UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA

FOD
USP

Análise radiográfica e histopatológica da inflamação pulpar e reabsorção óssea periapical induzidas em ratos Wistar

Renata Cordeiro Teixeira

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

BAURU
2007

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA

FOD
USP

Análise radiográfica e histopatológica da inflamação pulpar e reabsorção óssea periapical induzidas em ratos Wistar

Renata Cordeiro Teixeira

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

ORIENTADORA:

Prof.^a Dr.^a Izabel Regina Fischer Rubira-Bullen

BAURU
2007

	Teixeira, R. C.
T235a	Análise radiográfica e histopatológica da inflamação pulpar e reabsorção óssea periapical induzidas em ratos Wistar. / Renata Cordeiro Teixeira. – Bauru, 2007, 182p; il.; 30cm. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo. Orientadora: Prof ^ª . Dr ^ª . Izabel Regina Fischer Rubira-Bullen

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

Assinatura do autor: _____

Data: ____/____/____

Projeto de Pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo. Of.nº 13/2005.

Dados Curriculares

Renata Cordeiro Teixeira

31 de agosto de 1981	Nascimento
Fortaleza - CE	Filha de José Alves Teixeira e Maria Aparecida Américo Cordeiro
2000-2004	Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade Federal do Ceará – UFC
2004	Curso de Aperfeiçoamento em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial pela Academia Cearense de Odontologia
2006-2007	Curso de Aperfeiçoamento em Periodontia pela Associação Paulista dos Cirurgiões Dentistas
2005-2007	Curso de Pós-Graduação em Estomatologia, a nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo - USP
Associações	Associação Brasileira de Odontologia (ABO); Associação Brasileira de Radiologia Odontológica (ABRO); Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica (SBPqO); Sociedade Brasileira de Estomatologia (SOBE).

“Nós devemos ser a mudança que queremos ver no mundo”

Mohandas K. Gandhi

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, minha base maior.

À minha mãe, Maria Aparecida Américo Cordeiro, por me ensinar que sonhos devem ser construídos e que a vida é uma batalha diária na busca de concretizá-los. Mainha, você é meu ponto de equilíbrio, leveza na qual me espelho. Sua maneira de conduzir a vida é um ensinamento diário para mim, estimulando-me a realizar meus movimentos em busca de mim mesma. Não teve um só dia nesse período distante que eu não lembrasse de você com saudades, pois estar ao seu lado me fortalece. Presença essencial em meus momentos de dores e delícias, entre tantos outros! Imagino quantas vezes você já rezou, para mim, olhando o mar, a Salve Rainha! E cá estamos nós, impulsionando nossos pés, às vezes, no chão (eles não precisam estar sempre lá), unidas nesse mundo. E dessa união da minha visão de 30°, com a sua de 330°, a gente vai construindo, sonhando, realizando, degustando as coisas degustáveis e as não degustáveis... Obrigada por estar sempre me mostrando que nada é tão importante; um dia eu aprendo! Lobas, Avante!

Sem você, eu não conseguiria.

Ao meu pai, José Alves Teixeira. Painho, estar distante me fez pensar mais em você, na falta que você faz. Penso em suas palavras serenas, no seu beijo carinhoso, no seu abraço, um abraço que vale a pena esperar (por ser o melhor do mundo). Obrigada por sempre respeitar meus sonhos, ideais e minhas verdadeiras vontades. Homem de integridade e determinação, sempre em busca da superação. Te agradeço por ser um grande exemplo de luta e força em minha vida. Amo mesmo, e muito, você.

Obrigada papai da terra!

E também ao meu irmão, Davi Cordeiro Teixeira. Admiro sua força e coragem com que enfrenta as adversidades da vida. Tem a mente inquieta, é generoso, além de muito inteligente. Apesar de estar longe agora, sempre esteve vitalmente presente. Irmão mais velho, sou muito de ti e tu és muito pra mim. Te amo sempre, aqui e aí; e preciso de você na minha vida. Sem falta.

Obrigada por sempre vibrar com as minhas vitórias, assim como eu com as suas.

Aos três, por serem as pessoas mais importantes de minha vida, eu dedico esse trabalho.

“Há um vilarejo ali, onde areja um vento bom, na varanda, quem descansa, vê o horizonte deitar no chão. Pra acalmar o coração, lá o mundo tem razão. Terra de heróis, lares de mãe, paraíso se mudou para lá...”

Agradecimentos

Agradecer é o momento mais sublime da vida do ser humano. Significa reconhecer que o seu viver depende do viver do outro. Por isso, agradeço;

Especialmente...

A Deus - meu Poder Superior - pelo milagre da vida, pela minha saúde, por ser Aquele que me guia, me ilumina e me fortalece sempre. Grande responsável pelo que sou e pelas pessoas maravilhosas com quem compartilho a vida. Sem Ti, nada disso seria possível. Tu és minha luz espiritual, em quem me apoiei nos momentos mais difíceis para conseguir chegar até aqui.

Obrigada, Papai do céu!

“que seja feita a vossa vontade”

À minha orientadora, professora Dra Izabel Regina Fischer Rubira-Bullen, por ser uma pessoa amável, receptiva, acolhedora, humana. Pela confiança e orientação. Pelo carinho e empenho com que se dedicou a mim, tornando suave a batalha diária de alcançar meus objetivos. Pelo incentivo de me fazer trilhar por um caminho tão desconhecido, que me parecia impossível de ser desvendado, com sua orientação sempre paciente e livre. Por me mostrar que a relação educador-educando é sempre uma relação de troca. Muito obrigada.

