

ROSELI DEOLINDA RIBEIRO

**ESTUDO RADIOAUTOGRÁFICO DOS EFEITOS DA
HIDROCORTISONA NO LIGAMENTO PERIODONTAL DE
INCISIVOS INFERIORES DE CAMUNDONGOS**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado
em Odontologia da Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas
como parte dos requisitos para a
obtenção do grau de Doutor em Ciências
– Área de concentração Biologia e
Patologia Buco-dental.

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

FEVEREIRO / 1999

ROSELI DEOLINDA RIBEIRO

**ESTUDO RADIOAUTOGRÁFICO DOS EFEITOS DA
HIDROCORTISONA NO LIGAMENTO PERIODONTAL DE
INCISIVOS INFERIORES DE CAMUNDONGO**

TESE DE DOUTORADO

**ORIENTADORA : PROFESSORA DOUTORA
DARCY DE OLIVEIRA TOSELLO**

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83

CPG, ____/____/____

BANCA EXAMINADORA :

D. Tosello
Assinatura do Orientador

PROFESSORA DOUTORA MARTHA DE OLIVEIRA GUERRA

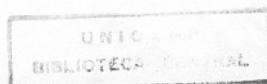
PROFESSOR DOUTOR LUÍS CARLOS SPOLIDÓRIO

PROFESSORA DOUTORA MARIA LUÍSA OZORES POLACOW

PROFESSORA DOUTORA DENISE MADALENA PALOMARI SPOLIDÓRIO

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

FEVEREIRO / 1999



UNIDAC	BC
Nº DE FOLHA	1
V.	
TOMBO BC	38450
PROD.	229/99
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	24/08/99
Nº CPD	

CM-00125584-1

Ficha Catalográfica

R354e Ribeiro, Roseli Deolinda.
 Estudo radioautográfico dos efeitos da hidro cortisona no
 ligamento periodontal de incisivos inferiores de camundongos. /
 Roseli Deolinda Ribeiro. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 1999.
 93f. : il.

 Orientadora : Profª Drª Darcy de Oliveira Tosello.
 Tese (Doutorado) -- Universidade Estadual de Campinas,
 Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

 1. Ligamentos. 2. Periodontia. 3. Histologia. 4. Hidro cortisona.
 5. Autoradiografia. 6. Incisivos (Dental). 7. Camundongo como
 animal de laboratório. I. Tosello, Darcy de Oliveira. II.
 Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de
 Piracicaba. III. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB / 8 – 6159, da
 Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 25 de Fevereiro de 1999, considerou a candidata ROSELI DEOLINDA RIBEIRO aprovada.

1. Profa. Dra. DARCY DE OLIVEIRA TOSELLO *D. D. Tosello*

2. Profa. Dra. MARTHA DE OLIVEIRA GUERRA *Martha de Oliveira Guerra*

3. Prof. Dr. LUIS CARLOS SPOLIDÓRIO *Luis Carlos Spolidório*

4. Profa. Dra. MARIA LUIZA OZORES POLACOW *M. L. Polacow*

5. Profa. Dra. DENISE MADALENA PALOMARI SPOLIDÓRIO *D. Palomari Spolidório*

À Marina Girotto Ribeiro,

A melhor incentivadora de minha carreira docente e quem me deu o grande impulso para o curso de doutoramento *in memoriam*.

RESUMO

A atuação da hidrocortisona sobre o metabolismo de proteínas foi estudada neste modelo experimental, através de radioautografia. A concentração de grãos de prata foi averiguada em áreas junto ao dente e junto ao osso; também foi determinada, como controle interno, na matriz dentinária. Constatou-se que sob a microscopia de luz a maior parte da incorporação de ^3H -glicina ocorreu 1,0h após a injeção deste isótopo no grupo de animais tratados pela hidrocortisona. Nos animais-controle a maior incorporação geralmente ocorreu 4,0h após a injeção do aminoácido radioativo. Na região junto ao dente, a incorporação foi geralmente maior do que na região junto ao osso. Nos demais tempos, 24; 48 e 96 horas após a injeção de ^3H -glicina, tanto os animais controles como os tratados mostraram menores valores de incorporação do aminoácido radioativo. Isso sugere que a hidrocortisona pode ter interferido no metabolismo das proteínas do ligamento periodontal. A região de dentina mostrou incorporação da ^3H -glicina em maior extensão, por não serem suas proteínas renovadas como o são aquelas do ligamento periodontal.

Entretanto, como entre incisivos impedidos e desimpedidos de animais controles e tratados não se constatou diferenças estatisticamente significativas, através das contagens de grãos de Ag à microscopia de luz, sugere-se o emprego de outra metodologia, ou outro tipo de aferição dos grãos de Ag, para a averiguação dos subtipos de proteínas do ligamento periodontal de incisivos de camundongos.

ABSTRACT

The role of hydrocortisone over the proteins metabolism, was studied in this work through radioautography. The silver grains concentration was verified in areas next to the tooth and next to the bone; also, they were determined in the dentin matrix as internal control. Under light microscopy, it was observed that the major part of ^3H -glycine concentration, had occurred 1 hour after the injection of this isotope, in the group of animals treated with hydrocortisone. In the control animals, the major incorporation generally occurred 4 hours after the injection of ^3H -glycine. In the area next to the tooth, the incorporation was always greater than in the area next to the bone. In the other times, 24, 48 and 96 hours after the injection of ^3H -glycine, both groups of animals (treated and control) showed lower values of radioactive incorporation.

This suggested that, hydrocortisone interfered in the proteins metabolism of the periodontal ligament. The dentin area, showed incorporation of ^3H -glycine in greater extension, by the fact that its proteins are more stable than those of the periodontal ligament.

Once among impeded and unimpeded incisives of treated and control animals was not observed any difference under light microscopy, we suggest the employment of other methodology to verify the subtypes of proteins of the periodontal ligament from mice incisives.

AGRADECIMENTOS

Ao amanhecer, as confusões de ontem

São coisas do passado :

Há um novo dia à nossa frente-

Um dia que nunca existiu!

Hall Borland

Sou grata a:

Deus que, na oportunidade desta existência, deu-me entendimento para encarar os obstáculos de frente: superá-los ou contorná-los e pedir-Lhe auxílio sempre que me for necessário para escolher entre ambas as atitudes.

Cristo Jesus, meu Mestre Maior, por ter tanto e tantos com quem aprender e compartilhar mais esta etapa de Vida!

Valdomiro Nóra Ribeiro cujo exemplo e preferência pelo estudo e leituras construtivas, frutificaram em nós, seus três filhos, a curiosidade e o prazer de procurar o *saber* um pouco mais.

Meus manos Antonio Florisvaldo Giroto Ribeiro e Gislene Aparecida Ribeiro da Cruz e ao meu cunhado José de Alencar Cruz, pelo apoio, incentivo, confiança e participação nessa e em tantas outras etapas que os laços que, há muito, ultrapassaram nossa fraternidade, nos têm feito conviver.

Meus amigos Arlita Coelho de Pinho, Giselle e Álvaro Amaral, Maria Cristina Zaia, Maria do Rosário Garcia Zaia, Sílvia E. Gerken e Sylvia Castelo Branco Caldeira que, ao me abrirem seus lares, abriram-me também a feliz convivência com suas nobres almas.

Miralva Aparecida de Jesus da Silva e Luis Hennequin pela disponibilidade constante, auxílio real, o incentivo, a crítica construtiva e o exemplo único de desprendimento e dignidade com que estiveram sempre presentes em várias etapas de minha vida coincidentes com esse curso e esse trabalho.

Bióloga Sandra Rezende de Lima cujo auxílio, "secretariamento", trabalho, incentivo e apoio durante minha ausência do Departamento de Morfologia / UFMG, foram imprescindíveis.

Bióloga Eliene Aparecida Orsini Narvaes Romani e à Técnica Ivani Odas Demétrio, cuja paciência, solidariedade e apoio profissional possibilitaram meu aprendizado e trabalho nos laboratórios da Morfologia da FOP.

Maria das Graças Ribeiro cujas palavras, as críticas, a confiança amiga, chegaram sempre nos momentos certos de enxugar as lágrimas ou de beber do vinho da alegria durante este curso e esse trabalho.

Sandra M. G. Maruch Tonelli, Maria Eloíza de Oliveira Teles, Prof. Dr. José Carlos Nogueira, Flávia de Oliveira, Yeda Xênia Sant'Ana e Cleusa G. Fonseca cujo interesse, incentivo e solidariedade em muito ampararam minha ausência da UFMG.

Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes, Profa. Dra. Cláudia Maria Navarro, Prof. Luis Fernando Beraldo, Profa. Dra. Vanessa Monteiro Pedro, Prof^a Dr^a. Maria Luiza O Polacow, Prof. Dr. Frab Norberto Bóscolo, Prof. Dr. Mathias Vitti, às secretárias Solange Pires Fortini (UFMG), Suzete R.T. Neder (FOP), Roméria C. Carneiro Sacramento (UFMG), à mestranda Bióloga Silvana Furlan Nunes (FOP), ao Técnico João Leite (FOP) à Bibliotecária Heloisa Maria Ceccotti e à auxiliar Ana Paula Barbosa Augusto (FOP) pelo imprescindível "apoio logístico" e pelos incentivos.

Técnico (UFMG) Francisco Márcio Oliveira Dias (*in memoriam*) cujo auxílio, solidariedade, e alegre convívio me são tão caros.

Técnica Maria Aparecida S. Varella (FOP) cuja colaboração e inúmeros inofensivos estratagemas, de alegre e inesquecível memória, tanto me apoiaram em vários momentos do curso.

Adriana e Carlos Alberto Mendes, Antonio Giro Júnior, Itamar de Carvalho Ribeiro, Andrea Beatriz Bonisi, Inelina C. Vasconcelos, Luis Carlos e Denise Spolidório, Gilson de Pinho Tavares, Evanisi T. Palomares, Martha de O. Guerra, Iolanda Marques da Silva Murta, Jodel Nunes da Silva, Maria Amélia A. Ferreira e Dr Omar C. Ferreira, Roselaine Palhares Alves, Karime Z. Elias, Sérgio Pereira Jr., Maria Cecília M. Campos, Sidney Castro e também a toda a Espiritualidade Amiga, que com suas presenças, tarefas, incentivo, apoio, preces e "torcidas" muito me auxiliaram a atravessar o longo e penoso caminho desse curso e trabalho.

Marina Marques da Silva Murta que, com alegria, eficiência, profissionalismo e carinho, realizou toda a parte de Matemática desse trabalho.

Professor Dr. Tomás Aroldo da Mota Santos (ex-diretor do ICB/ UFMG) e Prof. Lair Aguilar Rennó (ex Pró-reitor de Administração da UFMG, pela liberação de meus encargos docentes para a realização desse curso.

Prof.^a Dr.^a Sônia Vieira que com profissionalismo e simpatia realizou toda a parte de Estatística deste trabalho.

Prof. Dr. José Merzel pela orientação com que se fez presente em meu curso de doutoramento e neste trabalho, entre março de 1992 e novembro de 1998 e eventual auxílio posterior.

Dr^a Chistine S. Wajtershan, Dr. Roberto Lúcio V. de Souza, Dr^a Rose Meire Simões, Dr^a Cláudia Valin e à Terapeuta Maria Sílvia Macedo que, com profissionalismo e carinho, solidariedade e firmeza, fizeram com que tirasse de mim mesma as forças e confiança que não me eram conhecidas.

Colegas de curso de Biologia e Patologia Buco-dental, alguns professores da FOP e a todos os que por dever de ofício, ou por solidariedade anônima, colaboraram de alguma forma para a realização desse trabalho.

Meus colegas de cerveja e jantar das 5^{as}. feiras, nos períodos letivos do curso na FOP, pela oportunidade de conhecê-los (com suas famílias e/ou amigos) e desfrutar alguns dos melhores momentos de convivência do curso .

Animais (os "mundongos") que indefesos, subjugados, agredidos e assustados, eu sacrifiquei, compungida e penalizada, em nome do que me ensinaram a chamar Ciência.

"Sr" Emmanuel, Cris, Mana, Jú, EmiGraças, Mi, Ita, Li, Arlitinha, Zé, Ivani, Eló, Sandra, Júlio César, Spoli, Sandrinha, Marquinhos, Landa, Sílvia Elizabeth e "da Guarda", com quem tenho aprendido que é no cadinho do cotidiano, das pequenas coisas, pequenos gestos, das pequenas desavenças e gentilezas, que a gente forja, com harmonia, a grande amizade que nos enlaça, embasa e impulsiona para nossa meta e nossa evolução espiritual !

Agradecimento Especial.

A Prof^a Dr^a Darcy de Oliveira Tosello que, com profissionalismo, solidariedade e boa vontade, assumiu a orientação desse árido trabalho, em dezembro de 1998, sem deixar de me oferecer, com o apoio indispensável, sua alegria e otimismo mesmo em momentos difíceis, sua compreensão de minhas limitações, bem como daquelas desse trabalho!

O composto radioativo $^3\text{HGly}$ foi adquirido através do Processo 88/0147-0 da FAPESP pelo Prof. José Merzel, Professor Titular Aposentado do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP.

*Dá-me, Senhor, que hoje eu seja melhor do que ontem.
Que eu possa fazer hoje, pelo meu próximo,
O bem que não pude fazer ontem!*

Roseli Deolinda Ribeiro

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT.....	ii
AGRADECIMENTOS	iii
EPÍGRAFE	xi
LISTAS	xv
Abreviaturas	xvi
Ilustrações	xvii
INTRODUÇÃO	01
REVISÃO DE LITERATURA	07
MATERIAL E MÉTODOS	19
RESULTADOS	25
Dentes impedidos, junto ao dente, região 1	32
Dentes impedidos, junto ao osso, região 1	33
Dentes impedidos, junto ao dente, região 3	34
Dentes impedidos, junto ao osso, região 3	35
Dentes impedidos, junto ao dente, região 5	36
Dentes impedidos, junto ao osso, região 5	37

Dentes desimpedidos, junto ao dente, região 1	38
Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 1	39
Dentes desimpedidos, junto ao dente, região 3	40
Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 3	41
Dentes desimpedidos, junto ao dente, região 5	42
Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 5	43
 DISCUSSÃO	 51
Comparações entre incisivo direito impedido com esquerdo desimpedido nos animais tratados	 53
Comparações entre incisivos direito impedido com esquerdo desimpedido nos animais controles	 56
Comparações entre compartimentos LJD e LJO entre animais tratados e controles	 58
Comparação entre animais tratados e controles em relação ao tempo pós- administração de $^3\text{HGly}$	 65
Comparações entre as regiões 1, 3 e 5 nos animais controles	66
Comparações entre compartimentos, estudo da erupção e aplicação ou não de succinato de hidrocortisona	72
 CONCLUSÕES	 77
 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 81
 APÊNDICE	 93

LISTAS

*Ao bom, revelo bondades
ao mau também.
Assim sempre brota a bondade.
Lao Tse*

LISTA DE ABREVIATURAS

LP = ligamento periodontal

3HPro = prolina triciada

3HGly = glicina triciada

3HThy = timidina triciada

Rel = retículo endoplasmático liso

mRNA = ácido ribonucleico – mensageiro

FACIT = colágeno – fibrila associado com tripla hélice interrompida

LJD = ligamento periodontal junto ao dente

LJO = ligamento periodontal junto ao osso

D = dentina

P/D = pré-dentina

o a = osso alveolar

o d = odontoblastos

(id) = mesmo autor

(apud) = citado por

et al. = et alli = e colaboradores

ACTH = hormônio adrenocorticotrófico

CTF = células fibroblásticas – tronco

EDTA = ácido etilenodiaminotetracético

I I E = incisivo inferior esquerdo

I I D = incisivo inferior direito

C = grupo controle

T = grupo tratado

LD = ligamento periodontal junto ao dente

LOs = ligamento periodontal junto ao osso

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1pág.29

Quadro 2pág.30

Quadro 3pág.31

Tabela 1.1e1.2pág.32

Tabela 1.3e1.4pág.33

Tabela 1.5e1.6.....pág.34

Tabela 1.7e1.8.....pág.35

Tabela 1.9e1.10.....pág.36

Tabela 1.11e1.12.....pág.37

Tabela 1.13e1.14.....pág.38

Tabela 1.15e 1.16.....pág.39

Tabela 1.17e1.18.....pág.40

Tabela 1.19e1.20.....pág.41

Tabela 1.21e1.22.....pág.42

Tabela 1.23e1.24.....pág.43

Figura 1.....pág. 21

Figura 2pág.22

Figura 3pág.23

Figura 4.1.....pág.45

Figura 4.2pág.46

Figura 5pág.47

Figura 6pág.48

Figura 7pág.49

Figura 8pág.50

Planilha resumida com dados dos radioautogramas:

- somatórias, médias e logarítmo neperiano apêndice pág. 93

Planilhas com as retas de regressão referentes os compartimentos,

- regiões e situações da erupção.....apêndice pág. 93

INTRODUÇÃO

*... ninguém consegue impedir que
as trevas da noite se transformem
nas luzes do alvorecer!*

Emmanuel

Introdução

"Os dentes são mais do que órgãos mastigatórios. Por suas propriedades peculiares, são valiosos indicadores biológicos que espelham e registram, durante seu desenvolvimento, o estágio metabólico do animal. Estes registros, ao contrário daquele dos ossos, não são transitórios, mas permanentemente gravados sobre o esmalte e a dentina, nos quais não ocorre reabsorção. os incisivos (de rato) se formam, calcificam e erupcionam continuamente através da vida do animal, mostrando em um dente, o ciclo vital completo desde o início até a maturidade"(SCHOUR & MASSLER 1942).

É interessante notar que o órgão dentário e seu periodonto constituem uma unidade morfofuncional única. Este complexo conjunto se forma lentamente; "as primeiras manifestações que indicam o início da odontogênese, em camundongos, ocorrem aos 13 dias de vida intra-uterina ", (COHN, S., 1957) .

"Mas é o ligamento periodontal a única estrutura que atua biofisicamente, permitindo que os dentes de mamíferos, de erupção limitada, ajustem suas posições enquanto permanecem firmemente ligados ao alvéolo ósseo", (LEKIC & McCULLOCH, 1996).

Estas particularidades têm levado muitos pesquisadores a eleger, como modelo biológico de estudo, os órgãos dentários e/ou seus periodontos, sob os mais diferenciados aspectos. Neste sentido, há um outro fator bastante importante a se considerar - os órgãos

Introdução

dentários e seus periodontos são singulares também em sua topografia, seu padrão de desenvolvimento, suas funções, suas movimentações fisiológicas contínuas e harmônicas e, além disso, pela intrínseca dependência dente-periodonto.

Aspecto interessante dessa interação em incisivos de ratos e camundongos, têm sido demonstrados em estudos sobre o ligamento periodontal, abrangendo: sua população celular; sua substância intercelular e as movimentações do dente em direção ao plano oclusal, entre outros. Como modelo biológico, os incisivos de lagomorfos e roedores (e especialmente os de rato e camundongo) têm se destacado mais do que os dentes de erupção limitada, especialmente nos estudos que envolvem as investigações dos mecanismos biológicos da erupção dentária. Assim, ROBINS (1973) observou que os incisivos de ratos são utilizados principalmente durante os movimentos mastigatórios, o que significa uma média diária de 69 - 76 minutos por dia em oclusão funcional. Segundo NESS, 1967 (*apud* ROBINS, 1973) as forças de mordida bem como o estresse oclusal (TAYLOR & BUTCHER, 1951) (*id*) poderiam diminuir o desenvolvimento e a erupção dental durante estes processos.

Segundo CHIBA et al. (1976), a observação do aceleração da extrusão dental do incisivo do rato foi casualmente verificada por WETZEL (1927), quando observou um incisivo que acidentalmente quebrou e deixou de fazer contato com o antagonista. Ficou demonstrado que o encurtamento experimental de incisivos de roedores acelerou sua erupção duas vezes (SCHOUR & MEDAK, 1951; TAYLOR & BUTCHER, 1951; NESS, 1956; 1965; BRYER, 1957 - *apud* CHIBA et al. 1976). Pela eliminação da pressão da mordida, um importante redutor da força da erupção é removida. Presumivelmente, o aumento da taxa de erupção, logo após o encurtamento dental, resulta em um detonador da erupção, sem a interveniência da intermitente oposição produzida pela mordida (CHIBA et

Introdução

al. 1976). Neste artigo, os autores também declaram que, com ou sem o contato oclusal, a erupção dos incisivos é menor durante a noite, quando o animal é fisicamente mais ativo usando, portanto, mais seus incisivos. Tal padrão parece se relacionar com o de atividade mitótica dos tecidos da área progenitora dos incisivos (à distal da região 5, como esquematizado na fig.2). Porém, parece que o encurtamento do incisivo é influenciado por um padrão circadiano de mordida, além de alguns fatores internos como hormônios ou órgãos neurais que controlam este padrão de erupção do incisivo (CHIBA et.al.,1976).

Estudos sobre os efeitos de glicocorticóides e mineralocorticóides, sobre incisivos de roedores, têm sido realizados há muito tempo. Por exemplo, as alterações provocadas na mineralização dentinária em incisivos de ratos após adrenalectomia (SCHOUR & ROGOFF, 1936 *apud* DOMM & WELLBAND, 1958); a precocidade da erupção de incisivos de ratos jovens provocada pela cortisona administrada em ratas prenhas, ou em fetos de ratos, ou em ratos recém-nascidos (LEROY & DOMM, 1958 *apud* DOMM & WELLBAND,1958); a aceleração da erupção dentária em ratos adultos (DOMM & MANZANO,1954 *apud* DOMM & WELLBAND,1958); a degeneração fibroblástica (GLICKMAN, STONE & CHAWLA,1953 *apud* CHIBA, KURODA & OHSHIMA,1981); o crescimento do osso alveolar (GOLDSMITH & ROSS,1956 *apud* CHIBA, KURODA & OHSHIMA, 1981) .

Por outro lado, a radioautografia (inicialmente obtida por LACASSAGNE & LATTES em 1924 - *apud* BLUMEN & MERZEL) introduziu a dimensão *tempo* aos estudos histológicos, de modo a favorecer o entendimento dos processos biológicos no interior das células, ou a renovação de moléculas no interior das mesmas, ou ainda a renovação de moléculas dentro de tecidos (MARCHI, 1997). Isso possibilita que moléculas como o colágeno (a proteína mais abundante dos animais), possa ser estudada desde sua

Introdução

biogênese até sua polimerização extracelular (MARCHI, 1997) como também ser acompanhada nos tecidos de natureza mesenquimal por traçadores como aminoácidos tritiados.

Em vista da ampla discussão da literatura envolvendo os mais variados aspectos do posicionamento fisiológico do órgão dental e de seu periodonto, bem como das possibilidades de remanejamento experimental do complexo dente-periodonto, procurou-se estudar a erupção alterada por secção da coroa do incisivo e pelo uso de hidrocortisona em camundongos, através da radioautografia.

