontol Scand.* 1970;28(6):773-83.

 14. Birn H. Fibrinolytic activity of alveolar bone in "dry socket". *Acta Odontol Scand.* 1972a;30(1):23-32.

 15. Birn H, Myhre-Jensen O. Cellular fibrinolytic activity of human alveolar bone. *Int J Oral Surg.* 1972b;1(3):121-5.

 16. Birn H. Etiology and pathogenesis of fibrinolytic alveolitis ("dry socket"). *Int J Oral Surg.* 1973;2:211-63.

 17. Bloomer CR. Alveolar osteitis prevention by immediate placement of medicated packing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;90(3):282-84.

 18. Blum IR. Contemporary views on dry socket (alveolar osteitis): a clinical appraisal of standardization, aetiopathogenesis and management: a critical review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31(3):309-17.

 19. Bobbitt TD, Subach PF, Giordano LS, Carmony BR. Partial facial nerve paralysis resulting from an infected mandibular third molar. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58:682-5.

 20. Bonine FL. Effect of chlorhexidine rinse on the incidence of dry socket in impacted mandibular third molar extraction sites. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;79(2):154-7; discussion 7-8.
-

21. Boyes-Varley JG, Cleaton-Jones PE, Lownie JF. Effect of a topical drug combination on the early healing of extraction sockets in the vervet monkey. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1988;17(2):138-41.

 22. Bresco-Salinas M, Costa-Riu N, Berini-Aytes L, Gay-Escoda C. Antibiotic susceptibility of the bacteria causing odontogenic infections. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006;11(1):E70-5.

 23. Brown LF, Detmar M, Claffey K, Nagy JA, Feng D, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a multifunctional angiogenic cytokine. *EXS.* 1997;79:233-69.

 24. Brown LR, Merrill SS, Allen RE. Microbiologic study of intraoral wounds. *J Oral Surg.* 1970;28(2):89-95.

 25. Butler DP, Sweet JB. Effect of lavage on the incidence of localized osteitis in mandibular third molar extraction sites. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1977;44:14-20.

 26. Caflin RS. Healing of disturbed and undisturbed extraction wounds. *J Am Dent Assoc.* 1936;23(6):945-59.

 27. Calhoun NR. Dry socket and other postoperative complications. *Dent Clin North Am.* 1971;15(2):337-48.

 28. Cardoso CL, Ribeiro ED, Bernini GF, Freitas DS, Ferreira Júnior O, Santana E. Abscesso tardio após exodontia de terceiros molares inferiores: relato de dois casos. *Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial.* 2008;8:17-24.

 29. Carvalho ACP, Okamoto T, Sanches MG. Comportamento do alvéolo dental em presença de "Apenyl". *Rev Fac Odontol Araçatuba.* 1975;4(1):99-107.

 30. Carvalho ACP, Okamoto T. Estudo preliminar sobre os efeitos de anticoncepcivo no processo de reparo em feridas de extração dental em ratos. *Ars Cvrandi Odontol.* 1981;8(2):60-8.
-

-
31. Carvalho ACP, Okamoto T. Cirurgia bucal: fundamentos experimentais aplicados à clínica. São Paulo: Panamericana; 1987.
32. Carvalho LH, D'Avila GB, Leão A, Gonçalves C, Haffajee AD, Socransky SS, et al. Scaling and root planing, systemic metronidazole and professional plaque removal in the treatment of chronic periodontitis in a Brazilian population II--microbiological results. *J Clin Periodontol*. 2005;32(4):406-11.
33. Carvalho PSP, Okamoto T, Carvalho ACP. The influence of intra-alveolar curettage on wound healing after tooth extraction. A histological study in rats. *J Nihon Univ Sch Dent*. 1982;24(1):28-34.
34. Carvalho PSP. Influência da curetagem e irrigação e/ou aplicação de "Alveosan" sobre o processo de reparo em feridas de extração dental infectadas. Estudo histológico em ratos. [Livre-Docência]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Odontologia de Araçatuba; 1989.
35. Carvalho PSP, Araújo SV, Poi WR. Influência do Alveoliten no processo de reparo alveolar: em feridas de extração dental infectadas. Estudo histológico em ratos. *RGO*. 1990;38(4):301-4.
36. Carvalho PSP, Okamoto T, Barbosa DZ. Influência da limpeza cirúrgica e/ou aplicação de "Alveosan" no processo de reparo em feridas de extração dental infectadas: estudo histológico em ratos. *Rev odontol UNESP*. 1991;20(1):165-73.
37. Carvalho PSP, Poi WR, Garcia Júnior IR. Tratamento preventivo da alveolite: aplicação intra-alveolar de Alveoliten ou de Alveosan. Estudo histológico em ratos. *RGO*. 1992;40(4):285-8.
38. Caso A, Hung LK, Beirne OR. Prevention of alveolar osteitis with chlorhexidine: a meta-analytic review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;99(2):155-9.
39. Catellani JE. Review of factors contributing to dry socket through enhanced fibrinolysis. *J Oral Surg*. 1979;37(1):42-6.
-