Minha admiração e meu respeito.

Ao Professor Dr José Humberto Damante, sempre tão atencioso e acolhedor. Por ter me mostrado ser realidade tudo aquilo que no meu Ceará eu ouvia falar de sua pessoa. Que esteve presente ao longo dessa minha jornada, mesmo não sabendo da sua importância na construção de meus pensamentos.

À Professora Dra Ana Lúcia Álvares Capelloza, pelo seu carinho diário, disponibilidade e energia sempre. Por ser uma mulher de tanto valor e uma profissional tão brilhante.

Aos demais professores do departamento de Estomatologia e Cirurgia; Dr. Luiz Eduardo M. Chinellato, Dr. Osny Ferreira Júnior, Dr. Eduardo Sant'Ana. Vocês foram fundamentais em um ensino tão amplo e valioso no decorrer do meu curso de mestrado. Pela atenção, carinho, conhecimentos e ensinamentos transmitidos. Pela oportunidade que me deram para crescer como profissional, e, principalmente, pelo exemplo diário de dedicação e incansável disposição para ensinar. Também agradeço a todos os meus professores da Universidade Federal do Ceará (UFC), que me transmitiram a base dessa arte chamada ODONTOLOGIA. Em especial aos meus tutores e co-tutores do PET (Programa Especial de Treinamento), Marcus Aurélio Rabelo Lima Verde, José Jeová Siebra Moreira Neto e Sérgio Lima Santiago. Os ensinamentos de todos vocês foram sempre muito valiosos para minha formação. Devo um pouco do que sou e do que sei hoje a cada um de vocês.

Ao Professor Dr. Carlos Ferreira dos Santos, grande exemplo de caráter, seriedade e humildade. Pela sua dedicação e amor à pesquisa, mostrando-me que o caminho impossível não existe. Sempre disposto a ouvir e ajudar. Obrigada pela oportunidade de ser não só sua aluna, mas também sua orientada.

Ao meu grande e eterno mestre e orientador Renato Luiz Maia Nogueira, que sempre me estimulou e encorajou a seguir meus sonhos, a batalhar pelas minhas conquistas. Acreditando na minha capacidade e confiando em mim, mostrou-me que a Odontologia não é apenas uma ciência da saúde, é uma ciência Humana. Homem de coração bom, de humildade admirável. Suas palavras de sabedoria e de incentivo nunca me deixaram sem conforto ou sem resposta. Tenho certeza que sempre que eu precisar do mestre ou do amigo, você, mais uma vez e sempre, estará de prontidão. Obrigada por tudo que me ensinou e ensina até hoje.

Ao Professor Dr. Roberto Pereira Lauris, por sua seriedade na realização de seu trabalho, demonstrando a grandeza de sua pessoa. Pela imensa ajuda na realização da estatística deste trabalho.

Ao Departamento de Histologia. À Danille Santi, pela alegria, sorriso sincero e amizade que construímos. Ao Bruno Álvares, pela maneira descontraída e leve. À Marcela Claudino, pela leveza e prestatividade. Ao professor Dr. Gerson Francisco de Assis, pela valiosa orientação na realização deste trabalho.

Em especial, à Tânia Mary Cestari, por ser uma mulher de tanto valor; pessoa que admiro imensamente pelo grande amor que tem pela pesquisa. Pela paciência ao transmitir seus ensinamentos, por toda a orientação e ajuda na realização desta pesquisa. Foi maravilhoso dividir esses momentos de trabalho com uma pessoa tão íntegra, competente, amável e especial como você.

*Obrigada por tornarem o ambiente de trabalho da histologia sempre tão agradável!
Vocês são pessoas abençoadas.*

Aos funcionários do Departamento de Estomatologia, Camila Medina, Elza Cassalate, Fernanda Cavallari, Hebe Pereira, Josieli Farinha, Luciana Zanon, Marília Gião, Patrícia Germimo, Reinaldo Vieira, Roberto Sales e Roque dos Santos, pela amizade e dedicação em ajudar sempre que precisei.

Aos funcionários do Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru, por terem cuidado tão bem dos meus animais, e pela cooperação nos procedimentos ali realizados.

À equipe do LAPIMO da Faculdade de Engenharia de São Carlos –USP.

Aos funcionários da biblioteca – FOB / USP, pela disponibilidade e auxílio.

À Capes pela concessão da bolsa.

À Faculdade de Odontologia de Bauru – USP, na pessoa de seu diretor, Prof. Dr. Luiz Fernando Pegoraro. Esta que foi “minha casa” nos últimos dois anos.

Agradecimentos

“A gratidão, com certeza, é uma virtude do céu”

Padre Cícero Romão Batista

À minha família;

Aos meus avós, Lourdes e Napoleão, pelo exemplo de força e união na família. Em especial a você vovó, por ser assim, meiga, carinhosa, autêntica. Por ter as palavras certas, por reconhecer uma dor e uma felicidade em um olhar. Por sempre ter torcido por mim de forma tão verdadeira. Por ter uma oração de tanta força. Perdoe minha ausência. A senhora sempre esteve e estará em meu coração. Amo demais!

Aos meus tios e tias tão amorosos! Em especial à Maria Auxiliadora Cordeiro (tia Dodora), por vibrar com as minhas conquistas, sempre tão presente e atenciosa. Ao Miguel Cordeiro, primo querido, por quem tenho enorme admiração pelo talento musical.

“Você me pede pra não soltar os dedos que seguram nossa construção, eu seguro a sua mão quando me perco em falhas....”