REVISÃO DA LITERATURA

*Ainda que um copo d'água
baste ao sedento,
o rio se oferece todo – por isso ele canta.
Tagore*

Como erupção dental, compreende-se o conjunto de movimentações que fazem o órgão dentário e seu periodonto não só durante seu desenvolvimento, mas também quando na cavidade oral, mantendo-se aí fisiologicamente. É, portanto, a erupção, um complexo conjunto de processos biológicos que envolve múltiplos fatores, desde o início da odontogênese e periodontogênese, no interior das peças ósseas e por todo o tempo em que o órgão dentário se mantém funcionalmente ativo. O que torna esse assunto da Ciência Odontológica instigante é que, embora venham de longa data as pesquisas específicas, ainda há muitas questões a serem respondidas – sabe-se, atualmente, muito mais sobre o resultado desse processo, a erupção, do que seus mecanismos biológicos intrínsecos. Estudos *in vitro* como os de CHIBA, KURODA & OHSHIMA (1981); RALPH, 1982 e GATHERCOLE, 1987 *apud* KOMATSU & VIIDIK (1996), sob diversas condições, têm sido executados. Inúmeros outros estudos *in vivo* também se tem destacado (BEERTSEN & HOEBEN, 1987, BERKOVITZ 1990, MICHAELI et al., 1994; MacNEIL 1998). Experimentalmente se tem manipulado a erupção dentária, utilizando-se vários métodos; entre estes, têm merecido maior destaque aqueles que usam os dentes de formação e erupção contínua, como o são os incisivos de roedores e de lagomorfos, com maior ênfase para os incisivos de ratos e /ou camundongos.

Nesta constante experiencição, diferentes fármacos têm sido utilizados com o intuito de, em alterando-se a erupção, analisar-se seus efeitos sob as mais diversas metodologias e compreender-se a intimidade biológica da erupção. Dentro desse quadro, a hidrocortisona – a forma mais abundante de cortisol em ratos e camundongos – tem sido utilizada quer isolada quer associada a outros fármacos.

A hidrocortisona, fisiologicamente, é um dos hormônios secretados pelas glândulas adrenais. É um composto derivado do colesterol produzido basicamente nas cristas mitocondriais, microsomas e REL. A partir de uma série de reações bioquímicas, envolvendo várias enzimas, como a colesterol-desmolase, modifica-se para pregnano (C21 com ação glico e /ou mineralocorticoide). Este, ao sofrer a ação da 17α - hidroxilase, se resolve em dois compostos: a 17α - OH pregnenolona e a progesterona. Este último, por ação enzimática de uma desmolase, rapidamente desdobra-se em 17α - OH progesterona que, formará , como composto final o cortisol, em humanos. Em ratos e camundongos, modifica-se rapidamente em desoxicorticosterona ; este em corticosterona e este, finalmente; em 18 OH desoxicorticosterona, equivalente ao cortisol (WHITE, HANDLER & SMITH, 1973; ALBERTS et al., 1989;1997).

Como glicocorticóide, a hidrocortisona interage rapidamente com proteínas, com grande afinidade por receptores da membrana plasmática de células-alvo e, no citosol, forma um complexo com o receptor, que, após “ativação”, é translocado para o núcleo celular, onde pode-se ligar a um gene-esteróide-responsivo. Dessa integração resulta aumento da transcrição de mRNA-específico que, novamente no citosol, ou bloqueia ou estimula a síntese protéica e lipídica (MINETTI apud VALLE et al., 1991; WHITE, HANDLER & SMITH, 1973; ALBERTS et al.,1989, 1997). Entre suas ações finais como glicocorticóide, pode-se destacar a inibição da captação de aminoácidos, com a conseqüente redução da síntese protéica; a facilitação da lipólise, a retenção de Na^+ , o aumento da excreção de K^+ e Cl^- , determinando , em conseqüência, alterações no metabolismo de Ca^{++} , como a deficiência de sua absorção intestinal, entre outros (id).

Literatura

A ação farmacológica dos glicocorticóides é principalmente antiinflamatória, quando promove a formação de lipomodulina ou macrocortina, que têm ação antifosfolipase. Disso resulta a não conversão dos fosfolipídeos da membrana plasmática em ácido aracdônico, bloqueando tanto a via da cicloxigenase como a da lipoxigenase. Em roedores e lagomorfas, promovem linfocitólise; diminui a permeabilidade vascular; altera a cinética de leucócitos; diminui a síntese do fator de crescimento de linfócitos T, interferindo na abrangência da resposta imune, na diminuição da interação entre células do sistema imunitário, na diminuição da expressão de vários fatores do sistema complemento, disso tudo resultando sua atividade imunossupressora (especialmente quando utilizados em altas doses) . Ainda têm a ação deletérea de diminuir o volume de vários órgãos linfóides. Outra ação farmacológica importante dos glicocorticóides é sua ação anti-alérgica, conjugada à ação antiinflamatória, quando estabiliza as membranas plasmáticas e lisossômicas, com a conseqüente diminuição de liberação de enzimas citosólicas como a collagenase, elastase, entre outras enzimas proteolíticas e lipolíticas; diminui também o crescimento fibroblástico e síntese de colágeno (SCHIMMER & GEORGE, *apud* KALANT & ROUCHLAU,1991). A hidro cortisona também atua como mineralocorticóide, agindo sobre os epitélios com função de transporte iônico (WHITE, HANDLER & SMITH,1973; HARIMA et al. 1987; MINETTI, 1991; KALANT & ROUCHLAU,1991;). Sua toxicidade pode levar à necrose vascular óssea, osteoporose em osso alveolar e aumentar a predisposição as infecções, além de outros efeitos tóxicos.

O metabolismo da hidro cortisona, como de outros corticosteróides, é realizado no hepatócito, através de modificações estruturais que levam à formação final de compostos

hidrossolúveis excretados pelos rins (HARIMA et al., 1987; SCHIMMER & GEORGE *apud* KALANT & ROUCHLAU, 1991).

A hidrocortisona fisiológica não é a única substância com estas características: seus análogos sintéticos também atuam de forma similar. Porém, estas atuações são diferenciadas sob alguns aspectos, como por exemplo a forma física, cristalina ou solúvel (DUNCAN, HANSON & CURTIS, 1973) a dosagem proporcional ou o número de aplicações diárias (CHIBA, KURODA & OHSHIMA, 1981), entre outros. Os análogos sintéticos, embora não se liguem a proteínas transportadoras plasmáticas, permanecem livres, com grande solubilidade e atravessam as membranas plasmáticas por difusão facilitada (MINETTI, 1991) – daí sua potência biológica; porém, intracelularmente, também se ligam a receptores citosólicos seguindo o mesmo mecanismo biológico (ALBERTS et al., 1989, 1997).

Dentre a gama de efeitos que a aplicação da hidrocortisona sintética (como o succinato sódico de hidrocortisona – Solu Cortef® que é um sal hidrossolúvel de cortisol -) exerce sobre o animal experimental, destaca-se sua participação direta no mecanismo da erupção contínua em incisivos de ratos e camundongos. Neste caso, o fármaco provoca uma aceleração no processo eruptivo (FERGUSON, 1982 *apud* BERKOVITZ, MOXHAN & NEWMAN, 1982). Através de qual /quais mecanismo/s biológico/s esta ação se processa, ainda é um ponto não completamente esclarecido. Assim, partiu-se do embasamento científico evidenciado em trabalhos como o de TOSELLO (1990), POLACOW (1992) dentre outros que avaliaram a erupção dentária em condições alteradas, usando a vimblastina como substância para retardar a erupção dental em incisivos de camundongos. As autoras concluíram que nos tempos mais curtos de atuação da droga durante os experimentos, ou seja, sacrifício dos animais 1 a 12 horas após a injeção de glicina tritiada ($^3\text{HGly}$), não houve

diferenças entre as concentrações de proteínas marcadas entre animais tratados e controles. TOSELLO (1990) não encontrou diferenças mesmo 96 horas após a injeção de vimblastina, embora a erupção continuasse retardada em relação aos controles. Já POLACOW (1992) encontrou, até 24 horas, concentração maior de proteínas marcadas nos animais tratados. Isso pode indicar que a exocitose e/ou degradação de proteína foi inibida pela droga.

Outros autores como STALLARD (1963), *apud* ORLOWSKI (1976), usando prolina triciada ($^3\text{HPro}$) encontraram fibras periodontais íntegras em ligamento periodontal de incisivos de camundongos, o que, segundo ele, sugere que colágeno recentemente marcado estava sendo agregado a fibras pré-existentes. Por sua vez, ORLOWSKI (1976) observou que a $^3\text{HPro}$ pode estar presente na forma livre, mesmo após 24 horas depois de sua injeção no animal. Como o aminoácido é também utilizado em outros produtos celulares, o autor faz algumas especulações interessantes, como, por exemplo, que deve haver correlação entre o número de células presentes no tecido para metabolizar o marcador, incorporando-o, portanto, também em proteínas não colágenas do periodonto. Outro dado interessante anotado pelo autor, é que fibroblastos do ligamento periodontal, devem estar programados para sintetizar e degradar colágeno a uma velocidade maior do que em outros tecidos conjuntivos periodontais. Sugere o autor que, após as primeiras 24 horas a $^3\text{HPro}$ é incorporada em proteínas não colágenas.

Por sua vez, ZAJICEK, 1974 (*apud* BEERTSEN & HOEBEN, 1987) observou radioautograficamente com timidina tritiada ($^3\text{HThy}$) que os fibroblastos do ligamento periodontal de incisivos de camundongos podiam exibir uma rota de migração: junto ao cemento, à uma velocidade similar a do dente; na região mediana, 3 vezes mais rápida; junto ao osso alveolar permaneciam estacionários. BEERTSEN & HOEBEN (1987), também

utilizando $^3\text{HThy}$, verificaram que o precursor foi tomado de modo não uniforme ao longo do ligamento periodontal (LP) de incisivos de camundongo, sendo maior a marcação na região proliferativa, justa-incisal à bainha epitelial radicular. O pico de marcação se estendeu mais ou menos a 1,5 mm incisalmente à marcação da dentina (marcada por $^3\text{HPro}$). Neste trabalho, os autores constataram ainda que as células marcadas pela $^3\text{HThy}$ restringiam-se à região do ligamento periodontal junto ao dente e, muito poucas, na região junto ao osso alveolar; a marcação diminuía em direção incisal; além disso, concluíram que, em camundongo, tanto células como matriz, no compartimento junto ao dente, constituem um tecido firmemente integrado e que se movimenta sincronicamente com o incisivo.

Com a utilização de hidrocortisona MOXHAM & BERKOVITZ (1983) observaram que ratos tratados ingeriram menos água e alimento do que seus controles; quanto à erupção, porém, os animais tratados mostraram valores significativamente maiores do que os controles, o que, segundo eles, revela que o hormônio induziu alteração no comportamento da erupção e que não afeta apenas incisivos desimpedidos, mas podem afetar todo o sistema hormonal do animal, pelo decréscimo nos níveis de hormônio circulantes decorrente da retroalimentação negativa. Já DOMM & WELLBAND (1958), que trabalharam com incisivos de ratas adrenalectomizadas e tratadas com cortisona, concluíram que, teoricamente, há o envolvimento de um controle hormonal nos valores da erupção de incisivos de ratas. Os autores MOXHAM & BERKOVITZ (1983) concluíram, entre outras coisas, que mesmo diante da aceleração da erupção pela hidrocortisona, isto pode não estar especificamente correlacionado ao mecanismo gerador da força eruptiva. Em outro estudo, com acetato de hidrocortisona e ciclofosfamida, BURN-MURDOCH (1988) constatou que os resultados da análise da erupção em incisivos seccionados de ratos, não foram afetados quando analisados

em conjunto ou em separado: quando a hidro cortisona foi utilizada junto com a ciclofosfamida, não mostrou efeito; quando utilizada isoladamente acelerou a erupção impedida e desimpedida. A hidro cortisona injetada em animais com ressecção dos incisivos, não mostrou diferenças significativas a partir do 12^o aos 18^o - 20^o dias . Sob o ponto de vista da ação como glicocorticóide, a hidro cortisona acelerou a erupção dos incisivos desimpedidos; já sob o ponto de vista da ação como mineralocorticoide, não o faz.

Já foi sugerido por DOMM & KIELY (1968) e KIELY & DOMM, (1977) *apud* TENG et al. (1989) que a cortisona exerce efeito acelerador de proliferação celular no fundo do alvéolo no incisivo do rato. Nos ratos tratados com cortisona e com incisivos com raiz seccionada TENG et al. (1989) observaram que o efeito da hidro cortisona é o de acelerar a erupção através do fundo do alvéolo; na ausência dessa região não produz tal efeito. Os autores concluíram que a aceleração, normalmente vista após administração da cortisona, é exercida pelo fundo do alvéolo, tanto quanto pelo ligamento periodontal. O fundo do alvéolo pode exercer importante papel na fase intra-alveolar da erupção e o ligamento periodontal não assume um papel significativo na erupção, até ter atingido uma organização madura e funcional, ou seja, quando o dente está em seu nível oclusal.

Trabalhando com adrenocorticóides em incisivos mandibulares de rato, com erupção alterada ou não, CHIBA, KURODA & OHSHIMA (1981), observaram que o acetato de hidro cortisona determinou perda de peso nos animais tratados e, nesses, a perda foi maior quando da erupção desimpedida; segundo esses autores, provavelmente isso ocorreu pelo estresse dos sucessivos desimpedimentos e/ou pela diminuição da ingesta nesses animais. Um dado interessante deste trabalho, é o que revela que os valores da erupção impedida só mostraram diferenças significativas entre o 2^o e 9^o dias, enquanto aqueles da erupção desimpedida mostraram

diferenças significativas para mais aos 3º, 4º, 5º, 7º, 8º e 9º dias após a aplicação de hidrocortisona em relação aos seus controles (exceto nos dois primeiros dias como já assinalado). Outro aspecto a se destacar desse artigo, é que o estresse pela eliminação da mordida (com a erupção desimpedida), tendeu a acentuar o efeito da droga; isso, provavelmente, se relaciona com o aumento do conteúdo de colágeno insolúvel, o que já havia sido constatado por VOGEL (1974) *apud* CHIBA, KURODA & OHSHIMA (1981). Os autores finalizam o artigo com uma questão instigante: a aceleração ou não da erupção do incisivo e o aumento no estiramento dos tecidos de suporte, após a administração de glicocorticoides, são ou não ocasionados pelo mesmo mecanismo?

Em outro artigo CHIBA & OHSHIMA (1985) observaram que após a injeção de acetato de hidrocortisona em ratos com ressecção radicular, os animais tiveram a erupção dentária desimpedida acelerada nos 2º, 3º, 6º e 7º dias após a injeção da droga; estes dados são discordantes de estudo anterior dos mesmos autores. Uma possível explicação para a aceleração da erupção, após a injeção de hidrocortisona, segundo os mesmos autores, pode residir no fato de o fármaco diminuir a permeabilidade vascular, de tal sorte que o equilíbrio entre capilares e fluidos tissulares se situam em um nível mais alto do que o normal. É fora de dúvida que os corticóides aceleram a erupção pela redução da resistência, do dente em erupção, exercida pelo ligamento periodontal, por seu estiramento estar aumentado. Nos dentes seccionados, isso pode determinar, segundo estes autores, tanto a pressão do líquido tissular como a motilidade e contratibilidade dos fibroblastos periodontais - ou ambos.

Já foi observado, também, o efeito tixotrópico da substância intercelular do LP em relação à resistência às forças oclusais (BERKOVITZ , MOXHAM & NEWMAN;1982; 1995; CARRANZA & UBIOS, 1997).

Em estudo mais recente, MacNEIL et al. (1998) analisaram o colágeno tipo I e o XII durante o desenvolvimento do ligamento periodontal de molares de camundongos. Observaram que nos primeiros estádios de desenvolvimento, o folículo dental carece de organização e padrão; à medida que a formação progride, o aspecto amorfo do folículo dental é substituído pelo ligamento periodontal organizado. Sinais específicos e estímulos mecânicos, bem como fatores/proteínas extracelulares, desempenham papel importante na regulação do comportamento do ligamento periodontal (MELCHER, 1970;1976; MacNEIL et al.,1995; *apud* MacNEIL et al.,1998;)

Em sua revisão sobre as origens e mecanismos de diferenciação celulares, durante o desenvolvimento e reparo do periodonto, PITARU & NARAYAN (1994) afirmaram que a diferenciação no LP é governada pela interação epitélio-mesenquimal . Isso gera sinais específicos que regulam certas populações celulares no tempo e espaço. Já no reparo, a diferenciação é regulada por muitas moléculas informacionais e por citocinas, as quais induzem respostas específicas e não específicas em diferentes linhagens celulares e suas precursoras. Porém, muitos sistemas sinalizadores são perdidos após o desenvolvimento completo. Por outro lado, KARIMBUX & NISHIMURA (1995) já afirmaram que a expressão espacial do mRNA-colágeno tipo XII, em células marcadas, era evidente no lado da tensão em espécimes com dentes movimentados por uma semana. Seus dados sugerem que o colágeno tipo XII pode estar intimamente relacionado com a regeneração funcional do ligamento periodontal.

Um aspecto interessante que MacNEIL et al.(1998) assinalam, é que os sinais não são operacionais apenas durante o desenvolvimento - também atuam durante a manutenção, reparo e regeneração do ligamento periodontal. E mais: que um dos candidatos ao desempenho

deste papel é o colágeno tipo XII. Este pertence a uma super família de colágeno denominada colágeno fibrila-associado com tripla hélice interrompida ou FACIT . Como outras moléculas desse grupo, o colágeno XII se liga às fibrilas colágenas e às outras moléculas da matriz extracelular. Citando KARIBUX et al. (1992), os autores assinalam que o colágeno tipo I diminui com a maturidade e que o de tipo XII pode ser importante na manutenção do ligamento periodontal maduro. O tipo I ocorre também nos primeiros estádios da remodelação, mas só após o desenvolvimento da matriz madura (KARIMBUX et al. 1992, *apud* MacNEIL et al. 1998). O colágeno tipo XII entre outras funções, que futuros estudos revelarão sobre a expressão desse colágeno pelas células do ligamento periodontal, pode resistir às forças da oclusão, provavelmente mantendo a integridade das fibras em regiões de estresse; pode contribuir para a maturação das interações entre matriz e colágeno tipo I, como também pode desempenhar importante função na prevenção da anquilose entre cemento e osso alveolar, l Esse aspecto também foi evidenciado na remodelação do LP na movimentação ortodôntica; neste caso, o colágeno tipo XII aumenta sua expressão nas últimas etapas da remodelação, na região da matriz; a expressão do colágeno tipo I se faz principalmente nas etapas iniciais da remodelação ortodôntica do LP (KARIMBUX & NISHIMURA,1995).

Objetivamente, este trabalho se propõe averiguar se é possível observar, ao microscópio óptico, diferenças qualitativas na renovação de proteínas do ligamento periodontal de incisivos de camundongos, usando-se a hidrocortisona e a ³HGly no modelo biológico de erupção impedida e desimpedida (essa por secção da "coroa clínica").

MATERIAL E MÉTODOS

*A mulher não tem apenas que inventar
a roda: precisa plantar a árvore, cortá-la,
desbastá-la e aprender a fazê-la girar!*

Érica Jong

Material e métodos

Foram utilizados trinta camundongos (*Mus musculus*) machos da raça *Swiss*, albinos adultos-jovens com pesos compreendidos entre 26,4g e 41,0g (x 33,397).

— Os animais foram distribuídos em 2 grupos de 15 animais cada. Os mesmos foram pareados por peso e sorteados para serem controle ou tratado; foram mantidos em condições adequadas de manejo e com ração comercial e peletizada e água *ad libitum*. Todos os animais tiveram seus incisivos inferiores esquerdos seccionados ao nível da papila gengival (Fig. 1) (BURN-MURDOCK, 1990), e tornados desimpedidos ou hipofuncionais, enquanto os contralaterais permaneceram em oclusão ou em erupção impedida (hiperfuncionais), SILVA, 1997.

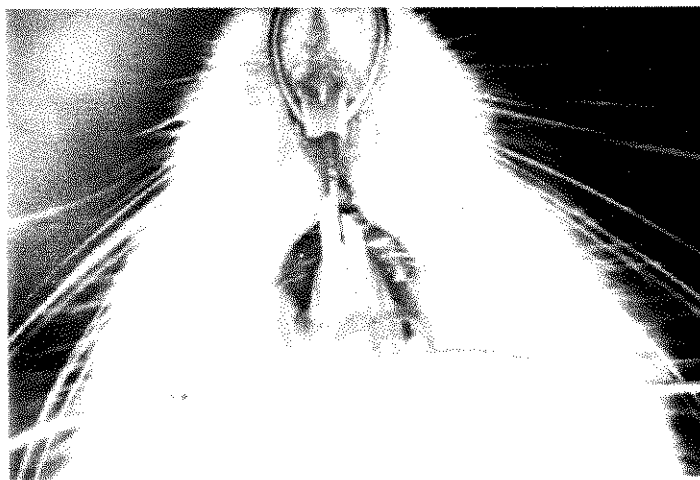


Figura 1. Fotografia da boca de camundongo mostrando o incisivo direito impedido e o esquerdo desimpedido.

Esse procedimento foi realizado em dias alternados, e em igual turno, até o dia do sacrifício. Após a 3ª secção dos incisivos, os animais foram novamente pesados para a realização dos cálculos de dosagem de succinato de hidrocortisona Solu Cortef® (Rhodia) e/ou solução salina. Cada animal tratado recebeu uma dose de 100mg/kg de peso corporal/dia, subdividida em 4 injeções de succinato de hidrocortisona, por via subcutânea,

até a data do sacrifício. Os animais controles receberam dose proporcional de solução salina também subdividida em 4 injeções ao dia. Ao 6º dia de tratamento os animais foram novamente pesados e todos receberam, por via intraperitoneal, a dose de 5µCi/g, (185MBq/g) de glicina tritiada (³HGly) (Amersham, Int.) aplicada em dose única. Os animais foram sacrificados por perfusão cardíaca de solução salina, seguida por fixador de KARNOWSKY (1965), após prévia anestesia com hidrato de cloral (0,4ml / 100g de peso corporal), suplementada por éter etílico quando necessário. O sacrifício ocorreu após 1; 4; 24; 48 e 96 horas após a injeção da ³HGly. Retirados os crânios, as mandíbulas foram cuidadosamente dissecadas, sempre mantidas sob fixação por imersão no mesmo fixador, onde foram mantidas por 4,0 horas. Em seguida, as peças anatômicas foram lavadas sucessivas vezes no mesmo tampão e levadas para a desmineralização. Essa foi realizada em etilenodiaminotetracético (EDTA) a 5% diluído em tampão fosfato a 0,1 M e em pH 7,2 (WARSHAWSKY & MOORE, 1967). O desmineralizador foi trocado diariamente durante os 30 dias em que se processou a desmineralização das peças a temperatura ambiente e sem agitação. A desmineralização foi sendo testada através da observação da perda da coloração do esmalte dentário, a formação de sulcos gengivais mais alargados e, finalmente, por pequenas secções das coroas clínicas. Após a separação em duas hemimandíbulas, as peças foram então fracionadas em 5 regiões a partir da região mais incisal da crista óssea e até a região da face distal do 3º molar. Desprezou-se a região proliferativa, como também a região mais incisal à crista óssea; também não foram utilizadas as regiões 2 e 4. Para se realizar os cortes transversais da mandíbula, seguiu-se o esquema abaixo (Fig. 2):

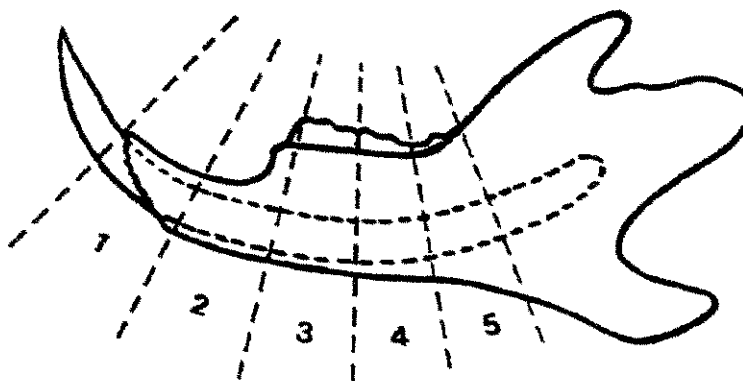


Figura 2. Esquema mostrando uma hemimandíbula com as indicações dos cortes transversais, resultando nas regiões de 1 a 5.