40. Catellani JE, Harvey S, Erickson SH, Cherkin D. Effect of oral contraceptive cycle on dry socket (localized alveolar osteitis). *J Am Dent Assoc.* 1980;101(5):777-80.
41. Caufield PW, Allen DN, Childers NK. Bactericidal effect of iodine and hydrogen peroxide against suspected periodontopathogens. *J Dent Res.* 1986;65:267.
42. Chapnick P, Diamond LH. A review of dry socket: a double-blind study on the effectiveness of clindamycin in reducing the incidence of dry socket. *J Can Dent Assoc.* 1992;58(1):43-52.
43. Chenu C, Colucci S, Grano M, et al. Osteocalcin induces chemotaxis, secretion of matrix proteins and calcium-mediated intracellular signaling in human osteoclast-like cells. *J Cel Biol.* 1994;127:1149-58.
44. Chiapasco M, Crescentini M, Romanoni G. The extraction of the lower third molars: germectomy or late avulsion?. *Minerva Stomatol.* 1994;43(5):191-8.
45. Clark WB, Magnusson I, Walker CB, Marks RG. Efficacy of Perimed antibacterial system on established gingivitis. (I). Clinical results. *J Clin Periodontol.* 1989;16(10):630-5.
46. Cohen ME, Simecek JW. Effects of gender-related factors on the incidence of localized alveolar osteitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;79(4):416-22.
47. Colby RC. The general practitioner's perspective of the etiology, prevention, and treatment of dry socket. *Gen Dent.* 1997;461-7.
48. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL, Scroen FJ. *Patologia Estrutural e Funcional.* 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996.
49. Crawford JY. Dry sockets after extraction. *Dental Cosmos.* 1896;38(11):929-31.
50. Cryer PE, Haymond MW, Santiago JV, Shah SD. Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking-associated hemodynamic and metabolic events. *N Engl J Med.* 1976;295(11):573-7.
-

-
51. Cullinan-bove K, Koos RD. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor expression in the rat uterus: rapid stimulation by estrogen correlates with estrogen-induced increases in uterine capillary permeability and growth. *Endocrinology*. 1993;133(2):829-37.
52. Cury A, Castro AL, Okamoto T, Sanches MG, Carvalho PSP. Influência do Alveosan sobre o processo de reparo perturbado de feridas de extração dental: estudo histológico em ratos. *Rev Odontol UNESP*. 1983;12(1/2):29-35.
53. D'Antonio GM. Contaminação pós-exodontica do alvéolo dental de ratos. Estudo microbiológico e histológico. [Doutorado]. Araçatuba (SP): Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Odontologia de Araçatuba; 1984.
54. Davis WM, Jr., Buchs AU, Davis WM. The use of granular gelatin-tetracycline compound after third molar removal. *J Oral Surg*. 1981;39(6):466-7.
55. De Boer MP, Raghoobar GM, Stegenga B, Schoen PJ, Boering G. Complications after mandibular third molar extraction. *Quintessence International*. 1995;26(11):779-84.
56. De Melo Junior EJ, Raposo MJ, Lisboa Neto JA, Diniz MF, Marcelino Junior CA, Sant'Ana AE. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: microbiological and microscopic analysis. *Phytomedicine*. 2002;9(2):109-16.
57. Delilbasi C, Saracoglu U, Keskin A. Effects of 0.2% chlorhexidine gluconate and amoxicillin plus clavulanic acid on the prevention of alveolar osteitis following mandibular third molar extractions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94(3):301-4.
58. Ehmke B, Beikler T, Riep B, Flemmig T, Gobel U, Moter A. Intraoral dissemination of treponemes after periodontal therapy. *Clin Oral Investig*. 2004;8(4):219-25.
59. Erickson RI, Waite DE, Wilkison RH. A study of dry sockets. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1960;13:1046-50.
60. Faillo PS. Proteolytic enzyme treatment for the necrotic alveolar socket (dry socket). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1948;1(7):608-13.
-