Miguel Cordeiro

À Joana Letícia Cordeiro. Falar da nossa amizade é emocionante. Mais que prima, mais que amiga, mais que irmã, minha alma gêmea! Sua amizade é realmente uma dádiva. Nosso caminho nos espera; pois, de alguma forma, caminharemos sempre juntas.

Ao meu querido Valdir Nóbrega. Obrigada pela presença constante em minha vida, na minha formação, trazendo tanta paz e segurança para as nossas vidas. Por ser um homem tão íntegro e admirável, digno de uma mulher maravilhosa, como minha mãe.

Aos meus irmãos pequenos, João Marcelo e João Pedro, que hoje já estão rapazes, mas serão eternamente pequenos para mim. Apesar da distância e muitas vezes da ausência, estarão sempre no meu coração!

Ao Heraldô Medeiros, meu amor, obrigada por estar ao meu lado, ajudando-me a construir uma nova (e linda) fase da minha vida! Se existe anjo da guarda, você certamente é o meu. Sua companhia me ilumina, me faz forte, mais capaz. Obrigada por valer tanto a pena. Não foi por acaso que nós nos encontramos e nos descobrimos; há coisas que não se pode explicar. É maravilhoso poder compartilhar minha vida com você. Nossa história está apenas começando e ainda temos muito. Te agradeço imensamente o carinho, a compreensão, o apoio, o colo... Sou feliz por olharmos para o mesmo lado e já nem sei se nosso amor é causa ou consequência das nossas afinidades. Obrigada pela incansável ajuda. É com você que quero dividir minha história, daqui pra sempre.

Te amo, como mais, não poderia.

“Meu riso é tão feliz contigo, meu melhor amigo é o meu amor... Você é assim, um sonho pra mim...”.

À Flora Távora. Não dá para sintetizar o tamanho e importância de nossa amizade. Obrigada pela maneira leve e doce, pela amizade honesta, por ter compartilhado das minhas lágrimas e sorrisos no decorrer desses dois anos. Sou feliz por ter você ao meu lado hoje e quero sua amizade em qualquer lugar do mundo onde eu estiver. Sempre. Você para mim, é realmente essencial. Toda amizade é uma história particular, mas a nossa daria um livro, não é mesmo?

À Clarice Fernandes, minha “roommate”. A cumplicidade que construímos nesse período de intensa (e maravilhosa) convivência não tem nada no mundo que mude. Obrigada amiga, pela sua compreensão em nossas diferenças, pela pessoa especial, linda e maravilhosa que você é! Você é mais que amiga.

À Aline Dantas. Uma menina cheia de graça, que encanta até não poder mais! Seu astral incomparável me ajudou (e muito) a minimizar a dor da saudade de tantos outros que também amo. Você foi aquela que conseguiu trazer um pouquinho de Fortaleza para Bauru, e tornar nosso dia a dia mais sereno. Admiro sua capacidade de conquistar todos que cruzam seu caminho. Pessoa de luz, paz e sentimentos bons. Desejo a você o sonho realizado!

À Daniele Albuquerque, minha conterrânea do Departamento. Obrigada pelos momentos de alegria compartilhados ao longo desses dois anos de caminhada. Dividir as aulas, trabalhos, clínicas e divertimentos com você só nos aproximou cada vez mais e me mostrou o quão especial você é! Em breve, num momento não muito distante, eu espero, estaremos mais uma vez unidas, colocando em prática esse nosso aprendizado, nesse futuro que juntas vislumbramos!

Agradeço a vocês, amigas cearenses, por trazerem um pouquinho do nosso Ceará para a imensidão de São Paulo, vocês foram minha família aqui.

À Marta da Cunha. A convivência da nossa amizade ficará marcada em mim sempre. Sei que virei alguma coisinha de paulista; e você, certamente, já é um pouquinho cearense também. Nossas noites de estudo e risadas serão lembradas com muitas saudades. Uma amiga realmente muito especial.

À Cássia Rubira, por toda paciência, atenção, prestatividade, disponibilidade a todo o momento! Um exemplo a ser seguido. Eu a admiro muito e serei eternamente grata aos seus ensinamentos. Muito obrigada.

Aos meus amigos do Departamento de Estomatologia. A gentileza do Moacyr, o bom humor do Gustavo, a hiperatividade da Letícia, a prestatividade da Dani, a atenção da Martinha, a dedicação da Carla, a serenidade da Etienne, a inteligência do Renato, a doçura discreta da Josiane, a delicadeza da Melissa e a sabedoria do Marcelo Zanda (minha dupla querida, que tanto me ensina), tornam aquele lugar muito especial; o dia a dia ao lado de

você é muito mais leve! De forma especial agradeço ao Renato, ao Zanda e à Carla, por estarem sempre me estimulando e ensinando.

Aos amigos especiais; Gabriela Vedolin, por sua postura séria e ao mesmo tempo amorosa; Ricardo Virgolino, pela conversa serena, sempre tão bom ouvinte; um amigo tão querido; Renata Louro, pela sua maneira alegre de viver; Ana Paula, pelo sorriso sempre presente; Ao Delano Eloy, pelo alto astral e à Valéria Vignolo, amiga de além-mar e vizinha querida, por quem tenho uma grande admiração e carinho.

Vocês trazem brilho ao meu sorriso largo!

Aos amigos distantes, João Paulo Perdigão, Olavo Brilhante, Mariana Mesquita, Priscila Amorim e Priscila Freitas. Grandes e verdadeiros amigos. Nossas alegrias e tristezas, vitórias e fracassos, experiências e confidências, enfim, todos os momentos que passamos juntos representam muito para mim. Estarei sempre perto de vocês, na torcida. Muito obrigada pela amizade e pela força.