As peças histológicas foram então coradas pela hematoxilina de Carazzi, desidratadas em série crescente de acetona e infiltradas com resina epoxi Epon, na qual também foram incluídas segundo LUFT (1961). Os blocos histológicos obtidos foram recortados para se manter apenas a região mesial do dente com seu periodonto e cortados em ultramicrotomo para a obtenção de cortes com 1,0 μ m de espessura; a microtomia foi feita semi seriadamente a cada 6,0 μ m, tendo-se o cuidado de se coletar 3 cortes de cada uma das 3 regiões na mesma lâmina histológica. Cada lâmina foi então coberta com emulsão nuclear (Ilford K-5^R), segundo a técnica de KOPRIVA & LEBLOND (1962 *apud* TOSELLO, 1990), sendo mantidas a - 4,0°C, por 53 dias. Após a revelação e fixação, as lâminas foram coradas em azul de metileno a 1,0%.

Os esquemas das figuras 1 e 2 foram copiados, com autorização, da Profª. Miralva Aparecida de Jesus da Silva .

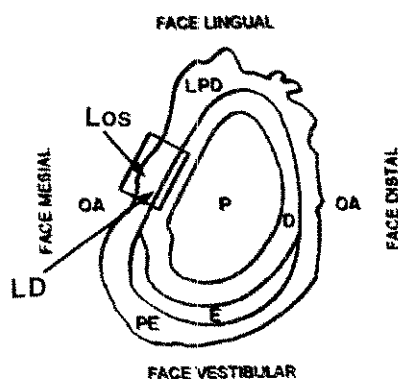


Figura 3. Esquema de corte transversal de hemimandíbula de camundongo, mostrando o corte histológico do incisivo com seu periodonto. Em destaque a indicação dos compartimentos do LP.

Os radioautogramas foram analisados histologicamente e a concentração de grãos de Ag foi determinada em 20 áreas de $49\mu\text{m}^2$ de um retículo acoplado à uma ocular de 10 aumentos ao microscópio de luz, sob objetiva de 100 aumentos. A porção mesial de cada região (1, 3 e 5) foi analisada no compartimento junto ao dente (LJD) e junto ao osso alveolar (LJO), conforme esquematizado abaixo. Também foram analisados, por contagens dos grãos de Ag, o *background* e uma região de dentina para controle interno de "qualidade" e a prova de atuação do composto radioativo da análise dos radioautogramas, nos compartimentos de interesse (Fig. 8). Após a obtenção destes dados, os mesmos foram analisados matematicamente. A partir do pico de maior incorporação do composto radioativo em cada compartimento e região analisados, bem como após as comparações entre animais tratados e controles, as médias foram transformadas em logaritmo neperiano, sendo então calculada a reta de regressão (VIEIRA, 1998) e a determinação da meia vida das macromoléculas marcadas pela glicina triciada. O método estatístico utilizado foi o de análise de variância em esquema fatorial.¹

¹ Dr^a Sônia Vieira, comunicação pessoal.

RESULTADOS

*Quando o homem perder a esperança,
podem apagar o arco-íris!*

Mário Lago

Após as contagens dos grãos de $\text{Ag}/\mu\text{m}^2$ nos radioautogramas, pode-se apurar os resultados demonstrados nas tabelas 1 a 4, bem como nas figuras 4.1 e 4.2 que demonstram as várias comparações matemáticas que foram feitas entre os dois compartimentos das três regiões analisadas. Pode-se verificar, também, as comparações estatísticas entre animais tratados e controles.

Os resultados evidenciaram, pelos escores levantados à microscopia óptica, que houveram diferenças em relação à incorporação do aminoácido radioativo em relação a alguns parâmetros como o tempo decorrido entre a injeção da $^3\text{HGly}$ e o sacrifício dos animais; ao estado da erupção, bem como à aplicação ou não do succinato de hidrocortisona. O quadro histológico dessas diferenças pode ser observado nas figuras 5, 6, 7 e 8.

Por circunstâncias fortuitas e independentes do zelo e cuidado profissionais que os experimentos requeriam, estabeleceram-se obstáculos intransponíveis, naquele momento, como por exemplo a perda de animais, ou a atuação fora de controle da enzima utilizada na metodologia histoquímica adequada, entre outros, que resultaram na redução dos estudos que puderam (ou poderiam) ser realizados com o material então disponível. Isso trouxe, como consequência, entre outras, a impossibilidade de realização de metodologia estatística mais abrangente quanto à incorporação da $^3\text{HGly}$ ou à obtenção de dados mais seguros em relação à incorporação da $^3\text{HGly}$ em proteína colágeno ou não-colágeno, através de análise histoquímica.

Resultados

O que se pode verificar é que os resultados apurados mostraram, às vezes, coerência biológica (dentro do esperado pela repetição de metodologia já utilizada em trabalhos de TOSELLO, (1990) e POLACOW (1992). Às vezes, porém, a "aleatoriedade" dos mesmos foi surpreendente e sua coerência biológica, se existente, não foi compreendida no momento. Nem por isso, porém, deixou-se de analisar exaustivamente os dados disponíveis e aqui apresentados. Eles evidenciam, possivelmente, a propriedade (ou não) do planejamento, dos protocolos, da metodologia, dos insumos, entre vários outros aspectos, do que pode ser utilizado para se atingir as finalidades objetivadas inicialmente.

O número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos com erupção alterada por hidrocortisona e por desimpedimento, segundo o grupo, a região do dente, o compartimento e o número de horas que, no momento do sacrifício, haviam decorrido após a injeção de glicina tritiada, estão apresentados nos quadros 1 e 2 e nas tabelas 1.1 a 1.24 bem como nas planilhas e nos gráficos de regressão do Apêndice.

Esses dados foram submetidos à análise estatística para verificar se, decorridos diferentes tempos após a injeção da droga, a hidrocortisona teve efeito sobre a incorporação da glicina radioativa. Como foram feitas contagens do número de grãos de prata em dentes tanto impedidos como desimpedidos, junto ao dente e junto ao osso e em três regiões, optou-se por uma análise de variância em esquema fatorial para cada uma dessas situações.

Quadro1. Concentração média de grãos de Ag/980 μm^2 em incisivos impedidos e desimpedidos dos grupos controle e tratado nas regiões 1, 3 e 5 e nos compartimentos LJD (ligamento junto ao dente) e LJO (ligamento junto ao osso) em diversos tempos.

INCISIVO CONTROLE IMPEDIDO					
TEMPO (H)	ANIMAIS	COMPART	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	16,99	18,24	25,44
		LJO	12,2	13,74	20,58
4	3	LJD	16,59	26,7	32,14
		LJO	13,48	19,59	23,48
24	3	LJD	10,44	14,77	18,33
		LJO	10,11	17,88	17,11
48	3	LJD	13,07	15,07	19,85
		LJO	12,4	14,07	16,07
96	3	LJD	8,66	17	19,33
		LJO	6,66	12,77	17,88

INCISIVO TRATADO IMPEDIDO					
TEMPO (H)	ANIMAIS	COMPART	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	13,77	22	25
		LJO	15,22	18	22
4	3	LJD	21,07	18,4	28,96
		LJO	14,07	18,96	26,4
24	2	LJD	15,83	23,5	22,66
		LJO	10,33	15,66	20,16
48	2	LJD	12,29	14,29	15,71
		LJO	8,29	15,63	15,13
96	2	LJD	11,44	15,61	13,61
		LJO	8,61	12,61	11,27

INCISIVO CONTROLE DESIMPEDIDO					
TEMPO (H)	ANIMAIS	COMPART	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	20,11	23	34
		LJO	21,44	23,55	26,55
4	3	LJD	23,03	28,81	41,81
		LJO	25,7	24,81	29,25
24	3	LJD	13,88	22	21,55
		LJO	12,88	17,11	14,88
48	3	LJD	12,88	19,55	21,88
		LJO	11	11,22	15
96	3	LJD	14	15,11	15,11
		LJO	10,55	9,22	12,88

INCISIVO TRATADO DESIMPEDIDO					
TEMPO (H)	ANIMAIS	COMPART	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	20,74	36,29	36,96
		LJO	19,74	25,96	24,62
4	2	LJD	10,91	27,94	24,27
		LJO	8,75	16,72	12,27
24	2	LJD	20,94	34,77	29,94
		LJO	15,94	27,61	17,27
48	2	LJD	16,16	15,16	19,83
		LJO	13	10,33	15
96	2	LJD	13,16	12,83	9
		LJO	9,16	12,83	7,66

Quadro 2. Concentração média em logaritmo neperiano de grãos de Ag/980 μm^2 em incisivos impedidos e desimpedidos dos grupos controle e tratado nas regiões 1, 3 e 5 e nos compartimentos LJD (ligamento junto ao dente) e LJO (ligamento junto ao osso) em diversos tempos.

INCISIVO CONTROLE IMPEDIDO					
TEMPO	ANIMAIS	COMPAR	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	2,833	2,904	3,236
		LJO	2,501	2,62	3,024
4	3	LJD	2,809	3,285	3,47
		LJO	2,601	2,975	3,156
24	3	LJD	2,346	2,693	2,909
		LJO	2,314	2,884	2,84
48	3	LJD	2,57	2,713	2,988
		LJO	2,518	2,644	2,777
96	3	LJD	2,159	2,833	2,962
		LJO	1,896	2,547	2,884

INCISIVO TRATADO IMPEDIDO					
TEMPO	ANIMAIS	COMPAR	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	2,622	3,091	3,219
		LJO	2,723	2,89	3,091
4	3	LJD	3,048	2,912	3,366
		LJO	2,644	2,942	3,273
24	2	LJD	2,762	3,157	3,121
		LJO	2,335	2,751	3,004
48	2	LJD	2,509	2,66	2,754
		LJO	2,115	2,749	2,717
96	2	LJD	2,437	2,748	2,611
		LJO	2,153	2,534	2,422

INCISIVO CONTROLE DESIMPEDIDO					
TEMPO	ANIMAIS	COMPAR	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	3,001	3,135	3,526
		LJO	3,065	3,159	3,279
4	3	LJD	3,137	3,361	3,733
		LJO	3,246	3,211	3,376
24	3	LJD	2,63	3,091	3,07
		LJO	2,556	2,84	2,7
48	3	LJD	2,556	2,973	3,086
		LJO	2,398	2,418	2,708
96	3	LJD	2,639	2,715	2,715
		LJO	2,356	2,221	2,556

INCISIVO TRATADO DESIMPEDIDO					
TEMPO	ANIMAIS	COMPAR	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	3,032	3,592	3,61
		LJO	2,983	3,257	3,204
4	2	LJD	2,39	3,33	3,189
		LJO	2,169	2,817	2,507
24	2	LJD	3,042	3,549	3,399
		LJO	2,769	3,318	2,849
48	2	LJD	2,783	2,719	2,987
		LJO	2,565	2,335	2,708
96	2	LJD	2,577	2,552	2,197
		LJO	2,215	2,552	2,036

Quadro 3. Concentração média de grãos de Ag na dentina e de incisivos impedidos e desimpedidos dos grupos controle e tratado nas regiões 1, 3 e 5 e em diversos tempos.

DENTINA CONTROLE IMPEDIDO				
TEMPO (H)	ANIMAIS	REGIÃO		
		1	3	5
1	3	51,81	146,37	11,96
4	3	97,31	186,37	210,37
24	3	59,77	141,88	152,33
48	3	108,29	188,85	180,85
96	3	108,22	236,33	210,77

DENTINA TRATADO IMPEDIDO				
TEMPO (H)	ANIMAIS	REGIÃO		
		1	3	5
1	3	49,77	105,88	181
4	3	123,4	169,85	181,51
24	2	94,83	214,33	166,83
48	2	67,29	184,79	194,13
96	2	80,94	158,44	190,77

DENTINA CONTROLE DESIMPEDIDO				
TEMPO (H)	ANIMAIS	REGIÃO		
		1	3	5
1	3	102,44	128,44	151,66
4	3	121,03	151,25	226,37
24	3	124,11	192,77	192,66
48	3	169	229	173,22
96	3	195	260,55	163,88

DENTINA TRATADO DESIMPEDIDO				
TEMPO (H)	ANIMAIS	REGIÃO		
		1	3	5
1	3	85,96	143,51	190,62
4	2	196,08	173,72	184,83
24	2	115,27	222,11	178,61
48	2	137,33	177,83	199,66
96	2	185	202,66	130,83

Dentes impedidos, junto ao dente, região 1**Tabela 1.1.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes impedidos, junto ao dente, região 1.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	p
Tempos	4	111,9598	2,65	0,06323
Grupos dentro de 1h	1	15,4847	0,37	0,5584
Grupos dentro de 4h	1	30,1253	0,71	0,5866
Grupos dentro de 24h	1	0,018	0,00	0,9813
Grupos dentro de 48h	1	35,6484	0,84	0,6273
Grupos dentro de 96h	1	1,6132	0,04	0,8412
Resíduo	20	846,2515		

Os valores *F* apresentados na tabela 4.1 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.2.

Tabela 1.2. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes impedidos, junto ao dente, região 1.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	16,99	13,78	A
4	16,59	21,07	B
24	10,44	10,56	B
48	13,07	8,20	A
96	8,67	7,63	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Dentes impedidos, junto ao osso, região 1**Tabela 1.3.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes impedidos, junto ao osso, região 1.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	p
Tempos	4	68,2486	2,43	0,0807
Grupos dentro de 1h	1	13,6942	0,49	0,5005
Grupos dentro de 4h	1	0,5268	0,02	0,8875
Grupos dentro de 24h	1	15,5742	0,55	0,5286
Grupos dentro de 48h	1	70,8978	2,53	0,1244
Grupos dentro de 96h	1	1,2859	0,05	0,8269
Resíduo	20	28,0809		

Os valores *F* apresentados na tabela 4.3 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.4.

Tabela 1.4. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes impedidos, junto ao osso, região 1.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	12,20	15,22	B
4	13,48	14,07	B
24	10,11	6,89	A
48	12,41	5,53	A
96	6,67	5,74	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Dentes impedidos, junto ao dente, região 3.**Tabela 1.5.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes impedidos, junto ao dente, região 3.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	P
Tempos	4	113,2553	1,52	0,2326
Grupos dentro de 1h	1	21,1729	0,28	0,6052
Grupos dentro de 4h	1	103,2429	1,39	0,2512
Grupos dentro de 24h	1	0,074	0,00	0,9737
Grupos dentro de 48h	1	46,0651	0,62	0,5540
Grupos dentro de 96h	1	65,1936	0,88	0,6372
Resíduo	20	74,3109		

Os valores F apresentados na tabela 4.5 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.6.

Tabela 1.6. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes impedidos, junto ao dente, região 3.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	18,24	22,00	B
4	26,70	18,41	A
24	15,44	15,67	B
48	15,07	9,53	A
96	17,00	10,41	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Dentes impedidos, junto ao osso, região 3**Tabela 1.7.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes impedidos, junto ao osso, região 3.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	P
Tempos	4	67,7141	1,01	0,4291
Grupos dentro de 1h	1	27,1269	0,40	0,5393
Grupos dentro de 4h	1	0,5947	0,01	0,9232
Grupos dentro de 24h	1	83,1294	1,23	0,2795
Grupos dentro de 48h	1	20,0141	0,30	0,5976
Grupos dentro de 96h	1	28,6497	0,42	0,5281
Resíduo	20	67,3442		

Os valores *F* apresentados na tabela 4.7 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.8.

Tabela 1.8. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção de glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes impedidos, junto ao osso, região 3.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	13,75	18,00	B
4	19,59	18,96	A
24	17,89	10,44	A
48	14,07	10,42	A
96	12,78	8,41	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Dentes impedidos, junto ao dente, região 5**Tabela 1.9.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes impedidos, junto ao dente, região 5.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	p
Tempos	4	308,5607	2,20	0,1047
Grupos dentro de 1h	1	0,2943	0,00	0,9628
Grupos dentro de 4h	1	15,2179	0,11	0,7436
Grupos dentro de 24h	1	15,5742	0,11	0,7409
Grupos dentro de 48h	1	131,8115	0,94	0,6547
Grupos dentro de 96h	1	157,8788	1,13	0,3014
Resíduo	20	139,9931		

Os valores F apresentados na tabela 4.9 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.10.

Tabela 1.10. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes impedidos, junto ao dente, região 5.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	25,44	25,00	A
4	32,15	28,96	A
24	18,33	15,11	A
48	19,85	10,48	A
96	19,33	9,07	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Dentes impedidos, junto ao osso, região 5**Tabela 1.11.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes impedidos, junto ao osso, região 1.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	p
Tempos	4	175,8984	1,82	0,1646
Grupos dentro de 1h	1	3,0023	0,03	0,8561
Grupos dentro de 4h	1	12,8413	0,13	0,7197
Grupos dentro de 24h	1	20,1667	0,21	0,6570
Grupos dentro de 48h	1	53,7501	0,56	0,5289
Grupos dentro de 96h	1	161,3158	0,52	0,5138
Resíduo	20	96,8048		

Os valores *F* apresentados na tabela 4.11 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.12.

Tabela 1.12. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes impedidos, junto ao osso, região 5.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	20,58	22,00	B
4	23,48	26,41	B
24	17,11	13,44	A
48	16,07	10,09	A
96	17,89	7,52	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Dentes desimpedidos, junto ao dente, região 1**Tabela 1.13.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes desimpedidos, junto ao dente, região 1.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	p
Tempos	4	122,9988	1,39	0,2735
Grupos dentro de 1h	1	0,6667	0,01	0,9293
Grupos dentro de 4h	1	1,5000	0,02	0,8931
Grupos dentro de 24h	1	68,1562	0,77	0,6050
Grupos dentro de 48h	1	67,0378	0,76	0,6010
Grupos dentro de 96h	1	6,0000	0,07	0,7929
Resíduo	20	88,6567		

Os valores F apresentados na tabela 4.13 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.14.

Tabela 1.14. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes desimpedidos, junto ao dente, região 1.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	20,11	20,78	B
4	13,89	12,89	A
24	14,00	20,74	B
48	7,28	13,96	B
96	10,78	8,78	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 1**Tabela 1.15.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 1.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	p
Tempos	4	135,9119	1,83	0,1628
Grupos dentro de 1h	1	4,3537	0,06	0,8062
Grupos dentro de 4h	1	315,3750	4,24	0,0502
Grupos dentro de 24h	1	7,6562	0,10	0,7498
Grupos dentro de 48h	1	8,1667	0,11	0,7425
Grupos dentro de 96h	1	29,6295	0,40	0,6650
Resíduo	20	74,4177		

Os valores *F* apresentados na tabela 4.15 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.16.

Tabela 1.16. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 1.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	21,44	19,74	A
4	20,33	5,83	A
24	12,89	10,63	A
48	11,00	8,67	A
96	10,56	6,11	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Dentes desimpedidos, junto ao dente, região 3**Tabela 1.17.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes desimpedidos, junto ao dente, região 3.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	p
Tempos	4	461,2155	2,18	0,1076
Grupos dentro de 1h	1	265,1887	1,25	0,2757
Grupos dentro de 4h	1	84,3758	0,40	0,5413
Grupos dentro de 24h	1	2,1071	0,01	0,9183
Grupos dentro de 48h	1	133,7969	0,63	0,5587
Grupos dentro de 96h	1	64,4632	0,30	0,5930
Resíduo	20	211,4875		

Os valores F apresentados na tabela 4.17 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.18.

Tabela 1.18. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes desimpedidos, junto ao dente, região 3.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	23,00	36,30	B
4	35,44	27,94	A
24	22,00	23,18	B
48	19,56	10,11	A
96	15,11	8,56	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 3**Tabela 1.19.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 3.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	p
Tempos	4	292,1817	1,84	0,1601
Grupos dentro de 1h	1	8,6935	0,05	0,8120
Grupos dentro de 4h	1	65,5606	0,41	0,5342
Grupos dentro de 24h	1	2,5205	0,02	0,8965
Grupos dentro de 48h	1	28,1671	0,18	0,6808
Grupos dentro de 96h	1	0,6666	0,00	0,9476
Resíduo	20	158,7454		

Os valores F apresentados na tabela 4.19 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.20.

Tabela 1.20. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção de glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 3.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	23,56	25,96	B
4	23,33	16,72	A
24	17,11	18,41	B
48	11,22	6,89	A
96	9,22	8,56	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Dentes desimpedidos, junto ao dente, região 5**Tabela 1.21.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes impedidos, junto ao dente, região 5.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	p
Tempos	4	636,7495	3,46	0,0262
Grupos dentro de 1h	1	13,1688	0,07	0,7876
Grupos dentro de 4h	1	350,1168	1,90	0,1803
Grupos dentro de 24h	1	3,8046	0,02	0,8819
Grupos dentro de 48h	1	112,6667	0,61	0,5511
Grupos dentro de 96h	1	124,5182	0,68	0,5744
Resíduo	20	184,0590		

Os valores F apresentados na tabela 4.21 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.22.

Tabela 1.22. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes impedidos, junto ao dente, região 5.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	34,00	36,96	B
4	39,56	24,28	A
24	21,56	19,96	A
48	21,89	13,22	A
96	15,11	6,00	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 5**Tabela 1.23.** Análise de variância para os dados apresentados na tabela 1 do Apêndice. Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 1.