61. Fazakerley M, Field EA. Dry socket: A painful post-extraction complication (a review). *Dent Update*. 1991;18:31-4.
62. Feres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Goodson JM, Socransky SS. Antibiotic resistance of subgingival species during and after antibiotic therapy. *J Clin Periodontol*. 2002;29(8):724-35.
63. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor and the regulation of angiogenesis. *Recent Prog Horm Res*. 2000;55:15-35.
64. Foreyt WJ. Parasitas de Animais de Laboratório. *Parasitologia Veterinária*. São Paulo: Roca; 2005. p. 188-9.
65. Fridrich KL, Olson RA. Alveolar osteitis following surgical removal of mandibular third molars. *Anesth Prog*. 1990;37(1):32-41.
66. Garcia AG, Grana PM, Sampedro FG, Diago MP, Rey JM. Does oral contraceptive use affect the incidence of complications after extraction of a mandibular third molar? *Br Dent J*. 2003;194(8):453-5; discussion 45.
67. Garcia Murcia MJ, Penarrocha Diago M. Alveolitis seca: Revisión de la literatura y metaanálisis. *Rev Acta Odontostomatol Esp*. 1994;44:25-34.
68. Garlet GP, Avila-Campos MJ, Milanezi CM, Ferreira BR, Silva JS. Actinobacillus actinomycetemcomitans-induced periodontal disease in mice: patterns of cytokine, chemokine, and chemokine receptor expression and leukocyte migration. *Microbes Infect*. 2005;7(4):738-47.
69. Goldman DR, Kilgore DS, Panzer JD, Atkinson WH. Prevention of dry socket by local application of lincomycin in Gelfoam. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1973;35(4):472-4.
70. Golomb G, Friedman M, Soskolne A, Stabholz A, Sela MN. Sustained release device containing metronidazole for periodontal use. *J Dent Res*. 1984;63(9):1149-53.
-

-
71. Gonçalves RJ. Alveolites: tratamento preventivo e curativo. *Bol Fac Odontol Piracicaba*. 1970;40:1-13.
72. Goodman LS, Gilman A. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1973.
73. Grandini R, D'Avenia R, Borgioli G. Post-extraction alveolitis. *G Stomatol Ortognatodonzia*. 1984;3(3):325-8.
74. Grossi SG, Zambon J, Machtei EE, Schifferle R, Andreana S, Genco RJ, et al. Effects of smoking and smoking cessation on healing after mechanical periodontal therapy. *J Am Dent Assoc*. 1997;128(5):599-607.
75. Gundberg CM. Biochemical markers of bone formation. *Clin Lab Med*. 2000;20(3):489-501.
76. Hall HD, Bildman BS, Hand CD. Prevention of dry socket with local application of tetracycline. *J Oral Surg*. 1971;29(1):35-7.
77. Hansen EH. Alveolitis sicca dolorosa (dry socket): frequency of occurrence and treatment with trypsin. *J Oral Surg Anesth Hosp Dent Serv*. 1960;18:409-16.
78. Heasman PA, Jacobs DJ. A clinical investigation into the incidence of dry socket. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1984;22:115-22.
79. Hedström L, Sjögren P. Effect estimates and methodological quality of randomized controlled trials about prevention of alveolar osteitis following tooth extraction: a systematic review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;103(1):8-15.
80. Hermes CB, Hilton TJ, Biesbrock AR, Baker RA, Cain-Hamlin J, McClanahan SF, et al. Perioperative use of 0.12% chlorhexidine gluconate for the prevention of alveolar osteitis: efficacy and risk factor analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998;85(4):381-7.
-

81. Herrmann AK, Baeza E. Alveolites seca e úmida. *Atual Odontol Bras.* 1984;1(1):1-9.
82. Hooley JR, Golden DP. The effect of polylactic acid granules on the incidence of alveolar osteitis after mandibular third molar surgery. A prospective randomized study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;80(3):279-83.
83. Houston JP, McCollum J, Pietz D, Schneck D. Alveolar osteitis: a review of its etiology, prevention, and treatment modalities. *Gen Dent.* 2002;50:457-63.
84. Huebsch RF. Clinical and histological study of alveolar osteitis. *J Oral Surg Anesth Hosp Dent Serv.* 1958;16(6):473-82.
85. Ingham HR, Selkon JB, Hale JH. The antibacterial activity of metronidazole. *J Antimicrob Chemother.* 1975;1(4):355-61.
86. Ingham HR, Hood FJ, Bradnum P, Tharagonnet D, Selkon JB. Metronidazole compared with penicillin in the treatment of acute dental infections. *Br J Oral Surg.* 1977;14(3):264-9.
87. Jensen JO. Alveolar osteitis (dry socket): A review. *Aust Dent J.* 1978;23(2):159-63.
88. Jerjes W, El-Maaytah M, Swinson B, Banu B, Upile T, D'Sa S, et al. Experience versus complication rate in third molar surgery. *Head Face Med.* 2006;2:14.
89. Jones KC, Silver J, Millar WS, Mandel L. Chronic submasseteric abscess: anatomic, radiologic, and pathologic features. *AJNR.* 2003;24:1159-3.
90. Julius LL, Hungerford RW, Nelson WJ, McKercher TC, Zellhoefer RW. Prevention of dry socket with local application of Terra-Cortril in gelfoam. *J Oral Maxillofac Surg.* 1982;40(5):285-6.
91. Kaziro GS. Metronidazole (Flagyl) and Arnica Montana in the prevention of post-surgical complications, a comparative placebo controlled clinical trial. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1984;22(1):42-9.
-