Amigos, vocês me fazem grande!

A todos os colegas da pós-graduação das outras áreas, pelos momentos compartilhados e pela troca de experiências; em especial ao Jefferson Sanada e ao Ricardo Pianta, pelos momentos de trabalho partilhado.

Ao Padre Beto, em cujas palavras tantas vezes encontrei conforto.

E finalmente a todos aqueles que, de forma direta ou indireta, tornaram possível a realização deste trabalho.

Obrigada por fazerem parte da concretização desse sonho!

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	xix
LISTA DE TABELAS.....	xxx
LISTA DE ANEXOS.....	xxxii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xxxiv
RESUMO.....	xxxvii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	07
2.1 Imagem Convencional X Imagem Digital.....	09
2.1.1 Sistema Digora.....	16
2.1.2 Imagem Digitalizada Indiretamente.....	21
2.1.3 Imagem Digital Direta X Indireta.....	25
2.2 Fisiologia da doença periapical.....	29
2.2.1 Indução da doença periapical em ratos.....	31
2.3 Papel do flúor na remineralização.....	35
3. PROPOSIÇÃO.....	41
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
4.1 Grupos Experimentais.....	47
4.2 Material.....	47
4.3 Indução de lesão periapical nos animais.....	49
4.4 Obtenção das peças cirúrgicas.....	52
4.5 Obtenção das radiografias.....	53
4.6 Preparo e análise das imagens.....	58
4.7 Análise histológica dos tecidos dentários e parodontários do primeiro molar inferior.....	61
4.8 Análise morfométrica da região apical da raiz mesial do primeiro molar inferior.....	62
4.9 Análise estatística.....	75
5. RESULTADOS.....	77
5.1 Análise dos valores de pixels nas radiografias digitais diretas.....	80
5.2 Análise dos valores de pixels nas radiografias digitais indiretas.....	82
5.3 Análise microscópica.....	86
5.4 Análise histológica dos tecidos dentários e parodontários do primeiro molar inferior.....	87
5.4.1 Grupo controle.....	87
5.4.2 Grupo teste – dois dias.....	97
5.4.3 Grupo teste – 15 dias.....	103
5.4.4 Grupo teste – 30 dias.....	109

5.5 Análise morfométrica da região apical da raiz mesial do primeiro molar inferior.....	116
6. DISCUSSÃO.....	123
6.1 Da metodologia.....	125
6.2 Da análise microscópica.....	128
6.3 Das imagens digitalizadas.....	130
7. CONCLUSÕES.....	145
ANEXOS.....	149
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	163
ABSTRACT.....	179

Lista de Figuras

FIGURA 1-	A. Imagem radiográfica digital. B. Subsecção da imagem A. C. Valores dos pixels correspondentes da imagem B. A imagem B foi ampliada para evidenciar as diferenças de tons de cinza entre os pixels.....	13
FIGURA 2-	Primeiro molar inferior direito sendo submetido à abertura da cavidade.....	50
FIGURA 3-	Mesa operatória.....	51
FIGURA 4-	Rato posicionado na mesa operatória após anestesia, com o dispositivo de abertura bucal.....	51
FIGURA 5-	Hemimandíbulas depois de dissecadas.....	53
FIGURA 6-	Filme periapical Insignth e placa azul do Digora®.....	55
FIGURA 7-	Esquema do posicionamento das hemimandíbulas sobre o filme radiográfico e sobre a placa de fósforo para obtenção das imagens radiográficas.....	55
FIGURA 8-	Hemimandíbulas posicionadas sobre o filme convencional e placa de fósforo azul do Digora®, com o simulador de tecido mole.....	56
FIGURA 9-	Esquema da imagem radiográfica obtida.....	56
FIGURA 10-	Imagem radiográfica digital obtida com a placa de fósforo do sistema Digora®.....	57
FIGURA 11-	Mensuração dos valores de pixels da ROI pelo programa ImageJ®.....	60
FIGURA 12-	Mensuração dos valores de pixels da região de controle no segundo degrau do penetrômetro pelo programa ImageJ®.....	61

- FIGURA 13- Programa KS300 utilizado para determinação do percentual de tecido ósseo. Observar a porção apical da raiz mesial (R) do primeiro molar posicionada perpendicularmente ao nervo alveolar (seta preta), o tecido ósseo (O) circundado em verde e sua área total obtida no quadro a esquerda..... 63
- FIGURA 14- Parâmetros microscópicos para a condição pulpar: a) polpa coronária (PC) sadia e a dentina (D) circundada pela camada odontoblástica (seta); b) polpa coronária necrosada exibindo tecido necrosado (TN) de característica amorfa, restos alimentares (asterisco) e ausência da camada odontoblástica na superfície da dentina (seta); c) polpa radicular (PR) sadia e dentina (D) envolta pela camada odontoblástica; d) polpa radicular inflamada com inúmeros PMNs (círculo) dispersos na matriz extracelular e a ausência da camada odontoblástica (seta) na superfície da dentina (D); e) polpa radicular necrosada (TN) com ausência da camada odontoblástica (seta) na superfície da dentina (D). HE..... 65
- FIGURA 15- Parâmetros microscópicos para as áreas de reabsorção radicular e infiltrado inflamatório no ápice da raiz: a) ausente, sem sinais de reabsorção radicular e de processo inflamatório; b) leve, pequenas áreas de reabsorção (seta) na superfície do cimento e presença de pequenas áreas de infiltrado inflamatório (asterisco) no ligamento periodontal; c) moderado, pequenas áreas de abscesso (asterisco) e extensas áreas de processo inflamatório associado à reabsorção do cimento e mais raramente da dentina; d) Intenso, extensas áreas de abscesso e de reabsorção tanto do cimento quanto da dentina, expondo o canal radicular (CR). HE..... 67