Causas de variação	G.L	Q.M	F	p
Tempos	4	249,8933	3,37	0,0286
Grupos dentro de 1h	1	5,5636	0,08	0,7828
Grupos dentro de 4h	1	226,1140	3,05	0,0926
Grupos dentro de 24h	1	17,0397	0,23	0,6413
Grupos dentro de 48h	1	37,4995	0,51	0,5086
Grupos dentro de 96h	1	90,7405	1,22	0,2812
Resíduo	20	74,0527		

Os valores *F* apresentados na tabela 4.23 mostram que não existe diferença estatística entre as médias de grupos e entre as médias de tempos. As médias de grupos em cada tempo estão apresentadas na tabela 4.24.

Tabela 1.24. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo de camundongos, segundo o grupo e o tempo decorrido após a injeção glicina tritiada, no momento do sacrifício. Dentes desimpedidos, junto ao osso, região 5.

Tempo	Controle	Tratado	Diferença
1	26,56	24,63	A
4	24,56	12,28	A
24	14,89	11,52	A
48	15,00	10,00	A
96	12,89	5,11	A

NOTA: Letra A indica que a média do controle é a maior;
Letra B indica que a média do tratado é a maior.

Resultados

As tabelas que representam médias têm, sempre, uma indicação da maior média. É fácil verificar que, nos dentes impedidos, a contagem de grãos de prata foi maior no grupo controle em 21 situações e maior no grupo tratado em 9. Nos dentes desimpedidos, a contagem de grãos de prata foi maior no grupo controle em 22 situações e maior no grupo tratado em 8.

Para estudar a tendência do fenômeno ao longo do tempo, foram feitos gráficos de linhas, apresentados nas figuras 4.1 e 4.2. Observando essas figuras em conjunto, é razoável considerar que a contagem do número de grãos de prata ao longo do tempo se faz em torno de uma exponencial, isto é ajusta-se a uma regressão simples de modelo matemático

$$Y = A e^{bX}$$

Figura 4.1. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo (impedido) de camundongos, segundo o tempo.

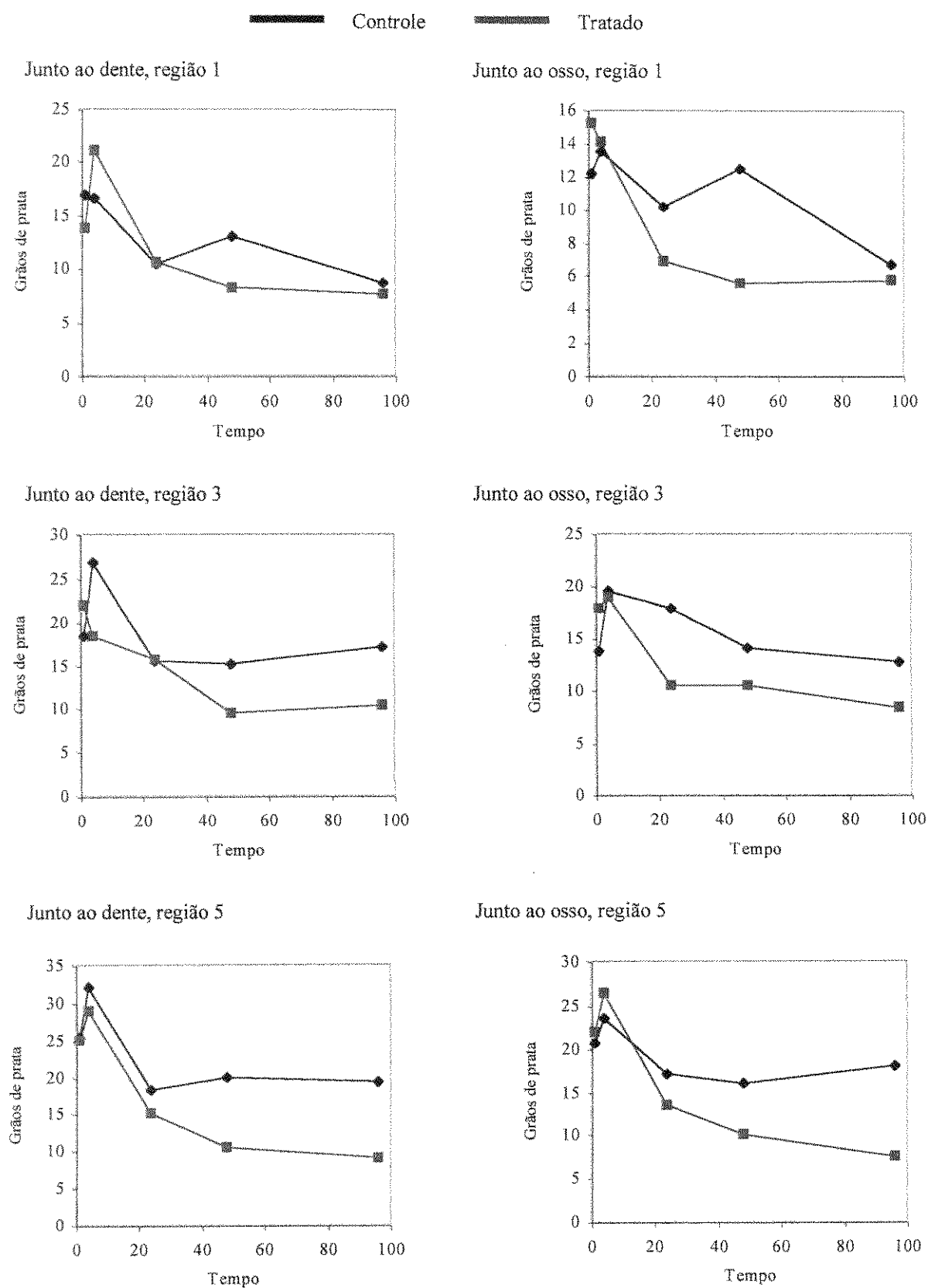
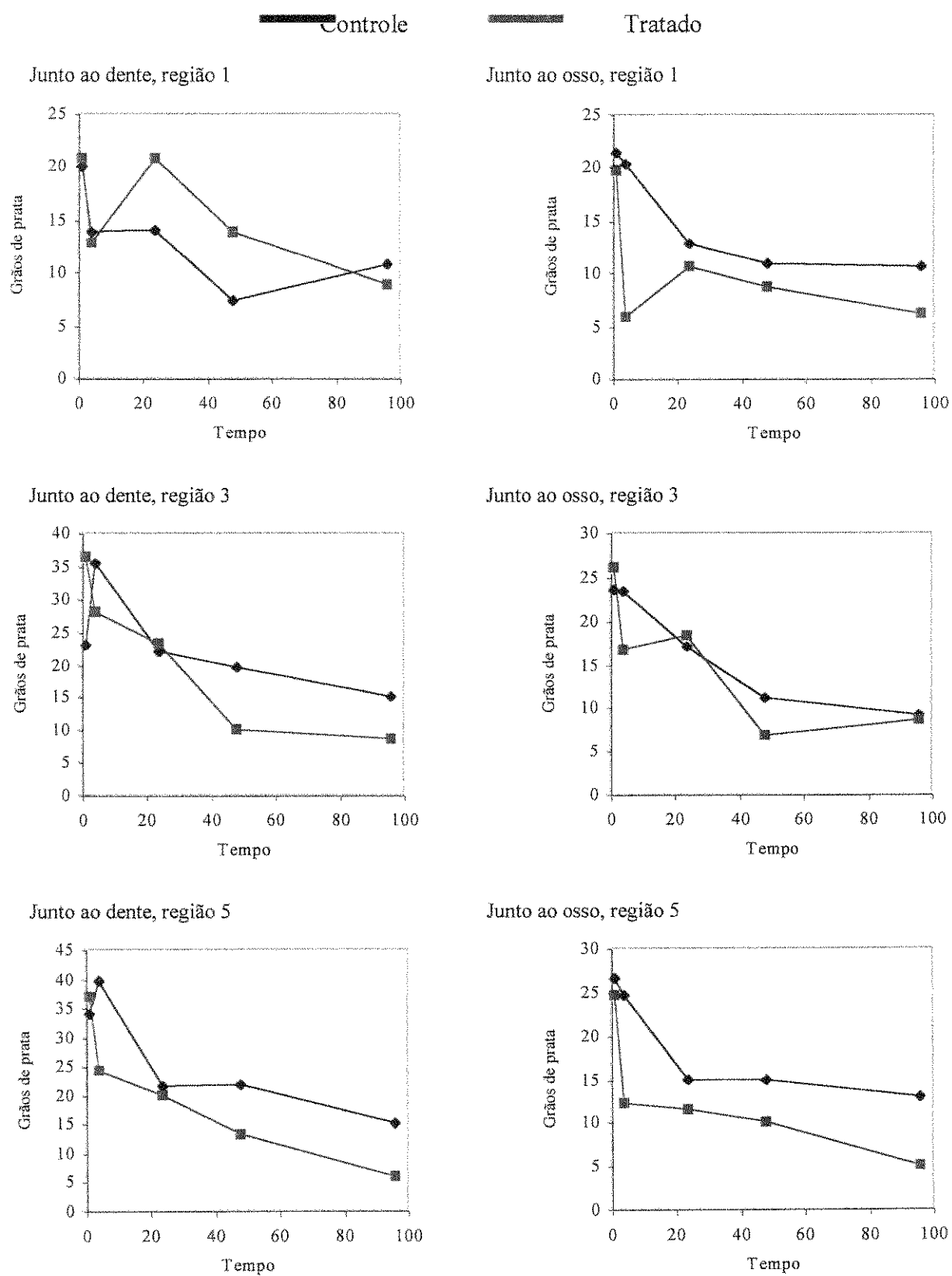


Figura 4.2. Número médio de grãos de prata no ligamento periodontal de incisivo (desimpedido) de camundongos, segundo o tempo.



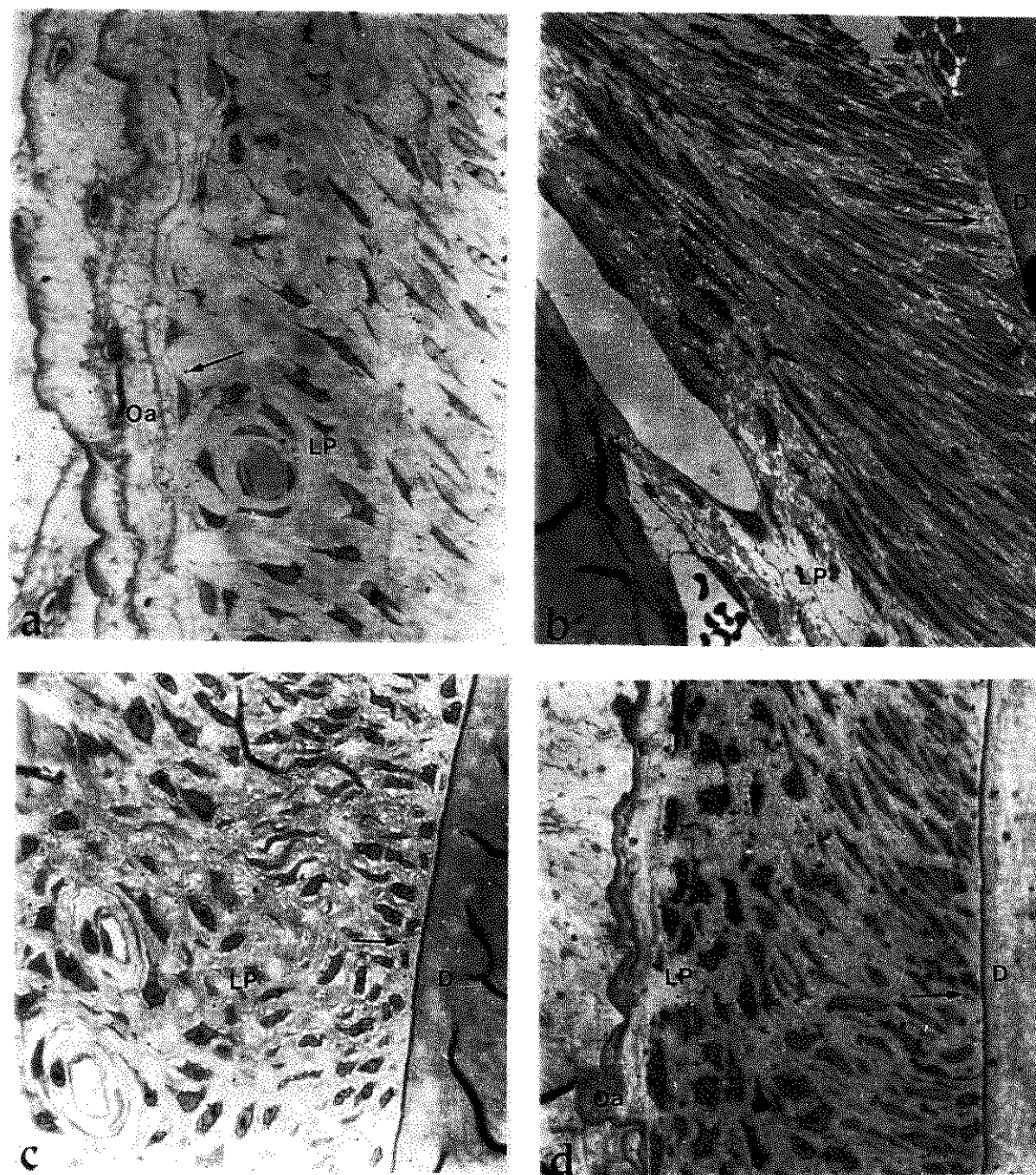


Figura 5 – a e b: Concentração de grãos de Ag (setas) na R₃ do IIE, 1h após a injeção de ³HGly, grupos C e T respectivamente. Aum. 1000x; c e d: concentração de grãos de Ag (setas) na R₁ do IID, 4h após injeção de ³HGly, grupos C e T respectivamente. Aum. 1000x.

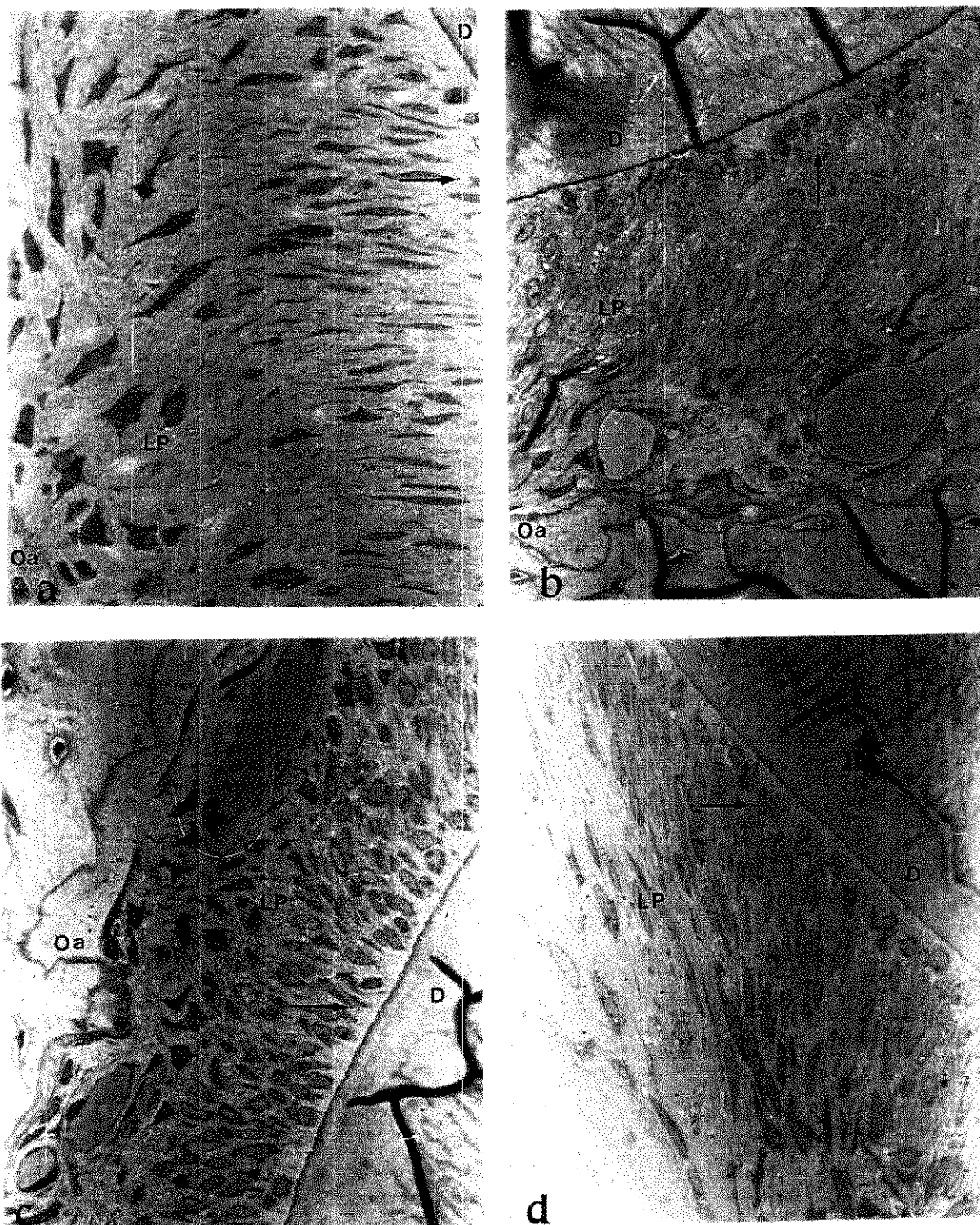


Figura 6 – a e b: Concentração de grãos de Ag (setas) na R₃ do IID, 24h após a injeção de ³HGly, grupos C e T respectivamente. Aum. 1000x; c e d: concentração de grãos de Ag (setas) na R₅ do IIE, 48h após injeção de ³HGly, grupos C e T respectivamente. Aum. 1000x.

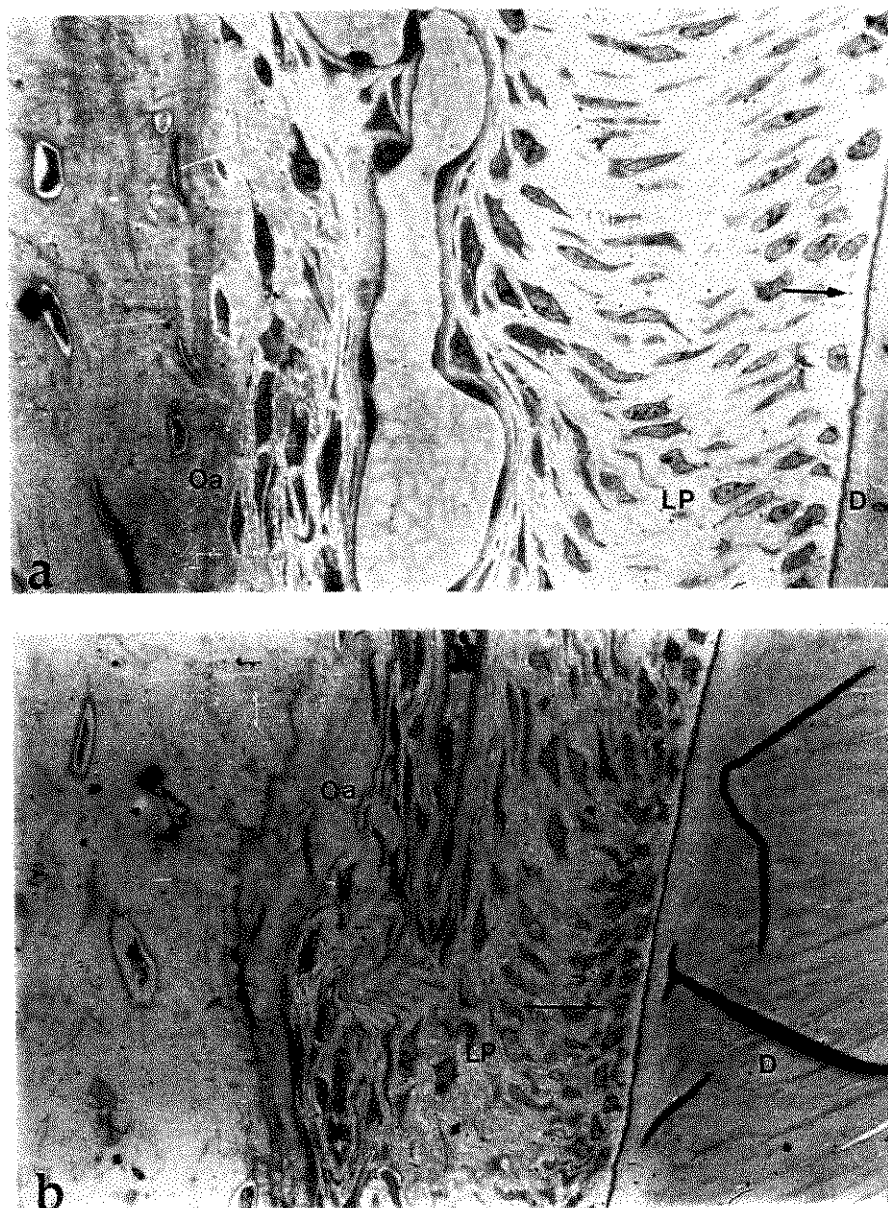


Figura 7 – a e b: Concentração de grãos de Ag (setas) na R₁ do IIE, 96h após a injeção de ³HGly, grupos C e T respectivamente. Aum. 1000x;



Figura 8 – Concentração de grãos de Ag (seta) na R₅ mostrando o pulso de máxima atividade da ³HGly na dentina do IID 48h após injeção, no grupo T.

DISCUSSÃO

A Ciência não é um conhecimento definitivo sobre a realidade, mas um conhecimento hipotético, que deve ser questionado e corrigido.

Sônia Vieira

Após analisados os resultados dos radioautogramas, levantados e processados matematicamente e estatisticamente, dispôs-se os mesmos em tabelas e gráficos que demonstram, de maneira clara, os eventos biológicos durante o tempo de todo o experimento. Isso também se observa nas figuras 5, 6 e 7. Além da comparação entre os escores levantados dos radioautogramas dos animais tratados com os animais controles, foi também interessante comparar os dados dentro de cada grupo, ou seja: comparar os resultados das contagens dos grãos de $\text{Ag}/\mu\text{m}^2$ entre as condições da erupção (impedida ou desimpedida); entre as 3 regiões (1 com 3; 1 com 5 e 3 com 5), como também comparar os compartimentos junto ao dente (LJD) com aquele junto ao osso (LJO) em cada situação, ou seja, tanto em dentes impedidos e desimpedidos, como entre animais tratados e controles. Essas comparações foram elaboradas baseando-se na análise matemática resumida nas tabelas 1 e 2 e nas planilhas do Apêndice.

Dessa forma, verifica-se que a incorporação do aminoácido radioativo ($^3\text{H}\text{Gly}$) apresentou resultados diferentes em relação às condições da erupção, ao tempo decorrido entre a injeção de glicina tritiada e o sacrifício do animal, bem como à condição de tratamento ou não pela hidro cortisona.