-
92. Kruger GO. Cirurgia bucal e maxilo-facial. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1984.
93. Kupfer SR. Prevention of dry socket with clindamycin. A retrospective study. N Y State Dent J. 1995;61(6):30-3.
94. Larsen PE. Use of chlorhexidine to prevent alveolar osteitis. J Oral Maxillofac Surg. 1990;48(11):1244-5.
95. Larsen PE. The effect of a chlorhexidine rinse on the incidence of alveolar osteitis following the surgical removal of impacted mandibular third molars. J Oral Maxillofac Surg. 1991;49(9):932-7.
96. Larsen PE. Alveolar osteitis after surgical removal of impacted mandibular third molars. Identification of the patient at risk. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1992;73(4):393-7.
97. Lawrence WT, Murphy RC, Robson MC, Hegggers JP. The detrimental effect of cigarette smoking on flap survival: an experimental study in the rat. Br J Plast Surg. 1984;37(2):216-9.
98. Lilly GE, Osbon DB, Rael EM, Samuels HS, Jones JC. Alveolar osteitis associated with mandibular third molar extractions. J Am Dent Assoc. 1974;88(4):802-6.
99. Lloyd CJ, Earl PD. Metronidazole: two or three times daily--a comparative controlled clinical trial of the efficacy of two different dosing schedules of metronidazole for chemoprophylaxis following third molar surgery. Br J Oral Maxillofac Surg. 1994;32(3):165-7.
100. MacGregor AJ. Treatment of dry socket by general dental practitioners. Br Dent J. 1967;122(2):63-5.
101. MacGregor AJ. Aetiology of dry socket: a clinical investigation. Br J Oral Surg. 1968;6:49-58.
102. MacGregor AJ, Hutchinson D. The effect of sulfonamides on pain and swelling following removal of ectopic third molars. Int J Oral Surg. 1975;4(5):184-90.
-

103. Mainous EG. Foreign body reaction after zinc oxide-eugenol packing in localized osteitis. *J Oral Surg.* 1974;32(3):207-8.

104. Mariano RC. Influência da "Rifocina M", associada ou não ao "Gelfoam", no processo de reparo alveolar em feridas de extração dental infectadas: estudo histológico em ratos. [Dissertação]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Odontologia de Araçatuba; 1991.

105. Mariano RC, Oliveira Filho OB, Costa RE. Irrigação com rifamicina B dietilamina como terapia para alveolite. *Rev Assoc Paul Cir Dent.* 1994;48(5):1495-7.

106. Mariano RC. Estudo comparativo sobre a influência da limpeza cirúrgica associada a diferentes substâncias antimicrobianas, como soluções irrigadoras, no processo de reparo perturbado pela alveolite em ratos. Análises histológica e microbiológica. [Doutorado]. Araçatuba (SP): Universidade Estadual Paulista; 1995.

107. Maruniak J, Clark WB, Walker CB, Magnusson I, Marks RG, Taylor M, et al. The effect of 3 mouthrinses on plaque and gingivitis development. *J Clin Periodontol.* 1992;19(1):19-23.

108. Meechan JG, Venchard GR, Rogers SN, Hobson RS, Prior I, Tavares C, Melnicenko S. Local anaesthesia and dry socket. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1987;16:279-84.

109. Meechan JG, Macgregor ID, Rogers SN, Hobson RS, Bate JP, Dennison M. The effect of smoking on immediate post-extraction socket filling with blood and on the incidence of painful socket. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1988;26:402-9.

110. Meira A. Influência da limpeza cirúrgica e irrigação e/ ou aplicação tópica de uma associação de triancinolona e antimicrobianos sobre o processo de reparo em feridas de extração dental infectadas. Estudo histológico em ratos. [Dissertação]. Araçatuba(SP): Universidade Estadual Paulista; 1993.