- FIGURA 16- Parâmetros microscópicos para a região de furca: a) sadia, com dentina (D), cimento (seta), osso alveolar (O), e fibras do ligamento periodontal (LP) com características normais; b) necrosada, exibindo necrose tecidual (TN), ausência de osteoblastos e de osteócitos no osso alveolar (O), cimento (seta) com superfície irregular e sem células; c) inflamada, presença de reabsorção do cimento associado ao processo inflamatório (seta); d) recessão gengival (seta) expondo a região de furca com alguns fragmentos ósseos (asteriscos) associado a células inflamatórias (seta azul). HE..... 69
- FIGURA 17- Parâmetros microscópicos para o infiltrado inflamatório no periodonto de sustentação: a) ausente, cimento (C), ligamento periodontal (LP) e osso alveolar (O) íntegros, sem sinais de processo inflamatório; b) leve, presença inúmeras células inflamatórias (seta) associadas a áreas de desorganização do tecido conjuntivo; c) moderada, aglomerado de células inflamatórias (seta) associado a áreas de degradação do tecido conjuntivo e reabsorção dos tecidos mineralizados; d) Intenso, grande área de abscesso (seta). HE 71

FIGURA 18-	Parâmetros microscópicos para reabsorção óssea: a) ausente, sem sinais de reabsorção óssea tanto na porção coronal, mantendo a distância vertical (coronal-apical, linha tracejada), quanto na lateral (seta preta), mantendo o espaço do ligamento periodontal; b) leve, pequena reabsorção óssea tanto na porção corono-apical quanto lateral, diminuindo discretamente a distância vertical (linha tracejada) e exibindo irregularidade no contorno da superfície do osso alveolar (setas); c) moderada, aumento da reabsorção na porção corono-apical e lateral, reduzindo a distância corono-apical (linha tracejada) ao terço médio da raiz com substituição de grande parte do tecido ósseo alveolar lateral (seta) por tecido conjuntivo e processo inflamatório; d) intensa, reabsorção do tecido ósseo até o nível da porção apical da raiz (linha tracejada) e recessão gengival (seta azul) com exposição da região de furca e de fragmentos ósseos (asterisco) . HE.....	73
FIGURA 19-	Parâmetros microscópicos para a presença de osteoclastos: a) ausente, b) leve, presença de alguns osteoclastos (seta) na superfície do osso alveolar (O); c) moderada, com alguns osteoclastos (setas) promovendo reabsorção óssea a distância; e d) intensa, grande número de osteoclastos (setas) ao longo da superfície do osso alveolar no seu interior. C = cimento, O = osso alveolar. HE.....	75
FIGURA 20-	Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para as placas 1 e 2 do sistema Digora [®] , nos ratos do grupo I.....	80
FIGURA 21-	Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para as placas 1 e 2 do sistema Digora [®] , nos ratos do grupo II.....	81

FIGURA 22-	Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para as placas 1 e 2 do sistema Digora [®] , nos ratos do grupo III.....	81
FIGURA 23-	Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para os três escâneres utilizados, nos ratos do grupo I.....	83
FIGURA 24-	Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para os três escâneres utilizados, nos ratos do grupo II.....	83
FIGURA 25-	Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para os três escâneres utilizados, nos ratos do grupo III.....	84
FIGURA 26-	Corte longitudinal do primeiro molar inferior do lado controle - dois dias: a) visão panorâmica mostrando a integridade das estruturas dentárias e paradentárias; b) detalhe da figura anterior mostrando na região de furca, o ligamento periodontal (asterisco) formado por densas fibras colágenas inseridas ao cimento (seta preta) e ao osso alveolar (O); c) região média-apical da raiz mesial mostrando o canal radicular com tecido pulpar (P) sadio e a dentina (D) envolta internamente pela camada odontoblástica e externamente pelo cimento (C). Observar, o osso alveolar (O) de superfície regular e levemente ondulada e o ligamento periodontal (asterisco), fazendo uma ponte entre o cimento (C) e o osso alveolar (O); d) detalhe da região apical exibindo a polpa dentária (P) sadia em comunicação com o tecido conjuntivo do periápice e o osso alveolar (O) sem sinais de reabsorção ou de processo inflamatório. O espaço entre o osso (O) e o cimento (C) mostra-se constante em toda região periapical. NA = nervo alveolar. HE.....	89

FIGURA 27- Corte longitudinal do primeiro molar inferior do lado controle - dois dias: a) detalhe da região apical mostrando o cimento (C) e a dentina (D) sem sinais de reabsorção e a superfície do osso alveolar (setas) lisa com inserção de fibras; b) detalhe da região de furca, mostrando o ligamento periodontal (asterisco) formado por densas fibras colágenas inseridas ao cimento (C) e ao osso alveolar (O); c-d) detalhe do periodonto de sustentação na região apical, lado distal (Fig. c) e lado proximal (Fig. d), da raiz mesial, mostrando a integridade do cimento (C) e do osso alveolar (O) e as densas fibras de Sharpey (setas) inseridas a essa estrutura. M = medula óssea. V = vaso. HE..... 91