Comparações entre incisivo direito impedido com esquerdo desimpedido nos animais tratados

Pelas tabelas 1 e 2 observa-se que a incorporação do aminoácido radioativo foi diferente em algumas ocasiões e não em outras. Assim, observa-se que, comparando-se os incisivos direito impedido com o esquerdo desimpedido nos animais tratados com a

hidrocortisona, o compartimento LJD da região 1 mostra que houve maior incorporação do aminoácido radioativo às 24 horas no incisivo esquerdo desimpedido e às 4 horas no incisivo direito impedido. Isto está de acordo com ORLOWSKI (1976) que demonstrou que o aminoácido radioativo prolina fica disponível, na forma livre, na circulação sangüínea pelo menos 24 horas; também a glicina radioativa, em sua forma livre, se presta como traçador da síntese e renovação do colágeno (CARNEIRO & FAVA de MORAES, 1965). É interessante lembrar que a hidrocortisona solúvel (na dosagem de 5 mg/kg de peso corporal), atinge rapidamente um pico máximo no plasma sangüíneo em 1-2 horas; seus níveis plasmáticos declinam a partir daí, porém permanecem mensuráveis por 4-6 horas (DUNCAN, HANSON & CURTIS, 1973); dessa forma, com a dose subdividida, permanecem atuando por tempo maior do que aquele de disponibilidade do aminoácido radioativo. Assim, nesse estudo, nos animais tratados, há aceleração da erupção, promovida pelos corticóides, por sua ação glicocorticóide (CHIBA & OHSHIMA, 1985); a hidrocortisona também, por sua ação glicocorticóide, aumenta o colágeno insolúvel (id.). Após 4 horas na circulação sangüínea, a $^3\text{HGly}$ pode ser observada principalmente em substância intercelular (CARNEIRO & FAVA de MORAES, 1965). Dessa maneira, espera-se maior incorporação de $^3\text{HGly}$ durante o período de 4 horas. Após as 24 horas iniciais, o precursor é incorporado em proteínas não colágeno (ORLOWSKI, 1976). Provavelmente foi o que ocorreu com os animais usados nesse trabalho. Deve-se lembrar que a aceleração da erupção não ocorre no mesmo nível nos incisivos impedidos e desimpedidos, uma vez que a hiperfuncionalidade dos impedidos, no movimento mastigatório, em parte é equilibrada pela oposição das forças da oclusão, como afirmou ROBINS (1973). Este processo praticamente se repetiu no mesmo compartimento da região 3 entre os animais tratados, onde os escores levantados demonstram que, às 24 horas, houve

maior absorção no LP do incisivo esquerdo e no direito ela ocorreu à 1 hora. Na região 5, a maior taxa de incorporação à 1 hora nos incisivos esquerdos desimpedidos, fez jus ao que ocorre em termos de metabolismo na área proliferativa que lhe é vizinha - há que se lembrar que a compartimentalização obedece critérios didáticos/metodológicos de referência anatômica e que facilitam a análise. Funcionalmente, como demonstrado por SMITH e WARSHAWSKY (1976), há continuidade da diferenciação em secção transversal do LP de incisivos (de rato). Em relação ao compartimento LJD da região 5, nos mesmos animais, a maior absorção no LP do incisivo esquerdo foi à 1 hora e no direito o foi às 4 horas. Os níveis mínimos de absorção na região 1, nestes animais, ocorreram às 4 horas no LP do incisivo esquerdo e às 96 horas no LP do incisivo direito. Quanto aos demais tempos, os valores foram "aleatórios" no LP do incisivo esquerdo; no direito houve uma "tendência" mais harmônica de redução. Na região 3 os valores mínimos de incorporação da $^3\text{HGly}$ ocorreram às 48 horas no LP do incisivo esquerdo e às 96 horas no direito. Nos demais tempos, tanto no LP do incisivo esquerdo quanto no direito, os valores numéricos da absorção se mostraram aleatórios. Na região 5 desse compartimento (LJD) os valores mínimos de incorporação do aminoácido radioativo ocorreram às 96 horas tanto no LP do incisivo esquerdo quanto no direito. Nos demais tempos, tanto no LP do direito quanto no do esquerdo, os LP mostraram diminuição harmônica e gradual entre os valores do pico máximo e mínimo.

No compartimento LJO da região 1, nesses animais tratados, o valor máximo de incorporação do composto radioativo no LP do incisivo esquerdo ocorreu à 1 hora, o que se repetiu no do incisivo direito. Já na região 3, a maior incorporação no LP do incisivo esquerdo ocorreu às 24 horas e no do direito às 4 horas. Isso mostra certa similaridade com os dados correspondentes ao compartimento LJD e, provavelmente, pelas mesmas razões

biológicas, como disponibilidade temporal da $^3\text{HGly}$ (ORLOWSKI,1976) ou a aceleração da erupção (CHIBA & OHSHIMA,1985). Os dados desse compartimento na região 5 mostraram maior incorporação à 1 hora no LP do incisivo esquerdo e às 4 horas no do direito. Aqui também os componentes celulares e extracelulares do LP nesse compartimento (LJO) apresentaram certa similaridade qualitativa com os do compartimento LJD nos mesmos animais. Isso pareceu estar coerente com o dados revelados por ZAJICEK (1974 - *apud* BERKOVITZ e MOXHAM, 1982). No compartimento LJO da região 1, o valor mínimo de incorporação no LP do incisivo esquerdo ocorreu às 4 horas, enquanto no do direito a incorporação mínima foi às 48 horas. Nos demais tempos ocorreram absorções com índices “aleatórios” tanto no LP do incisivo esquerdo quanto no do direito. A região 3, nesse compartimento, apresentou nível mínimo de incorporação às 48 horas no LP do incisivo esquerdo e às 96 horas no do direito; nesse último, nos demais tempos, houve níveis com gradual diminuição a partir do pico máximo. Já no incisivo esquerdo os níveis de absorção foram “aleatórios” nos demais tempos. Estes dados podem ser observados nas planilhas do Apêndice.

**Comparações entre incisivo direito impedido com o esquerdo
desimpedido nos animais controles**

As figuras 4.1 e 4.2 demonstram que nos animais controles, o compartimento LJD da região 1 mostrou maior incorporação do aminoácido radioativo às 4 horas no LP do incisivo esquerdo e à 1 hora no do incisivo direito. Na região 3, no mesmo compartimento no LP do incisivo esquerdo, houve maior incorporação às 4 horas, o que se repetiu no do incisivo direito. Em relação à região 5 desses mesmos animais, a maior incorporação foi às 4 horas tanto para o LP do incisivo esquerdo quanto para o do direito.

Com relação ao compartimento LJO desses animais, observa-se que, na região 1, o LP do incisivo esquerdo e do direito mostraram maior incorporação às 4 horas. Na região 3, também houve maior absorção às 4 horas no LP de ambos os incisivos. Na região 5, o compartimento LJO apresentou-se com maior índice de absorção às 4 horas tanto no LP de incisivo esquerdo quanto no de direito. A região 1 mostrou níveis máximos de incorporação às 96 horas no LP do incisivo impedido e às 48 horas no do desimpedido. A região 3, nesse compartimento, apresentou nível mínimo de incorporação às 48 horas no LP do incisivo esquerdo e às 96 horas no do direito; nesse último, nos demais horários, houve níveis com gradual redução a partir do pico máximo. Já no LP do incisivo esquerdo, os níveis foram aleatórios nos demais tempos. Aqui, os escores levantados não estão coerentes com o que se pode verificar em outros trabalhos como os de TOSELLO (1990) e de POLACOW (1992). Uma vez que o desimpedimento *per se* estimula o incremento de erupção em incisivos desimpedidos (CHIBA, KURODA & OHSHIMA, 1981) a renovação, conseqüentemente, também deve estar aumentada. Entretanto, aqui só se pode reportar aos resultados contraditórios também observados em seus trabalhos por CHIBA, KURODA e OHSHIMA (1981) e CHIBA & OHSHIMA (1985).

Foi interessante observar que, no compartimento LJD, tanto na região 3 quanto na 5, nesses animais controles, houve coincidência no tempo quanto ao maior nível de absorção da $^3\text{HGly}$. Isso, possivelmente, significa não haver muita diferença na biossíntese e degradação de proteínas apenas em relação ao estado de desimpedimento ou não da erupção. Tais resultados podem ser bem visualizados nas tabelas estatísticas (1.1 – 1.24) e nos gráficos das figuras 4.1 e 4.2. Observe-se que o compartimento LJO desses animais tratados também mostrou comportamento similar aos de LJD nos mesmos animais. Em relação aos valores mínimos de incorporação da glicina tritiada nesse compartimento,

observa-se que, na região 1, o LP do incisivo esquerdo desimpedido a apresentou às 4 horas, enquanto o do impedido às 96 horas. Nos demais tempos, o LP do incisivo esquerdo apresentou valores "distribuídos aleatoriamente", enquanto que o do direito apresentou dados de incorporação mais harmônica com "tendência à elevação" para o pico máximo e de diminuição gradativa a partir daí. Na região 3 desses animais, verifica-se que a absorção mínima do composto radioativo, pelo incisivo esquerdo, foi às 48 horas; já no direito o foi às 96 horas. Os demais tempos, em ambos os incisivos, mostraram níveis de incorporação aleatórios. Na região 5 desse compartimento, os menores valores de incorporação, como podem ser vistos na tabela 2 ocorreram às 96 horas para o incisivo esquerdo e para o direito; nesse último houve uma "tendência" harmônica à diminuição a partir do pico máximo, enquanto no incisivo esquerdo os valores intermediários entre a máxima e a mínima incorporação foram ao acaso. Esses dados não são comparáveis aos de TOSELLO (1990) ou de POLACOW (1992) por terem, as autoras, usado secções longitudinais dos incisivos de camundongos.

Comparações entre compartimentos LJD e LJO nas regiões 1, 3, 5

entre animais tratados e controles

As comparações entre valores levantados nos 2 compartimentos e nas 3 regiões analisadas, entre animais tratados e controles, ficaram parcialmente prejudicadas, pela demonstração, através do método estatístico, de que não houveram diferenças significativas entre os 2 grupos (fig. 4.1 e 4.2). À microscopia óptica de rotina, utilizada para a análise radioautográfica, não foi possível discriminar qualitativamente os resultados. À primeira vista, os resultados mostraram certa similaridade de grandezas numéricas, como

se pode observar pelo quadro 2. Apesar de algumas variações, os compartimentos LJD se mostraram com valores aparentemente superiores aos dos compartimentos LJO. Isso, porém, não foi confirmado pela análise estatística. Entretanto, os valores relativos ao tempo de 96 horas, geralmente, coadunam-se com aqueles de BURN-MURDOCH (1988). Neste artigo, o autor afirma que a cortisona aumentou significativamente a taxa de erupção de incisivos de rato, após 48 horas do início das injeções deste fármaco. Como já assinalado, a hidrocortisona (ou a cortisona) apresenta efeito lento logo após a secção de coroas clínicas ou de regiões progenitoras, ou seja, seus efeitos se fazem evidentes a partir de 2 dias de aplicação diária de hidrocortisona (BURN-MURDOCK, 1988). Em dentes não submetidos a esforço, como os incisivos desimpedidos, o potencial eruptivo atinge sua expressão máxima nas primeiras 3 semanas do estado de desimpedimento (MICHAELI et al., 1994). Outro ponto a ser considerado é que os corticóides (como a hidrocortisona o é) atuam através do controle da velocidade de síntese de proteínas (HAYNES Jr, 1990). Por outro lado, a ligação corticóide-receptor citosólico dissocia uma proteína do grupo "proteína de choque térmico" (a hsp 90), liberada também em situações de estresse (id.). Isso pode ter ocorrido com os animais desse estudo, uma vez que foram manuseados 4 vezes ao dia, independentemente do que lhes foi injetado subcutaneamente, causando-lhes, obviamente, considerável estresse, como já alertavam CHIBA, KURODA & OHSHIMA (1981). A isso pode-se somar o manejo dos animais nos dias de secção do incisivo esquerdo e a higienização de gaiolas. E mais: os animais são de hábitos noturnos, o que significa que, todo manejo durante o período diurno (como os realizados nesse trabalho), ocorre num horário diferente do ritmo circadiano endócrino dos animais (SZAFARCZYK, BOUISSIN & COURRIER, 1971).

Usando corticosteróides em seus experimentos a essencial maioria dos autores, cujos artigos puderam ser analisados nesse trabalho, demonstrou que as diferenças mais significativas entre animais tratados e controles foram observadas nos experimentos em que os fármacos foram utilizados por tempo mais longo do que aquele usado neste estudo (DOMM & WELBAND, 1958; CARNEIRO & FAVA de MORAES, 1965; KAFOED & BOZZINI, 1970; DUNCAN, HANSON & CURTIS, 1973; RIPPIN, 1976; BEERTSEN & EVERTS, 1977; CHIBA, KURODA & OHSHIMA, 1981; MOXHAM & BERKOVITZ, 1983; TENG et al., 1989, entre outros).

Pela análise comparativa entre animais tratados e controles, como se observa na tabela 2, não houve um padrão decrescente de absorção da $^3\text{Hgly}$ entre 1 e 96 horas; isso também é mostrado estatisticamente na tabela e nos gráficos das figuras 4.1 e 4.2. Esta comparação discorda dos resultados de TOSELLO (1990) e POLACOW (1992) embora as autoras tenham usado uma droga que tem efeito inverso à hidrocortisona; porém seus dados de animais controles também são diferentes daqueles dos controles observados nesse estudo. Pode-se, porém comparar esses dados com os de BURN-MURDOCH (1988): cortisona acelera erupção de dentes impedidos e desimpedidos, após os primeiros 2 dias de início de tratamento (inclusive diferenças de peso corporal se iniciam a partir daí); também CHIBA, KURODA & OHSHIMA (1981) observaram este aspecto usando, além da hidrocortisona, a triancinolona e a desoxicorticosterona (DOCA). Diferenças significativas nos valores de incisivos desimpedidos foram observados entre 4 e 10 dias, ou seja 96 - 240 horas depois do início do tratamento com corticóide (BURN-MURDOCH, 1988). DOMM & WELBAND (1958) afirmaram que a cortisona acelerou a taxa de erupção em ratas não adrenalectomizadas durante a segunda semana de tratamento. Embora os resultados desse

trabalho não possam ser conclusivos, como se verifica estatística e matematicamente nos quadros 1 e 2, nas tabelas 1.1-1.24 e nos gráficos das figuras 4.1 e 4.2, poder-se-ia especular que resultados diferentes e estatisticamente significativos poderiam ser observados se os experimentos desse estudo houvessem sido prolongados temporalmente, ou se se tivesse uma amostra de material maior ou se a metodologia, usada para levantamento dos dados, considerasse apenas as áreas (em μm^2), ou, talvez, tivesse sido usado métodos estatísticos mais adequados, entre outras modificações na condução do experimento.

Observe-se que, apesar da perda de animais tratados, às 96 horas as grandezas numéricas entre os valores levantados em tratados e controles não se mostram, aparentemente, muito diferentes, o que também pode ser visto pelos resultados matemáticos expressos nos quadros 1 e 2, nos gráficos das figuras 4.1 e 4.2 e nas figuras 5, 6 e 7. Porém, pelos valores expressos nesses quadros e nas planilhas do Apêndice, a região 5, que é, anatomicamente, a mais próxima da região proliferativa, mostra dados coerentes com o que se poderia esperar como consequência da ação de corticosteróides sobre a região onde ainda devem estar predominando as atividades celulares proliferativas (TENG et al., 1989) em relação às de biossíntese e renovação, inerentes às regiões onde a diferenciação de subpopulações e suas atividades-fim, estão se manifestando em maior intensidade, como o são as regiões 1 e 3. Note-se que as regiões são apenas didaticamente equacionadas, não havendo, portanto, limites funcionais biologicamente determinados: todas as alterações gradualmente se sucedem (fig. 2). Nestas regiões, macrófagos e diferentes subpopulações de fibroblastos liberam metaloproteinase 1 (como também inibidores dessa enzima), relacionada à degradação de colágeno (LEKIC & McCULLOCH

1996). Os glicocorticóides, como a hidrocortisona o é, atuam inibindo síntese de enzimas citosólicas, como a collagenase e a elastase, entre outras (HARIMA et al.,1987); interferem, portanto, diretamente nas regiões onde os processos de renovação são mais intensos (como as regiões 1 e 3) e de maneira diferente da ação sobre as regiões mais proliferativas ,como parece ser a região 5. A hidrocortisona, interferindo diretamente na estabilização de membrana citoplasmática e lisossômica, além de inibir a síntese de prostaglandinas e leucotrienos, possivelmente também bloqueia a liberação do fator transformador de crescimento beta 1, que precede a presença de monócitos e, conseqüentemente, a diferenciação e ação de células tipicamente fagocitárias (como macrófagos e osteoclastos). Isso, como afirmou SHROFF et al. (1994), *apud* LEKIC & McCULLOCH,(1996), indicaria que células da parte incisal do folículo dentário poderiam coordenar a remodelação óssea pré-eruptiva. Esse seria um fator pré-requisito para a produção de colágeno tipo I, pelas células da porção mais incisal do folículo dental. Topograficamente, essa região estaria situada, no material histológico analisado nesse trabalho, na área mais incisal da região 3 (fig. 2). Os valores expressos no quadro 2, em relação à essa região às 96 horas após a injeção de glicina tritiada, estariam compatíveis com a afirmativa dos autores acima assinalados, se for levada em consideração a perda de animais do grupo tratado. Por outro lado, enquanto se organiza a região cementária da face lingual do incisivo de camundongo, a fibronectina, uma das proteínas não colágeno do LP, pode desempenhar importante papel na diferenciação de fibroblastos e na formação e arranjo estrutural do LP (LEKIC & McCULLOCH,1996). Esse processo, provavelmente ocorre (longitudinalmente no incisivo de camundongo) a partir da área mais incisal da região 5 e em direção à região 1. Dados de cinética celular, do desenvolvimento da raiz nascente em camundongos, indicam que a

formação de células-tronco fibroblásticas (CTF) podem estar espacialmente /topograficamente relacionadas com o desenvolvimento do diafragma radicular, em molares, área a partir da qual as células-filhas das CTF migram coronalmente para se diferenciar em fibroblastos (PERERA & TONGE, 1981b, *apud* LEKIC & McCULLOCH, 1996). Possivelmente isso ocorreu nos animais usados nesse trabalho, na região 5 (quadros 1 e 2). Os estudos cinéticos de MICHAELI et al. (1986) já indicavam que a região basal ou proliferativa de incisivos desimpedidos de rato, exibiam significativo aumento no índice mitótico e que a produção celular no epitélio interno do esmalte é duplicada. A região 5 desse estudo é histológica e funcionalmente contínua à região proliferativa (Fig. 2), o que pode possibilitar que os mesmos fatores que regulam e/ou alteram a região proliferativa, também o façam sobre as células da área topograficamente mais à distal da região 5.

Outro aspecto que se deve considerar, é que fatores que possam interferir nas ligações cruzadas presentes nas moléculas de colágeno, resultam em aumento nos valores da erupção em roedores: aqueles que interferem com a formação e maturação do colágeno (como a deficiência de ácido ascórbico e a administração de corticóide) retardam a erupção de dentes impedidos e desimpedidos (THOMAS, 1976). Por outro lado, a rápida renovação do colágeno do LP, "a rápida maturação de precursores e formação de lábeis ligações cruzadas" (RIPPIN, 1976) interferem nas funções de transporte e movimentação dos dentes; esta rápida renovação ocorre também em altos níveis por toda a extensão horizontal, isto é: do cemento ao osso alveolar, sendo também dependente da movimentação dental (id.).

A renovação dos componentes do LP, segundo RIPPIN (1978), também sofre alterações de velocidade em relação à idade dos animais. Assim, por exemplo, o crescimento condilar requer movimentos dentais adaptativos em animais jovens, o que requer mais rápida renovação no sentido horizontal do LP (RIPPIN, 1976). Isso diminui mas não cessa nos adultos (id.). Os animais usados no presente estudo eram adultos jovens (com peso médio de 33,397g); ¹sabe-se que camundongos e ratos, machos obviamente, continuam seu crescimento e, portanto, seu ganho de peso durante toda sua vida¹

Também ocorrem movimentos adaptativos nos animais adultos para compensar a atrição oclusal (RIPPIN, 1978). Deve-se lembrar ainda que, com o avançar da idade, ocorre progressiva insolubilização do colágeno (id.). Este dado não pode ser comparado com os desse trabalho, uma vez que a técnica histoquímica específica (digestão pela collagenase) mostrou resultados que não puderam ser refeitos para confirmação. De qualquer forma, a interferência bioquímica da hidrocortisona exógena (e em alta dosagem, apesar de haver sido usada por via de aplicação diferente daquela prescrita na literatura -SCHIMMER & GEORGE, 1991 e pelo fabricante - Rhodia ®, que preconizam via intravenosa ou, pelo menos, intramuscular) possivelmente se fez presente nos animais usados nesse trabalho, já que, como corticosteróide, intervém em funções biológicas importantes de biossíntese e degradação, diminuindo a síntese e aumentando o catabolismo de colágeno (THOMAS, 1976) mesmo em baixas concentrações.

Em roedores, a ³HGly como marcador na região basal, mostrou um pico de absorção comparável com o da erupção (CARNEIRO & FAVA de MORAES, 1965). Além disso, já foi demonstrado que tanto células como matriz extracelular da região

¹ Comunicação pessoal do Prof. Dr. José Merzel.

justadental do LP de camundongos, constituem um tecido firmemente integrado e que se move sincronicamente com o incisivo em erupção (BEERTSEN & HOEBEN, 1987); esses autores afirmam que essa movimentação das células da região mais próxima ao dente cessa quando a erupção é bloqueada.

Comparação entre animais tratados e controles em relação ao tempo pós administração de ^3H Gly

Comparando-se animais tratados com controles, em relação ao tempo decorrido após administração do composto radioativo, observa-se (pelas tabelas 1 e 2 e figuras 4.1 e 4.2) que os incisivos esquerdos desimpedidos apresentaram, em seu compartimento LJD na região 1, maior absorção nos animais controles às 4 horas e às 24 horas nos animais tratados. Os menores índices ocorreram às 48 horas nos animais controles e às 4 horas nos tratados. Na região 3, esse compartimento apresentou seus maiores índices às 4 horas nos animais controles e à 1 hora nos animais tratados. Na região 5 os maiores índices de absorção também coincidiram com aqueles tempos observados na região 3; nestes animais os mais baixos níveis de incorporação se deram às 96 horas para os controles e para os tratados; nos demais tempos parece não haver um padrão para os índices de absorção tanto em animais controles como em tratados, o que pode ser verificado nas tabelas estatísticas (4.1 a 4.24). Isso está de acordo com CHIBA, KURODA & OHSHIMA (1981) que não encontraram diferenças entre ratos tratados com corticóides e seus controles, exceto nos 2 primeiros dias pós tratamento com hidrocortisona.