111. Meyer RA. Effect of anesthesia on the incidence of alveolar osteitis. *J Oral Surg.* 1971;29:724-6.

112. Mitchell DA. Nitroimidazole for alveolar osteitis. *J Oral Maxillofac Surg.* 1988;46(9):720.

-
113. Mitchell L. Topical metronidazole in the treatment of 'dry socket'. *Br Dent J.* 1984;25;156(4):132-4.
114. Mitchell R. Treatment of fibrinolytic alveolitis by a collagen paste (Formula K). A preliminary report. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1986;15(2):127-33.
115. Monaco G, Staffolani C, Gatto MR, Checchi L. Antibiotic therapy in impacted third molar surgery. *Eur J Oral Sci.* 1999;107(6):437-41.
116. Moore JW, Brekke JH. Foreign body giant cell reaction related to placement of tetracycline-treated polylactic acid: report of 18 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 1990;48(8):808-12.
117. Moses JJ, Lange CR, Arredondo A. Septic arthritis of the temporomandibular joint after the removal of third molars. *J Oral Maxillofac Surg.* 1998;56:510-2.
118. Mrzlikar I. [Rinsing with 6% solution of hydrogen peroxide in the treatment of postextraction pain]. *Zobozdrav Vestn.* 1990;45(1-2):35-6.
119. Mukai T, Otsuka F, Otani H, Yamashita M, Inagari K, Yamamura M, et al. TNF-alpha inhibits BMP-induced osteoblast differentiation through activating SAPK/JNK signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;356(4):1004-10.
120. Narikiyo M, Tanabe C, Yamada Y, Igaki H, Tachimori Y, Kato H, et al. Frequent and preferential infection of *Treponema denticola*, *Streptococcus mitis*, and *Streptococcus anginosus* in esophageal cancers. *Cancer Sci.* 2004;95(7):569-74.
121. Neidle EA, Yagiela JA. *Farmacologia e terapêutica para dentistas.* 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1989.
122. Newman MG. Anaerobic oral and dental infection. *Rev Infect Dis.* 1984;6 Suppl 1:S107-14.
-

123. Nicholson NC, Ramp WK, Kneisl JS, Kaysinger KK. Hydrogen peroxide inhibits giant cell tumor and osteoblast metabolism in vitro. *Clin Orthop Relat Res.* 1998;(347):250-60.
124. Nitzan D, Sperry JF, Wilkins TD. Fibrinolytic activity of oral anaerobic bacteria. *Arch Oral Biol.* 1978;23(6):465-70.
125. Nitzan DW. On the genesis of "dry socket". *J Oral Maxillofac Surg.* 1983;41(11):706-10.
126. Noroozi AR, Philbert RF. Modern concepts in understanding and management of the "dry socket" syndrome: comprehensive review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(1):30-5.
127. Oikarinen K. True and nonspecific alveolitis sicca dolorosa related to operative removal of mandibular third molars. *Proc Finn Dent Soc.* 1989;85(6):435-40.
128. Okamoto T, Russo MC. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. *Rev Fac Odontol Araçatuba.* 1973;2(2):153-64.
129. Okamoto T, Soler MH, Barroso JS. Implante de esponja de polivinil álcool associada a antibióticos e hemostático em alvéolos dentais. Estudo histológico em ratos. *Rev Odontol Unesp.* 1983;12(1/2):21-8.
130. Pankhurst CL, Lewis DA, Clark DT. Prophylactic application of an intra-alveolar socket medicament to reduce postextraction complications in HIV-seropositive patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;77(4):331-4.
131. Pell GJ. So-called dry socket. *J Am Dent Assoc.* 1934;21(6):1062-5.
132. Penarrocha M, Sanchis JM, Saez U, Gay C, Bagan JV. Oral hygiene and postoperative pain after mandibular third molar surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;92(3):260-4.
133. Piecuch JF, Arzadon J, Lieblich SE. Prophylactic antibiotics for third molar surgery: a supportive opinion. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995;53(1):53-60.
-