FIGURA 28- Corte longitudinal do primeiro molar inferior do lado controle - 15 dias: a) visão panorâmica mostrando a integridade das estruturas dentárias e paradentárias; b) detalhe da figura anterior mostrando, na região de furca, o ligamento periodontal (asterisco), cimento (seta preta), dentina (D) e osso alveolar (O); c) região média-apical da raiz mesial mostrando o canal radicular com tecido pulpar (P) sadio e a dentina (D) envolta internamente pela camada odontoblástica e externamente pelo cimento (C). Observar, o osso alveolar (O) de superfície regular e levemente ondulada e o ligamento periodontal (asterisco), fazendo uma ponte entre o cimento (C) e o osso alveolar (O); d) detalhe da região apical exibindo a polpa dentária (P) sadia, o osso alveolar (O) sem sinais de reabsorção e o espaço entre o osso e o cimento constante em toda superfície periapical. NA = nervo alveolar. HE..... 93

FIGURA 29- Corte longitudinal do primeiro molar inferior do lado controle - 30 dias: a) visão panorâmica mostrando a integridade das estruturas dentárias e paradentárias; b) detalhe da figura anterior mostrando, na região de furca, o ligamento periodontal (asterisco), cimento (seta preta), dentina (D) e osso alveolar(O); c) região média-apical da raiz mesial mostrando o canal radicular com tecido pulpar (P) sadio e a dentina (D) envolta internamente pela camada odontoblástica e externamente pelo cimento (C). Observar, o osso alveolar (O) de superfície regular e levemente ondulada e o ligamento periodontal (asterisco), fazendo uma ponte entre o cimento (C) e o osso alveolar (O); d) detalhe da região apical exibindo a polpa dentária (P), o osso alveolar (O) sem sinais de reabsorção e o espaço entre o osso e o cimento constante em toda superfície periapical. NA = nervo alveolar. HE..... 95

- FIGURA 30- Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido a abertura coronária - dois dias: a) na visão panorâmica mostrando as estruturas dentárias e paradentárias, observar a abertura coronária (seta verde) e o preenchimento da cavidade pulpar coronária por restos alimentares, fragmentos de dentina e tecido necrosado; b) detalhe da figura anterior mostrando, na região de furca, a necrose do ligamento periodontal (asterisco) e a superfície do osso alveolar (O) sem recobrimento por osteoblastos; c) região cervical-média da raiz mesial, mostrando o canal radicular no terço cervical superior vazio, circundado por uma cápsula de tecido fibroso (seta) que separa da polpa inflamada (P). Observar o ligamento periodontal (asterisco) ainda com vitalidade; d) detalhe da região apical exibindo a polpa dentária (P) aparentemente sadia, o osso alveolar (O) com sinais de reabsorção da sua superfície, alterando o espaço entre o osso e o cimento. NA = nervo alveolar. HE..... 99
- FIGURA 31- Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido à abertura coronária - dois dias: a) região apical mostrando tecido conjuntivo (TC) do periápice sadio e reabsorção do osso alveolar (setas); b) região de furca, exibindo necrose (asterisco) do ligamento periodontal, ausência de osteoblastos na superfície do osso alveolar (O) e lacunas osteocíticas vazias (cabeça de setas); c e d) detalhe do periodonto de sustentação na região apical, lado distal (Fig. c) e lado proximal (Fig. d) da raiz mesial, exibindo reabsorção do osso alveolar (O) pelos osteoclastos (setas). HE..... 101

FIGURA 32- Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido à abertura coronária 15 dias: a) na visão panorâmica mostrando as estruturas dentárias e paradentárias, observar a abertura coronária (seta verde) e o preenchimento da cavidade pulpar coronária por restos alimentares, fragmentos de dentina e tecido necrosado, e da cavidade pulpar radicular por tecido necrosado; b) detalhe da região de furca mostrando preenchimento por tecido conjuntivo (asterisco) contendo fragmentos ósseos em reabsorção (seta) e mais coronalmente, pequena região ocupada por tecido epitelial (seta vazada); c) região cervical-média da raiz mesial, mostrando grandes áreas de reabsorção dentária (D), associadas a extenso processo inflamatório (seta azul) e intensa reabsorção do tecido ósseo (O) alveolar por osteoclastos (setas) com substituição por tecido conjuntivo (asterisco). Observar a polpa (P) necrosada; d) detalhe da região apical exibindo a polpa dentária (P) inflamada e reabsorção do osso (O) alveolar, aumentando o espaço entre o osso (O) e o cimento (C) ocupado por tecido conjuntivo (asterisco). HE.....

105

FIGURA 33- Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido à abertura coronária - 15 dias: a) detalhe da região distal da porção apical da raiz mesial, mostrando cemento (C) e ligamento periodontal (asterisco) íntegros com reabsorção do osso (O) alveolar por osteoclastos (seta); b) região de furca preenchida por tecido conjuntivo (asterisco) contendo células inflamatórias (seta preta) e pequenas áreas ocupadas por tecido epitelial (seta vermelha); c) região proximal da porção média da raiz mesial mostrando polpa (P) necrosada e extensas áreas de reabsorção (seta preta) da dentina (D) associadas ao processo inflamatório (seta azul) rico em PMNs; d) detalhe da reabsorção do tecido ósseo (O) por osteoclastos (setas), envoltos por tecido conjuntivo (asterisco). HE..... 107