No compartimento LJO, a comparação entre animais tratados e controles mostra que, na região 1, os animais controles apresentaram, às 24 horas, sua maior taxa de

absorção, enquanto os animais tratados a apresentaram à 1 hora. Em relação à região 3, os maiores índices se apresentaram às 4 horas nos animais controles e à 1 hora nos animais tratados. Na região 5 desse compartimento, a comparação também apresenta maiores níveis de absorção às 4 horas nos animais controles e à 1 hora nos tratados. Nessa região o menor índice foi às 96 horas tanto em controles como em tratados. Esses dados estão explicitados nas fig. 4.1 e 4.2. Tanto os dados de LJD quanto os de LJO, dos animais controles, não são comparáveis aos de POLACOW (1992) que usou tempos similares aos desse trabalho.

Comparando-se animais controles com tratados, observa-se, pela tabela 2 que, no compartimento LJO da região 1, os valores intermediários entre aqueles do pico máximo e do mínimo se distribuíram de forma casual nos animais controles. Nos tratados houve certa "tendência" à diminuição harmônica entre 1 e 96 horas, com exceção do nível observado às 48 horas. Na região 3, nesse mesmo compartimento, tanto os animais controles como os tratados mostraram uma "tendência" gradual à diminuição a partir do pico máximo para os demais tempos. Em relação à região 5, houve uma "diminuição gradual" da incorporação da $^3\text{HGly}$ a partir do pico máximo nos animais tratados; já nos controles a mesma mostrou valores "distribuídos ao acaso". Estes dados, observados nas tabelas relativas aos valores levantados dos radioautogramas (tabelas 1 e 2) também estão expressos nos gráficos representativos da análise estatística, que não detectou diferenças significativas entre tratados e controles (figuras 4.1 e 4.2).

As comparações entre os incisivos direitos impedidos de animais controles e tratados demonstram que os maiores índices de incorporação da $^3\text{HGly}$ no compartimento LJD da região 1, foram à 1 hora nos animais controles, e às 4 horas nos tratados. Na região 3 desse compartimento, os animais controles mostraram maior incorporação às 4 horas e às

24 nos tratados. A região 5 desse compartimento, mostrou coincidência de tempo nos maiores índices de incorporação nos animais controles e tratados às 4 horas. Os menores índices de incorporação da $^3\text{HGly}$ nestes animais, no compartimento LJD da região 1, ocorreram nos incisivos dos animais controles e tratados às 96 horas. Nos demais intervalos de tempo, ou seja, aquele em que ocorreu o pico máximo e aquele em que houve a menor incorporação do aminoácido radioativo, nos animais controle, houve uma "gradual redução" a partir do pico, com exceção da incorporação às 48 horas. Já nos tratados, houve um escore mais homogêneo de diminuição da absorção a partir do pico máximo.

Estes dados comparativos entre compartimentos LJD e LJO não são contrapostos a outros da literatura, uma vez que os autores que trabalharam com $^3\text{HGly}$ (como CARNEIRO & FAVA de MORAES, 1965) ou outros traçadores como $^3\text{HThy}$ (ZAJICEK, 1974 *apud* BEERTSEN & HOEDEN, 1987) ou $^3\text{HPro}$ (ORLOWSKI, 1976) não analisaram compartimentos separadamente.

O compartimento LJO mostrou, na região 1, que os animais controles apresentaram seu pico de absorção máxima às 4 horas e os tratados à 1 hora. Observa-se que, nos demais tempos, houveram valores aleatórios nos animais controles. Já nos tratados, houve uma "aparente diminuição" de incorporação da $^3\text{HGly}$. Na região 3, os valores máximos coincidiram no tempo de 4 horas. Os valores mínimos ocorreram, tanto em tratados quanto em controles, às 96 horas. Nos demais tempos houve, praticamente, o mesmo padrão de absorção tanto em controles quanto em tratados. Na região 5 também houve coincidência de tempo de absorção máxima do aminoácido radioativo em 4 horas, tanto para os animais controles quanto para os tratados. Os valores mínimos foram observados às 48 horas para os animais controles e às 96 horas para os animais tratados. Nos demais tempos os valores

de absorção foram "aleatórios" nos animais controles, mas nos tratados houve uma "tendência" de redução progressiva a partir do pico máximo de 4 horas. Esses resultados não se coadunam com o que foi analisado por RIPPIN (1976) que afirmou que há altos níveis de renovação por toda a extensão horizontal do LP, ou seja, no sentido cemento – osso alveolar.

Comparações entre as regiões 1, 3 e 5 nos animais controles

Quando se comparam as três regiões entre si, nos animais controles, observa-se que no compartimento LJD do incisivo direito impedido, a região 1 apresentou a absorção de ^3H Gly harmonicamente distribuída em grandeza crescente e decrescente em relação ao pico máximo em 4 horas. Já a região 3 mostrou níveis de absorção com distribuição bem irregular em relação à máxima em 24 horas. Comparando-se a região 1 com a 5, nestes mesmos animais, pode-se observar que a mesma acompanhou a absorção verificada na região 1, porém, com valores superiores em cada horário. A comparação da região 3 com a 5 desse grupo de animais, apresenta discrepância na tendência dos valores observados, já que a região 3 mostrou valores bastante irregulares. No compartimento LJO desses incisivos, observou-se que a comparação entre região 1 e 3 apresentou, na 3, valores de incorporação crescente até o pico máximo de absorção às 4 horas e valores decrescentes a partir dele até 96 horas. Já a região 1 mostrou valores decrescentes a partir do pico em 1 hora, com exceção à incorporação às 48 horas. A comparação entre as regiões 1 e 5, em relação ao compartimento LJO, mostrou a região 5 com valores crescentes até o pico máximo em 4 horas e decrescentes até 96 horas. A comparação entre as regiões 3 e 5, neste compartimento, mostrou índices de absorção crescentes até o pico máximo em 4 horas e

decrecentes até as 96 horas, podendo ser a região 3 mais harmônica em seus níveis de absorção do que a região 5. Esses resultados também não podem ser comparados aos de SILVA (1997), uma vez que a densidade volumétrica de estruturas extracelulares representa outro tipo de aferição de padrões biológicos.

As comparações entre regiões do incisivo direito impedido nos animais controles, apresentaram no compartimento LJD da região 1, níveis de absorção decrescentes a partir do pico máximo em 1 hora, com exceção ao observado às 24 horas. A região 3, comparavelmente à 1, mostrou valores de incorporação da $^3\text{HGly}$ com distribuição mais irregular, sendo o pico máximo às 4 horas e o mínimo às 2 horas. Comparando-se as regiões 1 e 5, observamos que a incorporação da glicina radioativa, nesta última, praticamente acompanhou aquela da região 1, embora, aparentemente, com valores superiores. Já ao se comparar a região 3 com a 5 neste mesmo compartimento e nestes mesmos animais, observa-se a mesma "tendência" de índices de incorporação do precursor radioativo inclusive nos valores "da exceção" às 48 horas. Esses dados não podem ser comparados com similares da literatura, mas deve-se lembrar que a hidro cortisona mostra seus diversos efeitos como glicocorticóide a partir de 48 horas de início de tratamento (BURN-MURDOCH, 1988). Também já foi assinalado por BEERTSEN & EVERTS (1977) que a incorporação de $^3\text{HPro}$ (outro traçador para colágeno) não apresenta níveis apreciáveis de marcação radioativa antes de 4 horas após sua injeção.

Comparando-se, nas regiões 1 e 3 o compartimento LJO do incisivo direito impedido, verifica-se que ambas mostraram escores com distribuição irregular, mas com coincidência do pico máximo em 4 e do mínimo em 96 horas. Os mesmo se observa na comparação entre regiões 1 e 5, embora essa última mostre os níveis mais baixos de

incorporação às 24 horas. A comparação entre as regiões 3 e 5 mostra que o pico de absorção máxima da $^3\text{HGly}$ foi às 4 horas; os demais valores apresentam-se com distribuição muito irregular tanto em ordem de grandeza como em relação aos tempos crescentes.

A comparação entre as regiões 3 e 5 destes animais, mostrou que ambas apresentaram, aparentemente, níveis de absorção com as mesmas "tendências" ao longo do tempo. Já a comparação entre estas regiões, no que se refere a seu compartimento LJO nos mesmos animais, mostra que a região 1 apresenta um nível máximo de incorporação de $^3\text{HGly}$ à 1 hora, e um mínimo às 96 horas; a região 3, comparativamente, parece mostrar valores de absorção superiores à de número 1 mas com um pico máximo às 24 horas. Os demais valores em ambas as regiões mostraram uma distribuição, ao longo do tempo de experimento, bem irregular.

A comparação entre a região 1 e 5 deste mesmo compartimento e incisivo, também mostra uma aparente similaridade na distribuição de seus valores, embora seus níveis mínimos de absorção do aminoácido radioativo difiram em relação aos tempos de ocorrência.

A comparação entre as regiões 3 e 5 mostram níveis de absorção máximo em tempos bem diferentes: 24 horas na região 3 e 1 hora na região 5; também os níveis mínimos diferiram em tempo: 48 horas para a 3 e 96 horas para a região 5. Nos demais tempos, em ambas as regiões, os valores levantados se mostraram aparentemente bem diferentes e mais diversificados em relação à sua distribuição temporal.

A comparação entre regiões do incisivo esquerdo desimpedido dos animais controle, em relação ao compartimento LJD, mostrou que a região 1 e a 3 apresentaram seus níveis

Discussão

máximos de incorporação do precursor radioativo às 4 horas; seus níveis mínimos ocorreram, respectivamente, às 48 horas e 96 horas. Aparentemente, os demais valores, relativos aos tempos observados, mostraram tendência similar, sendo aqueles da região 3 superiores, à primeira vista. Comparando-se os valores da região 1 com a região 5 nestes animais, observa-se que o compartimento LJD na região 1, aparentemente os apresenta com grandezas inferiores aos da 3, embora tenha havido coincidência de seus níveis de absorção máxima às 4 horas; os níveis mínimos, porém, foram respectivamente às 48 horas e às 96 horas. Nos demais tempos, ambas as regiões mostraram, aparentemente, as mesmas "tendências". As comparações entre regiões, tanto de animais controles quanto de tratados, não puderam ser comparados com os dados de SILVA (1997) em relação aos componentes extracelulares, como já explicitado.

Já a comparação entre as regiões 3 e 5 aparentemente mostra as mesmas tendências, inclusive em relação ao tempo em que ocorreram seus picos máximos e mínimos. Nesse aspecto, os dados aqui apresentados se assemelham ao que foi expresso por TENG et al. (1989): o tratamento com hidrocortisona não mostrou diferenças estatísticas significativas em relação aos valores da erupção de dentes com a região proliferativa seccionada. Nos animais utilizados no presente estudo porém, ao se comparar as regiões entre si, em relação ao tempo e em relação a seu compartimento LJO, pode-se verificar que, entre a região 1 e a 3, também houve coincidência no tempo em que ocorreu a absorção máxima da $^3\text{HGly}$ (às 4 horas); a mínima às 96 horas e, de certa forma, alguma similaridade, aparente, entre os escores levantados nos demais tempos em ambas as regiões.

Comparando-se as regiões 1 e 5, observa-se que os picos máximos de absorção ocorreram às 4 horas; os mínimos, também ocorreram às 96 horas em ambas as regiões.

Nos demais intervalos de tempo analisados, verificou-se uma certa similaridade de "tendência de distribuição", embora, aparentemente, os valores da 3 sejam superiores aos da região 1.

Na comparação entre as regiões 3 e 5, aparentemente se observa o mesmo quadro de tendências da comparação anterior, com os valores de incorporação máximos e mínimos coincidentes em horários; aqui também a região numericamente superior aparentemente mostra valores superiores. Esses dados não puderam ser comparados aos de BEERTSEN & EVERTS (1977), uma vez que nesse estudo não foram aferidos os valores da erupção.

**Comparações entre compartimentos, estado da erupção e aplicação
ou não de succinato de hidrocortisona.**

Comparando-se os valores dos compartimentos, LJD e LJO em cada estado de erupção e aplicação ou não de succinato de hidrocortisona, ao longo dos tempos analisados, pode-se verificar que, no incisivo esquerdo desimpedido tratado, sua região 1 mostra as seguintes expressões de incorporação de $^3\text{HGly}$: no compartimento LJD a incorporação máxima ocorreu às 24 horas; no LJO à 1 hora; os valores mínimos de LJD e LJO coincidiram no tempo de 4 horas. Em relação aos demais valores, nos outros intervalos de tempo, observa-se também a mesma aparente similaridade. Na região 3 não houve coincidência temporal para os valores máximos e mínimos de incorporação do precursor radioativo em LJD: à 1 hora ocorreu a incorporação máxima e às 96 horas a mínima. Já em LJO, a máxima foi às 24 e a mínima às 48 horas. Nessa região, em ambos os compartimentos, a distribuição aparentemente se deu ao acaso em todos os intervalos de tempo. Na região 5, ambos os compartimentos mostraram seus picos máximos de absorção

à 1 hora, e os mínimos às 96 horas. A distribuição dos escores levantados em relação aos demais intervalos de tempo, aparentemente se mostrou com a mesma "tendência aleatória". Estas comparações podem, agora, ser comparadas com as de BEERTSEN & EVERTS (1977), quando afirmam que a remodelação do colágeno não é, necessariamente, uniforme no LP.

Em relação às comparações dos compartimentos no incisivo esquerdo desimpedido dos animais controles, a região 1 do compartimento LJD apresentou o nível de absorção máxima às 4 horas, o que coincidiu com os valores similares de LJO. Já em relação aos valores mínimos de absorção, LJD os apresentou às 48 horas; LJO às 96 horas. Nos demais intervalos de tempo aparentemente houve a mesma "tendência de ocasionalidade". Na região 3 do mesmo incisivo, os compartimentos LJD e LJO apresentaram às 4 horas seus níveis de absorção máxima; às 96 horas seus níveis mínimos. Nos demais tempos, aparentemente houve a mesma "tendência na distribuição" de grandezas. A região 5 também apresentou seus níveis máximos de absorção do precursor radioativo às 4 horas, tanto para LJD como para LJO; ocorreu também coincidência nos valores mínimos às 96 horas. Observa-se aqui, também aparentemente, a mesma "tendência de distribuição" de valores em relação aos demais intervalos de tempo. Isso, porém, não pode ser comprovado estatisticamente, como se pode observar nos gráficos das figuras 4.1 e 4.2.

Os incisivos direitos impedidos dos animais tratados, mostraram, na comparação entre seus compartimentos da região 1 o seguinte: LJD apresentou seus níveis de incorporação máximo da $^3\text{HGly}$ às 4 horas; LJO os apresentou à 1 hora. Os níveis mínimos de incorporação em LJD ocorreram às 96 horas. Em LJO às 48 horas. O compartimento LJD, aparentemente, mostrou certa regularidade de "tendência à elevação e diminuição de

valores" a partir do pico máximo nos demais intervalos de tempo. Já LJO mostrou maior "aleatoriedade" de distribuição de seus valores de absorção dos tempos analisados. Em relação à região 3, LJD apresentou seus níveis máximos de incorporação às 24 , enquanto LJO o fez às 4 horas. Os níveis mínimos de LJD se encontraram no tempo de 48 e os de LJO às 96 horas.

Em LJD, nos demais tempos aferidos, aparentemente houve uma "distribuição oscilatória" em seus níveis de assimilação do aminoácido radioativo. Já em LJO parece Ter havido uma "distribuição" de valores crescente e decrescente em relação ao pico máximo em 4 horas. Na região 5, tanto LJD como LJO apresentaram certa "tendência aparente" de regularidade na absorção da $^3\text{HGly}$ que foi crescente até 4 horas, onde ocorreram os níveis máximos e, coincidentemente, decrescente com a mesma aparente "tendência" aos níveis mínimos em 96 horas.

Nos animais controles, o incisivo direito impedido apresentou, comparativamente, em seus compartimentos LJD e LJO na região 1, um pico máximo de absorção à 1 hora para o primeiro e às 4 horas para o segundo. Os níveis mínimos, de ambos os compartimentos, apresentou-se às 96 horas. Ambos os compartimentos mostraram "tendência à aleatoriedade de distribuição" dos valores de absorção nos demais intervalos de tempo. Na região 3, os níveis máximos de incorporação em LJD, ocorreram em 24 horas, o que se repetiu em LJO. Esse último, porém, aparentemente mostrou uma "tendência" de crescimento e decréscimo em relação ao pico máximo nos demais intervalos de tempo. Já em LJD, os valores da incorporação do aminoácido radioativo, nos outros intervalos de tempo, parecem ser mais "aleatórios". Na região 5, ambos os compartimentos mostraram seu pico de absorção máxima às 4 horas. Em LJD, o mínimo ocorreu às 24 horas

enquanto que nos outros tempos, os índices de absorção, aparentemente, foram aleatórios. Já em LJO, o pico de absorção mínimo ocorreu às 48 horas, também com distribuição aparentemente irregular nos demais tempos aferidos.

Estas comparações entre compartimentos e entre regiões só puderam ser exploradas matematicamente e a meia vida das macromoléculas marcadas radioativamente só puderam ser demonstradas através dos cálculos matemáticos e dos gráficos de regressão linear (Apêndice). Estes oferecem condições de se deduzir não só uma possível distribuição dos dados, mas também a melhor reta demonstrativa dessa provável distribuição temporal. Pela análise estatística que foi possível, verifica-se que a distribuição não obedece os padrões de distribuição linear, mas sim uma distribuição em "linha quebrada" que demonstra a instabilidade de ocorrência da absorção do precursor radioativo nas condições experimentais deste estudo. TENG et al. (1989), também não observaram diferenças estatísticas significativas nos valores da erupção de incisivos tratados com hidrocortisona. Por outro lado, os resultados desse estudo, possivelmente estão de acordo com o afirmado por CHIBA, KURODA & OHSHIMA (1981) que assinalaram que mineralocorticóides não causam efeitos mensuráveis nas propriedades físicas e químicas de tecidos conjuntivos de suporte. Mas também significa que, nas condições em que foi realizado o presente trabalho, não foi possível detectar diferenças estatísticas entre os grupos, especialmente entre tratados e controles. Para tanto e, por conseguinte, para se verificar de maneira clara e satisfatória, cientificamente reprodutível, se a hidrocortisona interfere e a que nível interfere, na renovação de proteínas do ligamento periodontal de incisivos de camundongos com erupção em situação de desimpedimento ou não, sugere-se:

Discussão

- aumentar o tamanho da população, ou usar, como amostra, as áreas de $980\mu\text{m}^2$;
 - obedecer os critérios farmacológicos de administração da droga e/ou, talvez, aumentar a dosagem prescrita;
 - usar período de experimento mais longo para se verificar, por tempo mais adequado, a atuação da droga no modelo biológico proposto;
 - melhorar a qualidade da aferição e dos insumos necessários;
 - fazer doseamento de ACTH e hidrocortisona no princípio e no dia do sacrifício dos animais.
-
- Utilizar ^3THy para marcação nuclear e $^3\text{Hpro}$ para colágeno para se utilizar métodos esterológicos compatíveis
 - Inverter os períodos dia/noite no biotério.

CONCLUSÕES

*Se não consegues produzir o muito
Que desejas, realiza o pouco, segundo*

As tuas possibilidades.

Emmanuel

Após a apuração dos resultados expressos nos radioautogramas, analisados matematicamente e estatisticamente, verificou-se, pela sua comparação com os de vários pesquisadores, alcançados pela literatura internacional acessada, que, pela metodologia utilizada, os dados coletados não foram suficientes para se detectar diferença estatística entre grupos de animais tratados e controles.

Também não foi verificado, de forma irrefutável, se a hidrocortisona interfere (e como o faz) ou não na renovação de proteínas colágeno e não colágeno, marcadas com $^3\text{HGly}$, nos dentes incisivos de camundongos no modelo biológico de erupção impedida e desimpedida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

*Gerar, mas não reivindicar posse,
agir, mas não se prevalecer dos resultados,
conduzir, mas não manipular.*

Lao Tse

ALBERTS, B. et al. **Biologia molecular da célula**. 3.ed. Porto Alegre, Artes Médicas, 1997. Cap. 15, p.729-731.

_____. et al. **Molecular biology of the cell**. 2.ed. New York, Garland Publishing Inc., 1989. Cap. 8, 10, 12.

ASPENBERG, P.; HANSSON, L.J.; THORNGREN, K.G. Modification of bone formation rate by growth hormone, melanocyte-stimulating hormone and cortisone in normal rat. **Acta anat.**, **121**: 84-8, 1985.

BEERTSEN, W. Migration of fibroblast in the periodontal ligament of the mouse incisor as revealed by autoradiography. **Archs oral Biol.**, **20**: 659-66, 1975.

BEERTSEN, W. Tissue dynamics in the periodontal ligament of the mandibular incisor of the mouse. A preliminary report: Apud MICHAELLI, Y. et al. The response of fibroblast population in the periodontal ligament of rat incisors to altered eruption rates. **J. periodont. Res.**, **21**: 186-94, 1986.

_____. & EVERTS, V. The site of remodelling of collagen in the periodontal ligament of the mouse incisors. **Anat. Rec.**, **189**: 479-98, 1977.

_____. & HOEBEN, K.A. Movement of fibroblasts in the periodontal ligament of the mouse incisor is related to eruption. **J. dent. Res.**, **66**(5): 1006-10, 1987.

BERKOVITZ, B.K.; MOXHAN, B.J.; NEWMAN, H.N. **The periodontal ligament in health and disease**. Oxford, Pergamon Press, 1982. Cap. 9, 10, 11, 12, 20.

_____.; _____.; _____. **The periodontal ligament in health and disease**. London, Mosby-Wolfe, 1995. Cap. 8, 9

- BLAUSHILD, N.; MICHAELI, Y.; STEIGMAN, S. Histomorphometric study of the periodontal vasculature of the rat incisor. **J. dent. Res.**, 71(12): 1908-12, 1992.
- BLUMEN, G. & MERZEL, J. **Radioautografia. Princípios, aplicações e técnicas**. 2.ed. Piracicaba, FOP/UNICAMP. 96p.
- BURN-MURDOCH, R.A. The effect of corticosteroids and cyclophosphamide on the eruption of resected incisor teeth in the rat. **Archs oral Biol.**, 33(9): 661-7, 1988.
- _____. The effect of cyclofosfamide on the eruption of impeded and resected incisors in rats. **Archs oral Biol.**, 35(10): 801-06, 1990.
- CARNEIRO, J. & FAVA DE MORAES, F. Radioautographic visualization of collagen metabolism in the periodontal tissues of the mouse. **Archs oral Biol.**, 10: 833-48, 1965.
- CARRANZA JUNIOR, F.A. & UBIOS, A.M. As estruturas de suporte do dente. In: CARRANZA JUNIOR, F.A. & NEWMAN, M.G. **Periodontia clínica**. 8.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1997. Cap. 2, p.32-53.
- CHIBA, M. & OHSHIMA, S. Effects of colchicine and hydrocortisone on unimpeded eruption rates of root resected mandibular incisors of rates. **Archs oral Biol.**, 30(2): 147-53, 1985.
- _____.; KURODA, T.; OHSHIMA, S. Effects of adrenocorticoids on impeded and unimpeded eruption rates and on the mechanical properties of the periodontium in the rat mandibular incisor. **Archs oral Biol.**, 26: 577-83, 1981.
- _____. et al. Acceleration and circadian rhythm of eruption rates in the rat incisor. **Archs oral Biol.**, 21: 269-71, 1976.