-
134. Poeschl PW, Eckel D, Poeschl E. Postoperative prophylactic antibiotic treatment in third molar surgery- a necessity?. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(1):3-8; discussion 9.
135. Poi WR. Estudo histológico do comportamento do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos ao implante de uma pasta à base de metronidazola 10% e lidocaína a 2%, indicada para o tratamento da alveolite. [Mestrado]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 1994.
136. Poi WR, Carvalho PSP, Okamoto T, Andrade ED, Panzarini SR. Influência da pasta à base de metronidazol a 10 por cento e lidocaína a 2 por cento sobre o processo de reparo em alvéolo dental infectado. Análise histológica e histométrica em ratos. *Rev Odontol UNESP.* 1998;27(1):53-72.
137. Poi WR et al. Efeito da pasta à base de metronidazol, lidocaína e ascorbósilone C sobre o processo de reparo de alvéolos dentais infectados de ratos. *Rev Bras Cirg Impl.* 2000;7(28):22-80.
138. Ragno JR, Jr., Szkutnik AJ. Evaluation of 0.12% chlorhexidine rinse on the prevention of alveolar osteitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1991;72(5):524-6.
139. Ramp WK, Arnold RR, Russell JE, Yancey JM. Hydrogen peroxide inhibits glucose metabolism and collagen synthesis in bone. *J Periodontol.* 1987;58(5):340-4.
140. Rodeheaver G, Turnbull V, Edgerton MT, Kurtz L, Edlich RF. Pharmacokinetics of a new skin wound cleanser. *Am J Surg.* 1976;132(1):67-74.
141. Rodrigues MTV. Análise microscópica e histométrica comparativa da aplicação de uma pasta à base de metronidazol e da irrigação com iodeto de sódio e peróxido de hidrogênio para o tratamento de alvéolos dentários infectados de ratos. [Dissertação]. Bauru (SP): Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2007.
142. Rodrigues TS, Poi WR, Panzarini SR, Bezerra CS, Silva JL. Histological investigation of a 10% metronidazole and 2% lidocaine dressing on wound healing in rats. *Minerva Stomatol.* 2006;55(11-12):619-26.
143. Rood JP, Murgatroyd J. Metronidazole in the prevention of 'dry socket'. *Br J Oral Surg.* 1979;17(1):62-70.
-

144. Rood JP, Danford M. Metronidazole in the treatment of "dry socket". *Int J Oral Surg.* 1981;10(5):345-7.
145. Rozanis J, Schofield I, Kogon SL. Simulated dry socket: delayed healing of extraction wounds in rats. *Dent J.* 1976;42(1):41-5.
146. Rud J. Removal of impacted lower third molars with acute pericoronitis and necrotizing gingivitis. *Br J Oral Surg.* 1970;7:153-9.
147. Rutledge JL, Marcoot RM. Terra-Cortril/Gelfoam for reduction of the incidence of localized osteitis following mandibular third molar removal. *J Oral Med.* 1984;39(1):51-3.
148. Saad Neto M, Okamoto T, Callestini EA, Carvalho ACP. Influência da irrigação do alvéolo dentário com anestésicos locais, na cronologia do processo de reparo em feridas de extração dental. Estudo histológico em ratos. *Rev Assoc Paul Cir Dent.* 1982;36(6):606-16.
149. Sabath LD. Synergy of antibacterial substance by apparently known mechanisms. *Antimicrob Agents Chemother.* 1968:210-7.
150. Sasaki T, Okamoto T. Topical treatment of infections of alveolar socket infections following dental extraction. *Rev Bras Odontol.* 1968;25(150):82-92.
151. Schiott CR, Loe H, Jensen SB, Kilian M, Davies RM, Glavind K. The effect of chlorhexidine mouthrinses on the human oral flora. *J Periodontal Res.* 1970;5(2):84-9.
152. Schneider HG, Franke K. [Clinical test of various oral applications of hydrogen peroxide]. *Stomatol DDR.* 1989;39(11):756-61.
153. Schofield ID, Warren BA, Rozanis J. Review of localized osteitis. *J Can Dent Assoc.* 1980;46(3):189-94.
154. Schow SR. Evaluation of postoperative localized osteitis in mandibular third molar surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1974;38(3):352-8.
-

-
155. Schroff J, Bartels HA. Painful sockets after extractions. A preliminary report on the investigation of their etiology, prevention and treatment. *Abstr Dent Res J.* 1929;9(1):81-8.
156. Serrati S, Margheri F, Bruschi S, D'Alessio S, Pucci M, Fibbi G, et al. Plasminogen activators and inhibitor type-1 in alveolar osteitis. *Eur J Oral Sci.* 2006;114(6):500-3.
157. Shinn DLS. Metronidazole in acute ulcerative gingivitis. *Lancet.* 1962;1:1191.
158. Silva LJ, Poi WR, Panzarini SR, Rodrigues TS, Simonato LE. Clinical evaluation of an ointment with 10% metronidazole and 2% lidocaine in the treatment of alveolitis. *Minerva Stomatol.* 2006;55(7-8):431-6.
159. Silverstein P. Smoking and wound healing. *Am J Med.* 1992;93(1A):22S-4S.
160. Simpson HE. The healing of extraction wounds. *Br Dent J.* 1969;126(12):550-7.
161. Sisk AL, Hammer WB, Shelton DW, Joy ED, Jr. Complications following removal of impacted third molars: the role of the experience of the surgeon. *J Oral Maxillofac Surg.* 1986;44(11):855-9.
162. Soares AF, Freitas TMC, Nest MAM, Silva MAM, de Medeiros AMC, So LB. Displasia cleidocraniana: relato de caso clínico. *Rev Brasileira de Patologia Oral.* 2005;4(1):38-4.
163. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques.* 1994;17(4):788-92.
164. Souza EW, Barbosa JRA. Procedimentos odontológicos em pacientes submetidos a radioterapia de cabeça e pescoço. *Odontol Mod.* 1991;18(5):23-5.
165. Swanson AE. Reducing the incidence of dry socket: a clinical appraisal. *J Can Dent Assoc.* 1966;32(1):25-33.
-