FIGURA 34- Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido a abertura coronária - 30 dias: a) na visão panorâmica mostrando as estruturas dentárias e paradentárias, observar a abertura coronária (seta verde) e o preenchimento da cavidade pulpar coronária e radicular por restos alimentares, fragmentos de dentina e tecido necrosado; b) detalhe da região de furca mostrando recessão gengival (seta vermelha) e a exposição de tecido ósseo (O) desvitalizado; c) região cervical-média da raiz mesial, mostrando grandes áreas de reabsorção dentária (setas pretas), associadas ao tecido conjuntivo (asterisco). Observar recessão gengival com o tecido epitelial (seta vermelha) circundando o tecido ósseo (O) desvitalizado; d) detalhe da porção apical exibindo a polpa dentária necrosada, dentina (D) e cemento (C) íntegros na região distal e abscesso periapical (seta azul) envolto por tecido conjuntivo (asterisco) com reabsorção dentária (setas pretas) na região proximal. O tecido ósseo (O) não exibe sinais de reabsorção. HE..... 111

FIGURA 35-	Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido à abertura coronária - 30 dias: a) detalhe da região proximal da porção media da raiz mesial, com intensa reabsorção dentinária paralisada com formação de tecido cementóide (seta) com inserção de densas fibras colágenas; b) região de furca mostrando intensa recessão gengival (seta vermelha) com exposição de tecido ósseo (O) sem vitalidade; c) região proximal da porção apical da raiz mesial mostrando abscesso (seta azul) rico em PMNs na superfície reabsorvida (seta preta) do cimento (C); d) região inter-radicular apresentando processo alveolar (O) sem sinais de reabsorção e com superfícies recobertas por osteoblastos (seta) com citoplasma volumoso e os espaços preenchidos por tecido conjuntivo (asterisco). HE.....	113
FIGURA 36-	Gráfico do percentual de pixels obtidos para cada estrutura presente na região periapical da raiz mesial do primeiro molar inferior nos grupos controle e teste nos diversos períodos experimentais.....	118

Lista de Tabelas

TABELA 1-	Parâmetros microscópicos analisados nos lados teste e controle para classificação da condição dentária e paradentária.....	64
TABELA 2-	Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias obtidas com a placa 2 do Digora®.....	82
TABELA 3-	Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o escâner HP Scanjet 5370c no lado teste.....	85
TABELA 4-	Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o escâner HP Scanjet 5370c no lado controle.....	85
TABELA 5-	Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o escâner óptico PowerLook II no lado teste.....	85

TABELA 6-	Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o escâner óptico PowerLook II no lado controle.....	86
TABELA 7-	Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o escâner a laser - Lumiscan 75 no lado teste.....	86
TABELA 8-	Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o escâner a laser - Lumiscan 75 no lado controle.....	86
TABELA 9-	Quadro comparativo dos parâmetros histológicos avaliados quanto a condição dentária e periodontal/periapical nos diferentes grupos analisados.....	115
TABELA 10-	Média e desvio padrão do número total de pixels de cada estrutura presentes na região periapical da raiz mesial do primeiro molar inferior nos grupos controle e teste nos diversos períodos experimentais.....	117
TABELA 11-	Resultados do teste de Tukey intragrupo (lado teste x lado controle) do percentual de pixels obtidos para as diferentes estruturas da região periapical nos diferentes períodos experimentais.....	119
TABELA 12-	Resultados do teste de Tukey na comparação do percentual de pixels obtidos para as diferentes estruturas da região periapical do lado teste entre os diferentes períodos experimentais.....	120

Lista de Anexos

ANEXO 1-	Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Faculdade de Odontologia de Bauru.....	151
ANEXO 2-	Resultados do teste ANOVA para as médias dos valores de pixels dos quatro degraus do penetrômetro entre os períodos experimentais, para cada um dos métodos de digitalização utilizados.....	152
ANEXO 3-	Ruído da ROIs dos lados teste e controle dos 27 animais nas duas placas de fósforo fotoestimuláveis estudadas.....	153
ANEXO 4-	Ruído da ROIs dos lados teste e controle dos 27 animais nos três escâneres estudados.....	154
ANEXO 5-	Valores atribuídos ao ruído nos quatro degraus do penetrômetro para cada radiografia na placa 1 do Digora®.....	156
ANEXO 6-	Valores atribuídos ao ruído nos quatro degraus do penetrômetro para cada radiografia na placa 2 do Digora®....	157
ANEXO 7-	Valores atribuídos ao ruído nos quatro degraus do penetrômetro para cada radiografia no escâner HP Sacnjet 5370c.....	158
ANEXO 8-	Valores atribuídos ao ruído nos quatro degraus do penetrômetro para cada radiografia no escâner PowerLook II.....	159
ANEXO 9-	Valores atribuídos ao ruído nos quatro degraus do penetrômetro para cada radiografia no escâner a laser Lumiscan.....	160
ANEXO 10-	Coeficiente de variabilidade de valor de pixel da ROIs dos lados teste e controle nos três grupos experimentais estudados, para cada um dos métodos de digitalização empregado.....	161

ANEXO 11- Coeficiente de variabilidade de valor de pixel da região de controle do penetrômetro nos três grupos experimentais estudados, para cada um dos métodos de digitalização empregado.....	162
--	-----