- COHN, S. Development of the molar teeth in the albino mouse. **Am. J. Anat.**, **101**: 295-320, 1957.
- DOMM, L.V. & KIERLY, M.L. The effect of cortisone on minotic activity in the rat incisors. **Proc. Soc. exp. Biol. Med.**, **129**: 912-6, 1968. Apud TENG, C.M.; SOBROWSKI, F.J.; JONSTON, JR., L.G. The effect of cortisone on the eruption rate of root-resected incisors in the rat. **Am. J. Orthod. dentofac. Orthop.**, **95**: 67-71, 1989.
- _____. & MARZANO, R. **Anat. Rec.**, **118**: 338, 1954. Apud DOMM, L.V. & WELLBAND, W.A. Effect of adrenalectomy and cortisone on eruption rate of incisors in young female albino rats. **Proc. Soc. exp. Biol. Med.**, **104**: 582-84, 1958.
- _____. & WELLBAND, W.A. Effect of adrenalectomy and cortisone on eruption rate of incisors in young female albino rats. **Proc. Soc. exp. Biol. Med.**, **104**: 582-84, 1958.
- DUNCAN, H.; HANSON, C.A.; CURTIS, A. The different effects of soluble and crystalline hydrocortisone on bone. **Calcif. tissue Res.**, **12**: 159-68, 1973.
- GATHERCOLE, L.J. *In vitro* mechanics of intrusive loading in porcine cheek teeth with intact and perforated root apices. **Archs. oral Biol.**, **32**: 249-55, 1987. Apud KOMATSU, K. & VIIDIK, A. Changes in the fibre arrangement of the rat incisor periodontal ligament in relation to various loading levels *in vitro*. **Archs oral Biol.**, **41**(2): 147-59, 1996.
- HARIMA, H.A. et al. Medicamentos anti-inflamatórios II. Drogas de ação lenta e esteróides. **J. bras. Med.**, **52**(6): 39-50, 1987.

- HAYNES JR., R.C. Hormônio adrenocorticotrópico; esteróides córtico-supra-renais e seus análogos sintéticos; inibidores da síntese e ações dos hormônios córtico-supra-renais. In: GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 8.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1990. Cap. 60.
- KARIMBUX, N.Y. & NISHIMURA, I. Temporal and spatial expressions of type XII collagen in the remodeling periodontal ligament during experimental tooth movement. **J. dent. Res.**, 73: 313-8, 1995.
- KARNOWSKY, M.J. A formaldehyde - glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **J. Cell Biol.**, 27: 137-8, 1965.
- KIELY, M.L. & DOMM, L.V. The effect of a magnesium deficient diet and cortisone on the growth of the rat incisor. **J. Dent. Res.**, 56: 1577-85, 1977. **apud** TENG, C.M.; SOBROWSKI, F.J.; JOHNSTON JR., L.E. The effect of cortisone on the eruption rate of root-resected incisors in the rat. **Am. J. Orthod. dentofac. Orthop.**, 95: 67-71, 1989.
- KOFDED, J.A. & BOZZINI, C.E. The effect of hydrocortisone on the concentration and synthesis of acid mucopolysaccharides in the rat gengiva. **J. periodont. Res.**, 5: 259-62, 1970.
- KOMATSU, K. & VIIDIK, A. Changes in the fibre arrangement of the rat incisor periodontal ligament in relation to various loading levels "in vitro". **Archs oral Biol.**, 41(2): 147-59, 1996.
- KOPRIWA, B.M. & LEBLOND, C.P. Improvements in the coating technique of radioautography. **J. Histochem. Cytochem.**, 10: 269-84, 1962.

- LACASSAGNE, A.; LATTES, J.; LAVEDAN, J. Étude expérimentale des effects biologiques du polonium introduit dans l'organisme. **J. Radiol. Electrol**, 9: 1, 1925.
- Apud BLUMEN, G. & MERZEL, J. Radioautografia. Princípios, aplicações e técnicas. 2.ed. Piracicaba, FOP - UNICAMP.
- LEKIC, P. & McCULLOCH, C.A.G. Periodontal ligament cell populations: the central role of fibroblasts in creating a unique tissue. **Anat. Rec.**, 245: 327-41, 1996b
- LEROY, P.; DOMM, L.V. **Ann. Endocrinol.**, 16: 733, 1955. Apud DOMM, L.V. & WELLBAND, W.A. Effect of adrenalectomy and cortisone on eruption rate of incisors in young female albino rats. **Proc. Soc. exp. Biol. Med.**, 104: 582-84, 1958.
- LUFT, J.H. Improvements in epoxy resin embedding methods. In: HAYAT, M.A. **Principles and techniques of electron microscope-biological applications**. New York, Van Nostrand Reinhold, 1970. V.1.
- MACNEIL, R.L. et al. Expression of type I and XII collagen during development of periodontal ligament in the mouse. **Archs oral Biol.**, 43: 779-87, 1998.
- _____. et al. Role of two mineral-associated adhesion molecules, osteopontin and bone sialoprotein in cementogenesis. **Connect. tissue Res.**, 33: 323-29, 1995.
- MARCHI, E. Tritiated proline applied to the study of biosynthesis of collagen. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RADIOAUTOGRAPHY, 5. 1997, São Paulo. **Anais ...** São Paulo, USP, 1997.
- MELCHER, A.H. On the repair potential of periodontal tissues. **J. Periodont.**, 47: 256-260, 1976. Apud MACNEIL, R.L. et al. Expression of type I and XII collagen mouse. **Archs oral Biol.**, 43: 779-87, 1998.

- MELCHER, A.H. Repair of wounds in the periodontium of the rat. Influence of periodontal ligament on osteogenesis. **Archs oral Biol.**, **15**: 1183-204, 1970. Apud MACNEIL, R. L. et al. Expression of type I and XII collagen during development of the periodontal ligament in the mouse. **Archs oral Biol.**, **43**: 779-87, 1998.
- MICHAELI, Y.; STEIGMAN; S.; YITSCHAKY, M.; WEINREB JR., M. The response of the fibroblast population in the periodontal ligament of rats incisors to altered eruption rates. **J. periodontal Res.**, **21**: 86-94, 1986.
- _____. et al. The response of the fibroblast population in the periodontal ligament of rat incisors to altered eruption rates. **J. periodont. Res.**, **21**: 86-94, 1986.
- MINETTI, C.A.S.A. Hormônios adrenais. Parte 1 - hormônios esteróides. In: VALLE, L.B.S. et al. **Farmacologia Integrada. Fundamentos farmacológicos da terapêutica.** Rio de Janeiro, Atheneu, 1991. V.2, p.973-99.
- MOXHAN, B.J. & BERKOVITZ, K.B. Interactions between thyroxine, hydrocortisone and cyclophosphamide and their effects on the eruption of the rat mandibular incisor. **Archs oral Biol.**, **28**(12): 1083-87, 1983.
- NEIDLE, E.A. & YAGIELA, J.A. Fármacos anti-inflamatórios. In: **Farmacologia e Terapêutica para Dentistas.** 3.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991. p.316-24.
- NESS, A.R. Eruption - a review. Apud ROBINS, M.W. Circadian pattern of the incisor teeth by laboratory rats. **Archs oral Biol.**, **18**: 641-45, 1975.
- ORLOWSKI, W.A. The incorporation of ³H-proline into the collagen of the periodontium of a rat. **J. periodont Res.**, **11**: 96-100, 1976.

- PERERA, K.A. & TONGE, C.H. Fibroblast cell population kinetics in mouse molar periodontal ligament in tooth eruption. **J. Anat.**, **133**: 281-300, 1981b. Apud LEKIC, P. & McCULLOUGH, C.A.G. Periodontal ligament cell populations: the central role of fibroblasts in creating a unique tissue. **Anat. Rec.**, **245**: 327-41, 1996b.
- PIRATU, S.; MCCULLOCH, C.A.G.; NARAYAMA, S.A. Cellular origins and differentiation control mechanisms during periodontal development and wound healing. **J. periodont. Res.**, **29**: 81-94, 1994.
- POLACOW, M.L.O. Efeito da vimblastina na incorporação de 3H-glicina em proteínas do ligamento periodontal de incisivos de camundongos em erupção normal e desimpedida. 1992. 53p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
- RALPH, W.J. Tensile behavior of periodontal ligament. **J. periodont. Res.**, **17**: 423-26, 1982. Apud KOMATSU, K. & VIIDIK, A. **Archs oral Biol.**, **41**(2): 147-59, 1996.
- RIPPIN, J.W. Collagen turnover in the periodontal ligament under normal and altered functional forces. I. Young rat molars. **J. periodont Res.**, **11**: 101-7, 1976.
- _____. Collagen turnover in the periodontal ligament under normal and altered functional forces. II. Adult rat molars. **J. periodont. Res.**, **13**: 149-154, 1978.
- ROBINS, M.W. Circadian pattern of the use of the incisor teeth by laboratory rats. **Archs oral Biol.**, **18**: 641-5, 1973.
- SCHIMMER, B.P. & GEORGE, S.R. Hormônio adrenocortico trópico e esteróides supra-renais. In: KALANT, H. & ROUCHLAU. **Princípios de Farmacologia Médica**. 5.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991. Cap. 47.

- SCHOUR, I. & MASSLER, M. The teechn. In: GRIFFITH JR., J.O. & FARRIS, E.J. **The rat in the laboratory investigation**. Philadelphia, J.B. Lippincott, 1942.
- _____. & _____. **Am. J. Physiol.**, **115**: 334, 1936. Apud DOMM, L.V. & WELLBAND, W.A. Effect of adrenalectomy and cortisone on eruption rate of incisors in young female albino rats. **Proc. Soc. exp. Biol. Med.**, **104**: 582-84, 1958.
- SHROFF, B. et al. Dynamic variation in the expression of type I collagen and its molecular chaperone Hsp 47 in cells of the mouse dental follicle during tooth eruption. **Archs. Oral Biol.**, **39**: 231-243, 1994. Apud LEKIC, P. & McCULLOGH, C.A.G. Periodontal ligament cell populations: the central role of fibroblasts in creating a unique tissue. **Anat. Rec.**, **245**: 327-41, 1996b.
- SILVA, M.A.J. **Estudo morfométrico dos compartimentos de várias regiões do ligamento periodontal de incisivos de ratos em condições de erupção alterada pelo desimpedimento e pela vimblastina**. 1997, 53p. Tese (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
- SIMS, M.R. et al. Microvascular luminal volume changes in aged mouse periodontal ligament. **J. dent. Res.**, **75**(7): 1503-11, 1996.
- SMITH, C.E. & WARSHAWSKY, H. Movement of entire cell populations during renewal of the rat incisor as shown of radioautography after labeling with 3H-Thymidine. The concept of a continuously differentiating cross-sectional segment. **Am. J. Anat.**, **145**: 225-260, 1976.
- STALLARD, R.E. The utilization of H3-proline by connective tissue elements of the periodontium. **Periodontics**, **1**: 185-8, 1963. Apud ORLOWSKI, W. The incorporation of H3-proline into the collagen of the periodontium of a rat. **J. periodont. Res.**, **11**: 96-100, 1976.

- SZAFARCZYK, A.; BOISSIN, J.; ASSENMACHER, I. Effects du niveau d'éclairement sur le rythme circadien de la corticortéronémie chez la ratte. **C.R. Acad. Sc. Paris**, **273**: 2583-86, 1971.
- TAYLOR, A.C. & BUTCHER, E.O. The regulation of eruption in the incisor teeth of the white rat. Apud ROBINS, M.W. Circadian pattern of the use of the incisor teeth by laboratory rats. **Archs oral Biol.**, **18**: 641-5, 1973.
- TENG, C.M.; SOBROWSKI, F.J.; JOHNSTON JR., L.E. The effect of cortisone on the eruption rate of root-resected incisors in the rat. **Am. J. Orthod. dentofac. Orthop.**, **95**: 67-71, 1989.
- THOMAS, N.R. Collagen as the generation of tooth eruption. In: POOLE, D.F.G. & STARCK, M.V.. **The eruption and occlusion of teeth. Colston papers nr. 2.ed.** London, Butterworth, 1976. p. 290-301.
- TOSELLO, D.O. **Biossíntese de proteínas do ligamento periodontal de incisivos de camundongos em erupção desimpedida e retardada pela vimblastina. Estudo radioautográfico através da incorporação de 3H-glicina.** Tese (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1990. 57p.
- VIEIRA, S. **Introdução à Bioestatística.** 3.ed. Rio de Janeiro, Campus, 1988. Cap.7, 15.
- WARSHAWSKY, H. & MOORE, G. A technique for fixation and decalcification of rat incisors for electron microscopy. **J. Histochem. Cytochem.**, **15**: 542-9, 1967.
- WHITE, A.; HANDLER, P.; SMITH, E.L. **Principles of biochemistry.** 5.ed. Tokio, McGraw-Hill Kogakusha, 1973. Cap. 4, 7, 8, 21, 41, 44, 45.

- ZAJICEK, G. Fibroblast cell kinetics in the periodontal ligament of the mouse. **Cell. tissue kin.**, 7: 479-92, 1975. Apud BEERTSEN, W. & KOEBEN, K.A. Movement of fibroblasts in periodontal ligament of the mouse incisor is related to eruption. **J. dent. Res.**, 66(5): 1006-10, 1987.
- ZANINI, A.C. & OGA, S. **Farmacologia Aplicada**. 4.ed. São Paulo, Atheneu, 1989. p.461-70.

APÊNDICE

Deus não joga dados !

Albert Einstein

ROSELI DEOLINDA RIBEIRO

**ESTUDO RADIOAUTOGRÁFICO DOS EFEITOS DA
HIDROCORTISONA NO LIGAMENTO PERIODONTAL DE
INCISIVOS INFERIORES DE CAMUNDONGOS**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado
em Odontologia da Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas
como parte dos requisitos para a
obtenção do grau de Doutor em Ciências
– Área de concentração Biologia e
Patologia Buco-dental.

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

FEVEREIRO / 1999

APÊNDICE - Quadro/tabela 1
CONCENTRAÇÃO MÉDIA EM LOGARITMO NATURAL DE GRÃOS DE Ag / 980 µm²

INCISIVO CONTROLE IMPEDIDO					
TEMPO	ANIMA	COMPA	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	2,8326	2,9036	3,2363
		LJO	2,5014	2,6203	3,0243
4	3	LJD	2,8088	3,2847	3,4701
		LJO	2,6012	2,975	3,1561
24	3	LJD	2,3456	2,6926	2,9085
		LJO	2,3135	2,8837	2,8397
48	3	LJD	2,5703	2,7127	2,9882
		LJO	2,5177	2,644	2,777
96	3	LJD	2,1587	2,8332	2,9617
		LJO	1,8961	2,5471	2,8837

INCISIVO TRATADO IMPEDIDO					
TEMPO	ANIMA	COMPA	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	2,6225	3,091	3,2189
		LJO	2,7226	2,8904	3,091
4	3	LJD	3,0479	2,9124	3,3659
		LJO	2,644	2,9423	3,2734
24	2	LJD	2,7619	3,157	3,1206
		LJO	2,3351	2,7511	3,0037
48	2	LJD	2,5088	2,6596	2,7543
		LJO	2,115	2,7492	2,7167
96	2	LJD	2,4371	2,7479	2,6108
		LJO	2,1529	2,5345	2,4221

INCISIVO CONTROLE DESIMPEDIDO					
TEMPO	ANIMA	COMPA	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	3,0012	3,1355	3,5264
		LJO	3,0653	3,1591	3,279
4	3	LJD	3,1368	3,3607	3,7331
		LJO	3,2465	3,2112	3,3759
24	3	LJD	2,6304	3,091	3,0704
		LJO	2,5557	2,8397	2,7
48	3	LJD	2,5557	2,973	3,0856
		LJO	2,3979	2,4177	2,7081
96	3	LJD	2,6391	2,7154	2,7154
		LJO	2,3561	2,2214	2,5557

INCISIVO TRATADO DESIMPEDIDO					
TEMPO	ANIMA	COMPA	REGIÃO		
			1	3	5
1	3	LJD	3,0321	3,5915	3,6098
		LJO	2,9826	3,2566	3,2036
4	2	LJD	2,3897	3,3301	3,1892
		LJO	2,1691	2,8166	2,5072
24	2	LJD	3,0417	3,5488	3,3992
		LJO	2,7688	3,3182	2,849
48	2	LJD	2,7825	2,7187	2,9872
		LJO	2,5649	2,3351	2,7081
96	2	LJD	2,5772	2,5518	2,1972
		LJO	2,2148	2,5518	2,036

DENTINA CONTROLE IMPEDIDO					
TEMPO	ANIMA		REGIÃO		
			1	3	5
1	3	—	3,9476	4,9861	2,4816
4	3	—	4,5779	5,2277	5,3489
24	3	—	4,0905	4,955	5,026
48	3	—	4,6848	5,2303	5,1977
96	3	—	4,6842	5,4652	5,3508

DENTINA TRATADO IMPEDIDO					
TEMPO	ANIMA		REGIÃO		
			1	3	5
1	3	—	3,9074	4,6623	5,1985
4	3	—	4,8154	5,1349	5,2013
24	2	—	4,5521	5,3675	5,117
48	2	—	4,209	5,2192	5,2685
96	2	—	4,3937	5,0654	5,2511

DENTINA CONTROLE DESIMPEDIDO					
TEMPO	ANIMA		REGIÃO		
			1	3	5
1	3	—	4,6293	4,8555	5,0216
4	3	—	4,796	5,0189	5,4222
24	3	—	4,8212	5,2615	5,2609
48	3	—	5,1299	5,4337	5,1546
96	3	—	5,273	5,5628	5,0991

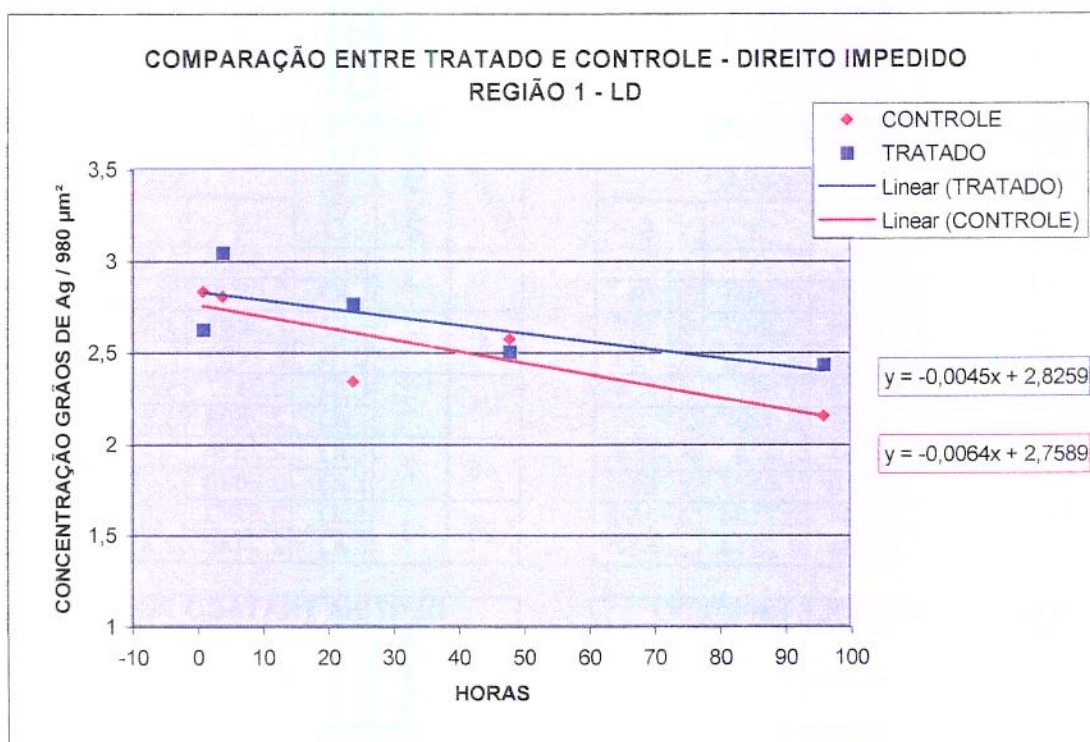
DENTINA TRATADO DESIMPEDIDO					
TEMPO	ANIMA		REGIÃO		
			1	3	5
1	3	—	4,4539	4,9664	5,2503
4	2	—	5,2785	5,1574	5,2194
24	2	—	4,7473	5,4032	5,1852
48	2	—	4,9224	5,1808	5,2966
96	2	—	5,2204	5,3115	4,8739