166. Swanson AE. A double-blind study on the effectiveness of tetracycline in reducing the incidence of fibrinolytic alveolitis. *J Oral Maxillofac Surg.* 1989;47:165-7.

167. Sweet JB, Butler DP, Drager JL. Effects of lavage techniques with third molar surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1976;41(2):152-68.

168. Sweet JB, Butler DP. Increased incidence of postoperative localized osteitis in mandibular third molar surgery associated with patients using oral contraceptives. *Am J Obstet Gynecol.* 1977;127(5):518-9.

169. Sweet JB, Butler DP. Predisposing and operative factors: effect on the incidence of localized osteitis in mandibular third-molar surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1978;46(2):206-15.

170. Sweet JB, Butler DP. The relationship of smoking to localized osteitis. *J Oral Surg.* 1979;37(10):732-5.

171. Syrjanen SM, Syrjanen KJ. A new combination of drugs intended to be used as a preventive measure for the postextraction complications. A preliminary report. *Int J Oral Surg.* 1981;10(1):17-22.

172. Takeuchi T, Kato N, Watanabe K, Morimoto K. Mechanism of oxidative DNA damage induction in a strict anaerobe, *Prevotella melaninogenica*. *FEMS Microbiol Lett.* 2000;192(1):133-8.

173. Thompson HL, Wilton JM. Effects of anaerobiosis and aerobiosis on interactions of human polymorphonuclear leukocytes with the dental plaque bacteria *Streptococcus mutans*, *Capnocytophaga ochracea*, and *Bacteroides gingivalis*. *Infect Immun.* 1991;59(3):932-40.

174. Torres-Lagares D, Serrera-Figallo MA, Romero-Ruiz MM, Infante-Cossio P, Garcia-Calderon M, Gutierrez-Perez JL. Update on dry socket: a review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2005;10(1):81-5;77-81.

175. Torres-Lagares D, Gutierrez-Perez JL, Infante-Cossio P, Garcia-Calderon M, Romero-Ruiz MM, Serrera-Figallo MA. Randomized, double-blind study on effectiveness of intra-

alveolar chlorhexidine gel in reducing the incidence of alveolar osteitis in mandibular third molar surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2006;35(4):348-51.

176. Toy DM. TI and D treatment of acute alveolitis. *CDS Rev.* 1980;73(6):25-8.

177. Trieger N, Schlagel GD. Preventing dry socket: a simple procedure that works. *J Am Dent Assoc.* 1991;122:67-8.

178. Tsirlis AT, Lakovidis DP, Parissis NA. Dry socket: frequency of occurrence after intraligamentary anesthesia. *Quintessence Int.* 1992;23(8):575-7.

179. Turner PS. A clinical study of "dry socket". *Int J Oral Surg.* 1982;11(4):226-31.

180. Verri RA, Campos GM, Santini CE. Odontogramas: diagnóstico e tratamento das alveolites. *Odontol Mod.* 1978;5(6):4-9.

181. Vezeau PJ. Dental extraction wound management: medicating postextraction sockets. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58(5):531-7.


182. Viana DR. A terramicina no tratamento tópico da alveolite (alvéolo seco). *Rev Bras Odontol.* 1958;16(95):320-8.

183. Videau D, Blanchard JC, Sebald M. Bucco-dental flora. Sensitivity to antibiotics and value of the spiramycin-metronidazole combination. *Ann Microbiol (Paris).* 1973;124(4):505-16.

184. Vieira JGH. Considerações sobre os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo e sua utilidade prática. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 1999;43(6):415-22.

185. Weibel ER. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int Rev Cytol.* 1969;26:235-302.

186. Wenstrom J, Lindhe J. Effect of hydrogen peroxide on developing plaque and gingivitis in man. *J Clin Periodontol*. 1979;6:115-30.
187. Yamalik MK, Yucetas S, Abbasoglu U. Effects of various antiseptics on bacteremia following tooth extraction. *J Nihon Univ Sch Dent*. 1992;34(1):28-33.
188. Yamshita M, Otsuka F, Mukai T, Otani H, Inagaki K, Miyoshi T, et al. Simvastatin antagonizes tumor necrosis factor-alpha inhibition of bone morphogenetic proteins-2-induced osteoblast differentiation by Smad signaling and Ras/Rho-mitogen-activated protein kinase pathway. *J Endocrinol*. 2008;196(3):601-13.
189. Ygge J, Brody S, Korsan-Bengtzen K, Nilsson L. Changes in blood coagulation and fibrinolysis in women receiving oral contraceptives. Comparison between treated and untreated women in a longitudinal study. *Am J Obstet Gynecol*. 1969;104(1):87-98.
190. Zhang EX, Zhang KH, Geng WQ, Zhang GX. Experimental "dry socket" and evaluation of common clinical treatments. *Chin Med J (Engl)*. 1983;96(7):539-46.
191. Zied IC, Milanezi LA, Okamoto T, Okamoto R. Estudo histológico do processo de reparo alveolar em ratos após exodontia e pressão com compressa de gaze embebida em solução de peróxido de hidrogênio. *Rev Odontol Araçatuba*. 2005;26(1):9-13.
-



Anexos



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)235-8000 – FAX (0XX14)223-4679

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

CEEPA-Proc. Nº 26/2006

Bauru 16 de fevereiro de 2007.

Senhor Professor,

O projeto de pesquisa encaminhado a esta Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais, denominado "**Análise morfométrica e molecular da alveolite induzida em ratos e de diferentes modalidades de tratamento**", de autoria de Camila Lopes Cardoso foi enviado ao relator para avaliação.

O parecer favorável do Relator foi aceito e **aprovado** "*ad referendum*" desta Comissão, considerando que não existem infrações éticas.

Atenciosamente,

Profª Drª Marília Afonso Rabelo Buzalaf
Presidente da Comissão de Ética no
Ensino e Pesquisa em Animais

Prof. Dr. Osny Ferreira Júnior
Docente do Departamento de Estomatologia



CENTRO VETERINÁRIO DE BAURU

CLÍNICA - CIRURGIA - VACINAÇÕES - INTERNAÇÕES - RAIO-X
LABORATÓRIO CLÍNICO - ODONTOLOGIA - ENDOSCOPIA
PLANTÃO PERMANENTE - AMBULÂNCIA - ATENDIMENTO DOMICILIAR

AV. GETÚLIO VARGAS, 15-28 - CEP 17017-339 - JD.AMÉRICA - BAURU - S.P. - FONE/FAX: (14) 3224-3183

EXAMES COPROPARASITOLÓGICOS – *Rattus norvegicus*

REQUISITANTE: CAMILA LOPES CARDOSO

MÉDICAS VETERINÁRIAS: DENISE MELO MORETTI E AMANDA KELLER SIQUEIRA
(CENTRO VETERINÁRIO DE BAURU)

AMOSTRAS: "POOL" DE FEZES DAS CAIXAS

**OBS: ESTE TIPO DE COLETA NÃO PERMITE A PESQUISA DE *Oxyuris* sp, UMA VEZ QUE O MESMO DEVE SER
OBTIDO (QUANDO PRESENTE) COM A UTILIZAÇÃO DO MÉTODO DA "FITA ADESIVA"

MÉTODOS UTILIZADOS: FLUTUAÇÃO (SULFATO DE ZINCO 33%) E SEDIMENTAÇÃO

RESULTADOS:

1. CAIXA 8
 - OBSERVADO *Entamoeba muris* (1 POR CAMPO)
2. CAIXA 9
 - OBSERVADO *Entamoeba muris* (1 POR 2 CAMPOS)
3. CAIXA 10
 - OBSERVADO *Entamoeba muris* (1 POR 2 CAMPOS)
4. CAIXA 11
 - NADA DIGNO DE NOTA (NDN)
5. CAIXA 12
 - OBSERVADO *Entamoeba muris* (4 POR CAMPO)
6. CAIXA 13
 - NDN
7. CAIXA 14
 - OBSERVADO *Entamoeba muris* (1 POR CAMPO)


Denise P. Melo Moretti
Médica Veterinária
CRMV 8035 Cel: 9771-3094


Amanda Keller Siqueira
Médica Veterinária
CRMV - SP 14.627

**SEGUNDO WILLIAM J. FOREYT (PARASITOLOGIA VETERINÁRIA – MANUAL DE REFERÊNCIA, EDITORA
ROCA. 5ª EDIÇÃO, 2005, P. 188 – 189) :

- *Entamoeba muris* – PARASITA DE CECO E CÓLON DE RATOS, NÃO PATOGENICO.

BAURU, 28 DE JANEIRO DE 2008

Dra. Denise P. Melo Moretti
CRMV-SP 8035

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)