COMPARAÇÃO ENTRE TRATADO E CONTROLE
DIREITO IMPEDIDO - REGIÃO 1 - LD

HORAS	1	4	24	48	96
CONTROLE	2,83	2,8	2,34	2,57	2,15
TRATADO	2,62	3,04	2,76	2,5	2,43

MEIA VIDA (CONTROLE) : 0,251223

MEIA VIDA (TRATADO): 0,245267

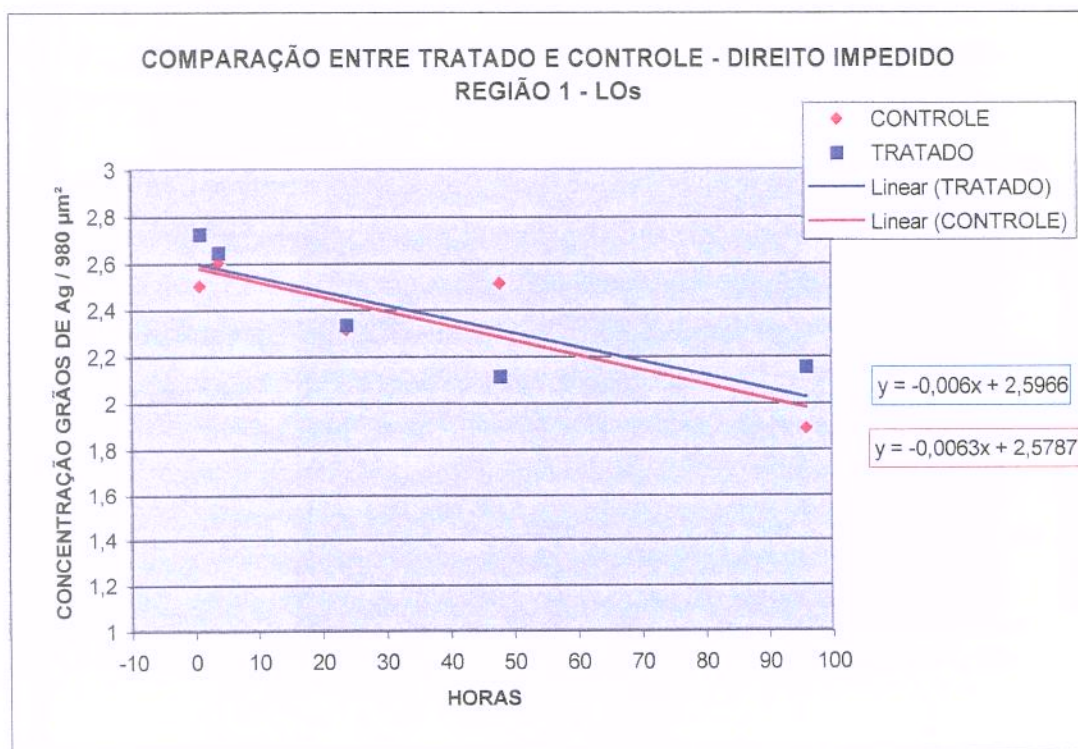


COMPARAÇÃO ENTRE TRATADO E CONTROLE
DIREITO IMPEDIDO - REGIÃO 1 - LOs

HORAS	1	4	24	48	96
CONTROLE	2,5	2,6	2,31	2,51	1,89
TRATADO	2,72	2,64	2,33	2,11	2,15

MEIA VIDA (CONTROLE) : 0,268779

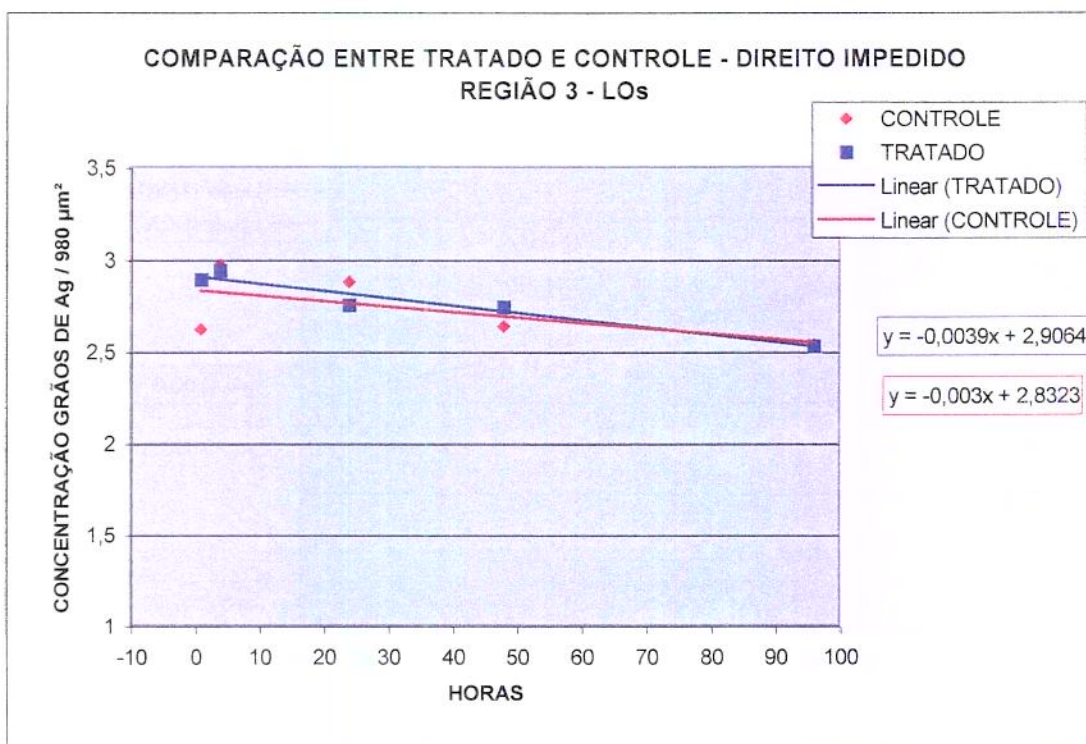
MEIA VIDA (TRATADO): 0,266926



COMPARAÇÃO ENTRE TRATADO E CONTROLE
DIREITO IMPEDIDO - REGIÃO 3 - LOs

HORAS	1	4	24	48	96
CONTROLE	2,62	2,97	2,88	2,64	2,54
TRATADO	2,89	2,94	2,75	2,74	2,53

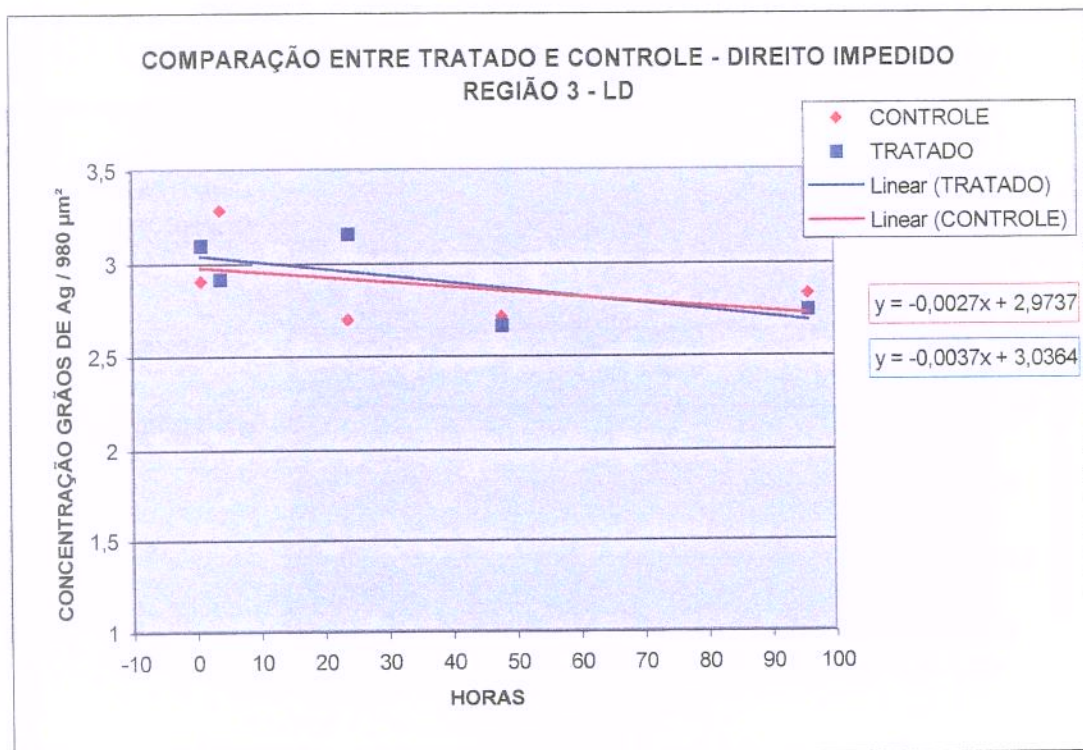
MEIA VIDA (CONTROLE) : 0,244713
MEIA VIDA (TRATADO): 0,238474



COMPARAÇÃO ENTRE TRATADO E CONTROLE
DIREITO IMPEDIDO - REGIÃO 3 - LD

HORAS	1	4	24	48	96
CONTROLE	2,9	3,28	2,69	2,71	2,83
TRATADO	3,09	2,91	3,15	2,66	2,74

MEIA VIDA (CONTROLE) : 0,233077
MEIA VIDA (TRATADO): 0,228264

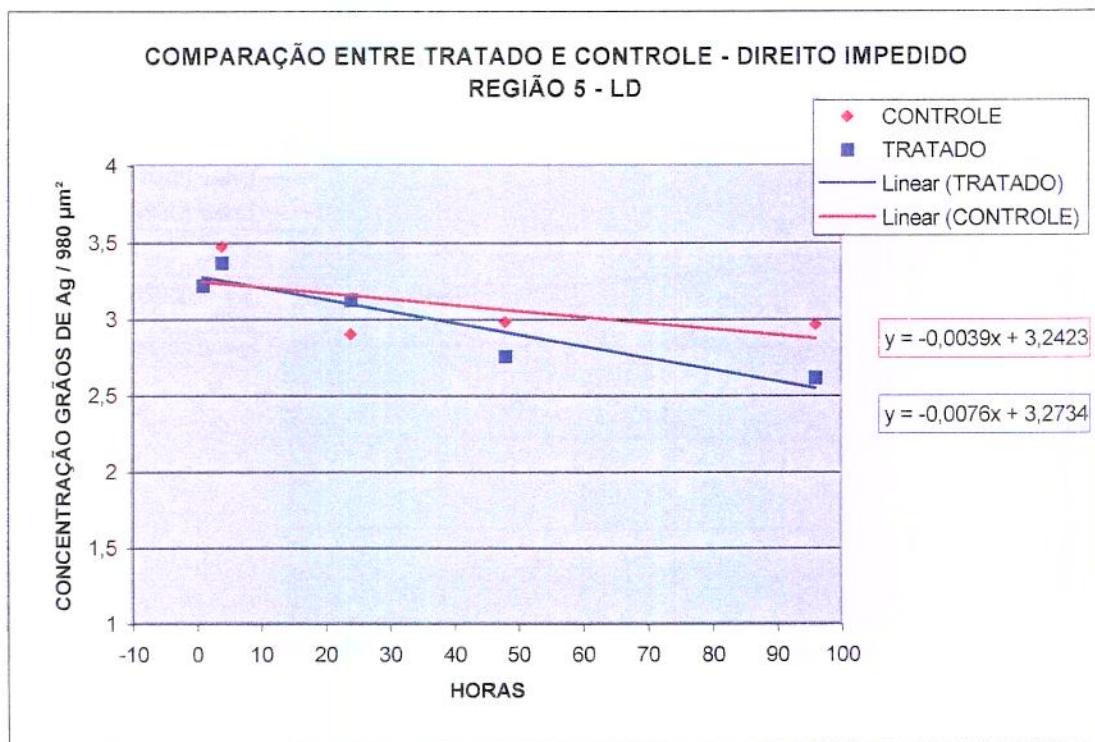


COMPARAÇÃO ENTRE TRATADO E CONTROLE
DIREITO IMPEDIDO - REGIÃO 5 - LD

HORAS	1	4	24	48	96
CONTROLE	3,23	3,47	2,9	2,98	2,96
TRATADO	3,21	3,36	3,12	2,75	2,61

MEIA VIDA (CONTROLE) : 0,213768

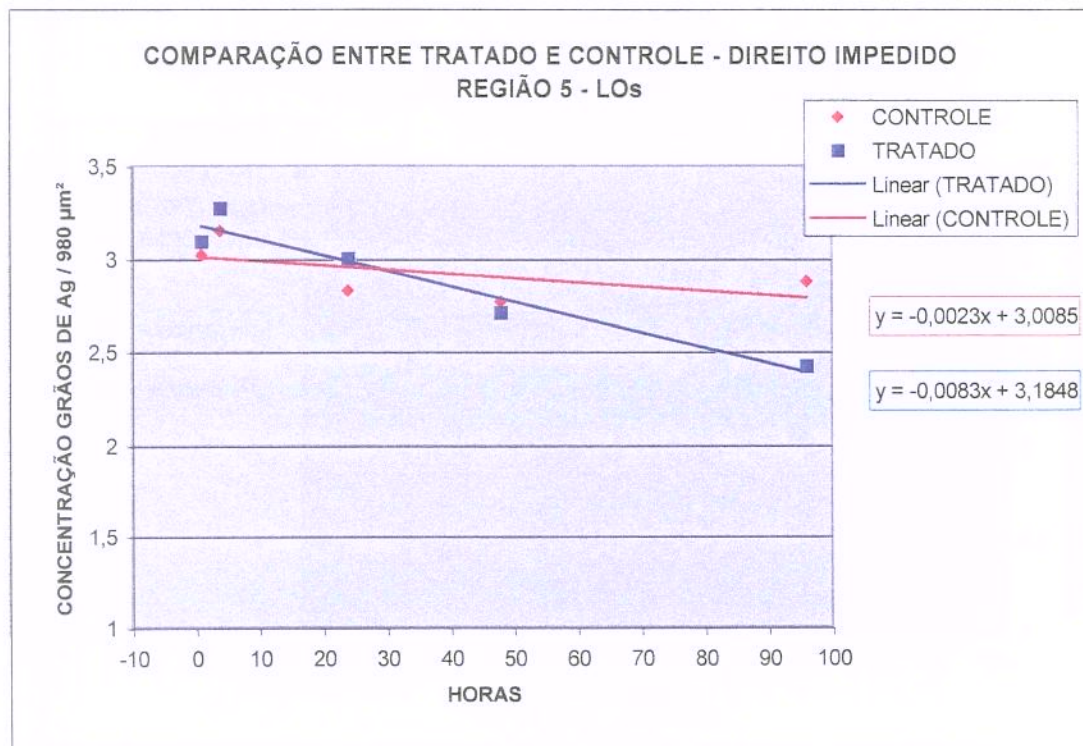
MEIA VIDA (TRATADO): 0,211737



COMPARAÇÃO ENTRE TRATADO E CONTROLE
DIREITO IMPEDIDO - REGIÃO 5 - LOs

HORAS	1	4	24	48	96
CONTROLE	3,02	3,15	2,83	2,77	2,88
TRATADO	3,09	3,27	3	2,71	2,42

MEIA VIDA (CONTROLE) : 0,230381
MEIA VIDA (TRATADO): 0,217627

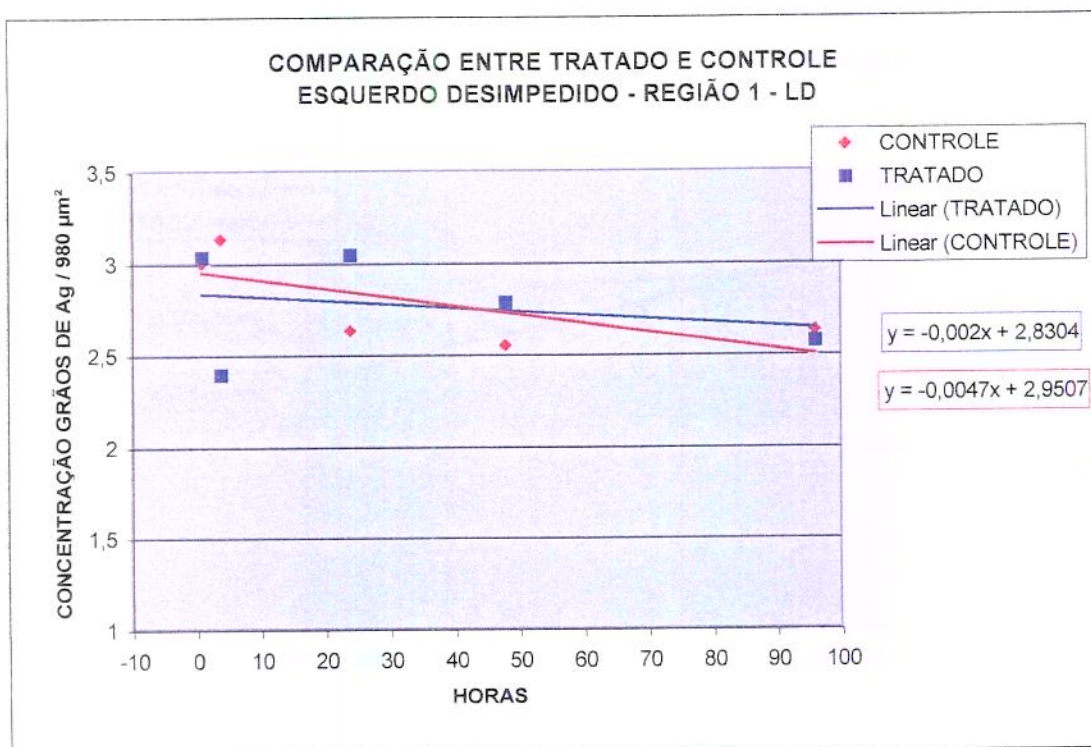


COMPARAÇÃO ENTRE TRATADO E CONTROLE
ESQUERDO DESIMPEDIDO - REGIÃO 1 - LD

HORAS	1	4	24	48	96
CONTROLE	3	3,13	2,63	2,55	2,63
TRATADO	3,03	2,39	3,04	2,78	2,57

MEIA VIDA (CONTROLE) : 0,244877

MEIA VIDA (TRATADO): 0,234893

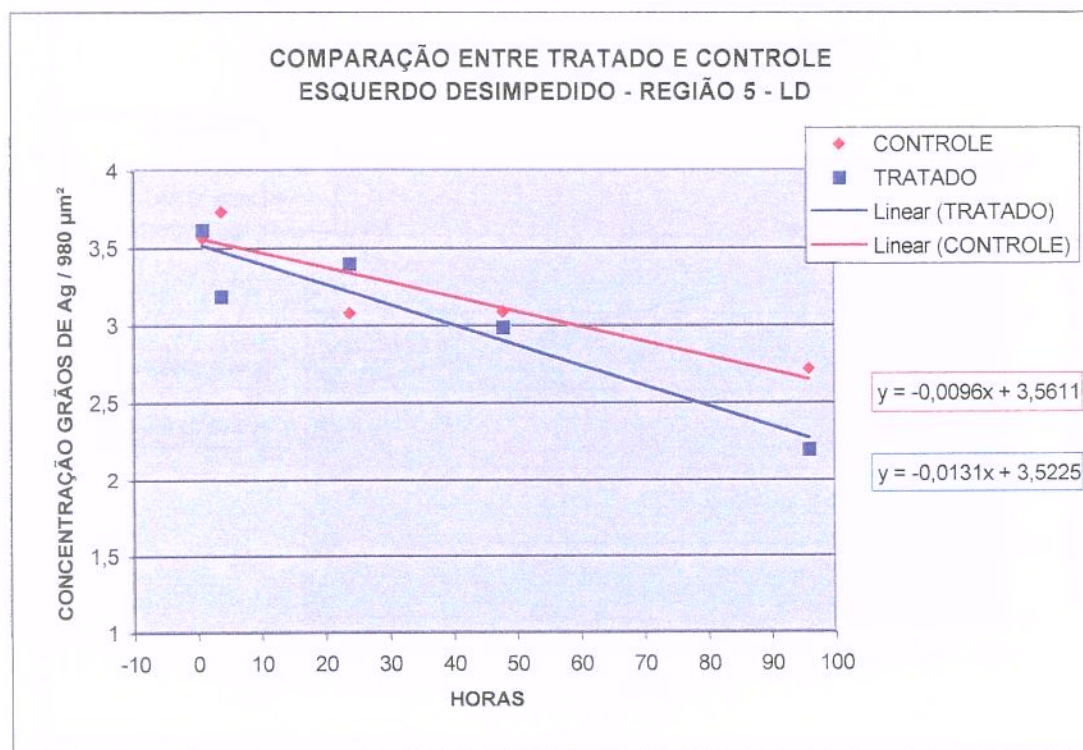


COMPARAÇÃO ENTRE TRATADO E CONTROLE
ESQUERDO DESIMPEDIDO - REGIÃO 5 - LD

HORAS	1	4	24	48	96
CONTROLE	3,56	3,73	3,07	3,08	2,71
TRATADO	3,61	3,18	3,39	2,98	2,19

MEIA VIDA (CONTROLE) : 0,194631

MEIA VIDA (TRATADO): 0,196764

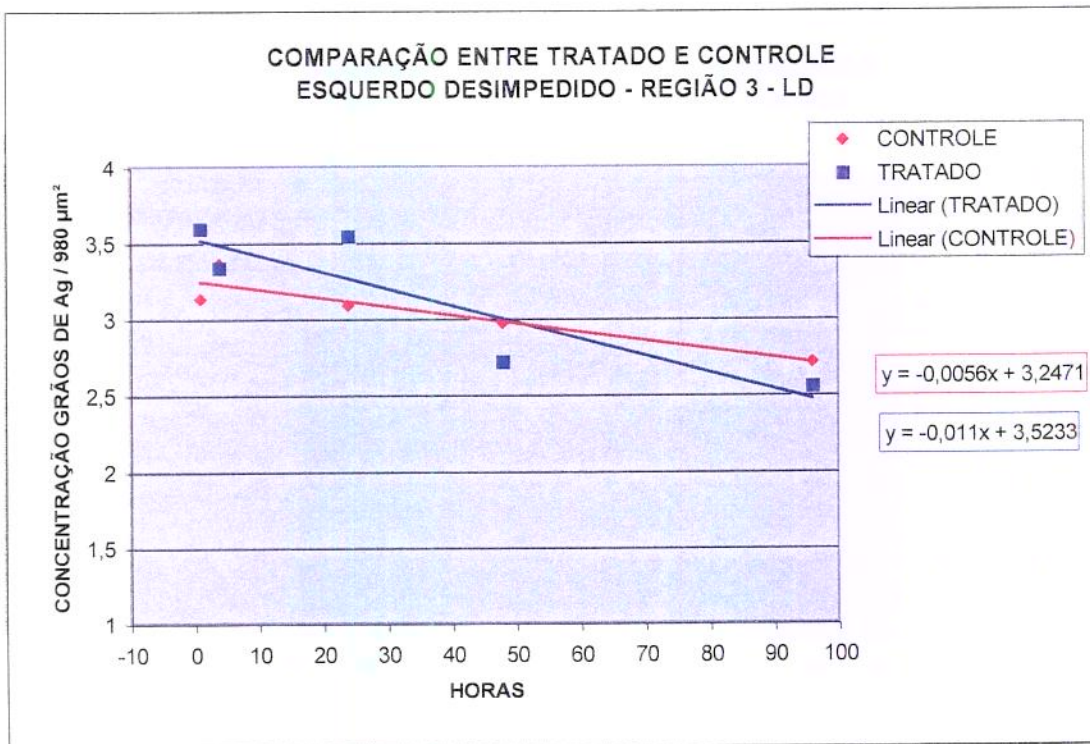


COMPARAÇÃO ENTRE TRATADO E CONTROLE
ESQUERDO DESIMPEDIDO - REGIÃO 3 - LD

HORAS	1	4	24	48	96
CONTROLE	3,13	3,36	3,09	2,97	2,71
TRATADO	3,59	3,33	3,54	2,71	2,55

MEIA VIDA (CONTROLE) : 0,213452

MEIA VIDA (TRATADO): 0,196719



COMPARAÇÃO ENTRE TRATADO E CONTROLE
ESQUERDO DESIMPEDIDO - REGIÃO 5 - LOs

HORAS	1	4	24	48	96
CONTROLE	3,27	3,37	2,7	2,7	2,55
TRATADO	3,2	2,5	2,84	2,7	2,03

MEIA VIDA (CONTROLE) : 0,217007
MEIA VIDA (TRATADO): 0,234552