Lista de abreviaturas e símbolos

%	por cento
”	polegada(s)
Bit	binary digit (elemento binário)
Byte	binary term (unidade de memória do computador)
CCD	Charge Coupled Device (Dispositivo acoplado de carga)
cm	centímetro(s)
CV	coeficiente de variabilidade do valor de pixel
DDR	Direct Digital Radiography (sistema digital direto)
Dpi	dots per inch (pontos por polegada – 1 polegada = 2,54 cm)
FOB	Faculdade de Odontologia de Bauru
g	grama(s)
HE	Hematoxilina-eosina
He-Ne	hélio – neônio
HP	Hewlett-Packard
IL-1 α	Interleucina-1 alfa
IL-1 β	Interleucina-1 beta
IL6	Interleucina-6
Kb	quilobyte(s)
mA	miliAmpère
Mb	megabyte(s)
mm	milímetro
μ m	micrômetro
p	probabilidade de erro
pixel	picture element
pl/mm	pares de linha por milímetro
PMN	leucócito polimorfonuclear neutrofílico
PSP	Placa fotoestimulável
R*	Röntgen recíproco
RVG	RadioVisioGraphy
s	segundo (s)

TIFF	Tagged Image File Format
USP	Universidade de São Paulo
UFC	Universidade Federal do Ceará
Velocidade D	filme radiográfico com nível de sensibilidade de 12 a 24 R*
Velocidade E	filme radiográfico com nível de sensibilidade de 24 a 48 R*

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA**

**FOB
USP**

Resumo

Resumo

O objetivo desse estudo foi avaliar radiograficamente, por meio de valores de pixels, sítios de perda óssea periapical criados experimentalmente. Para tal, vinte e sete ratos Wistar foram submetidos à abertura coronária do primeiro molar inferior do lado direito, sendo o lado esquerdo utilizado como controle. Os ratos foram submetidos à orto-eutanásia e radiografados aos segundo, décimo quinto e trigésimo dias (grupos I, II e III) após o procedimento operatório, objetivando observar o dente com pulpite, necrose pulpar e reabsorção óssea periapical. As hemimandíbulas dos vinte e sete animais foram radiografadas com filmes tamanho 2 e com duas placas de fósforo fotoestimuláveis do sistema Digora[®]. As radiografias convencionais foram digitalizadas usando-se três escâneres. Posteriormente, as peças foram descalcificadas em EDTA e submetidas a cortes microscópicos de 5µm, para posterior análise microscópica a fim de confirmar o estado pulpar e periapical do dente estudado. As médias dos valores de pixels das áreas experimentais e das áreas controle foram aferidas no programa ImageJ[®]. Na análise estatística, o teste T pareado mostrou uma diferença significativa entre os valores de pixels das áreas controle e teste, em todos os períodos experimentais das placas e nos períodos de 15 e 30 dias para os escâneres. A análise microscópica evidenciou perda óssea, com aumento de osteoclastos e reabsorção óssea periapical, entre os lados teste e controle, assim como nos diferentes períodos experimentais. O padrão de evolução da doença não foi evidenciado na análise radiográfica, entre os períodos experimentais, diferentemente da análise microscópica que além de comprovar a presença de

reabsorção no lado teste, evidenciou a evolução da lesão periapical no decorrer dos períodos experimentais pelo teste ANOVA a dois critérios. Os resultados indicaram que a análise feita pelos valores de pixels pôde ser utilizada para diferenciar os lados controle e teste. A mesma análise não foi eficaz para mostrar diferenças entre os grupos com a evolução do período experimental. A análise microscópica comprovou a evolução da doença periapical desde a necrose pulpar até a reabsorção óssea.

Palavras-chave: Diagnóstico por imagem. Lesão óssea periapical. Placa fotoestimulável.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA**

**FOB
USP**

1 Introdução

1. Introdução

O Diagnóstico por imagem vem sendo cada vez mais usado e aprimorado na clínica odontológica. Em Endodontia, obtém-se o mesmo a partir da conjunção dos resultados do exame clínico e de exames complementares, como o radiográfico e os testes de vitalidade pulpar. Porém, sabe-se que às vezes o exame clínico suscita dúvidas, e os testes de vitalidade muitas vezes nos levam a resultados falso-positivos ou falso-negativos. Quanto ao exame radiográfico, embora de extrema utilidade, nem sempre mostra alterações esclarecedoras (SARMENTO; PRETTO⁸¹, 2003).

O processo de diagnóstico por exames radiográficos, ou qualquer outro tipo de imagem, é um procedimento extremamente complexo, o qual envolve fatores como a qualidade da imagem e a habilidade profissional. Com o avanço tecnológico, a qualidade das imagens tem se tornado cada vez melhor, fornecendo maiores detalhes das estruturas anatômicas (LAURIS; COSTA; BOSCOLO⁵², 2001). Porém, existe a limitação do olho humano, o qual detecta um detalhe de, no mínimo, 0,1mm X 0,1mm e consegue distinguir apenas cerca de 50 níveis de cinza diferentes, variando do branco ao preto, embora possa distinguir centenas de cores (OHKI; OKANO; NAKAMURA⁶⁷, 1994).

A radiografia periapical é um dos poucos exames complementares disponíveis rotineiramente no diagnóstico e tratamento de problemas endodônticos. Entretanto, a imagem fornecida por essa técnica muitas vezes não retrata com fidelidade os processos patológicos pulpares e periapicais em vigência (KULLENDORFF; NILSSON⁵⁰, 1996, MOL; VAN DER STELT⁵⁹, 1993). Muito se tem

feito para aperfeiçoar a imagem da região periapical e, assim, detectar sinais precoces de patologias por meio do uso da imagem digital (KULLENDORFF; NILSSON⁵⁰, 1996).

Neste contexto, devemos ressaltar que doenças inflamatórias do tecido pulpar podem provocar reabsorção do osso periapical, antes da necrose da polpa, sendo que tais zonas desmineralizadas nem sempre são observadas radiograficamente, principalmente nos estágios iniciais (HAMACHI et al.³³, 1995). Desta forma, o exame radiográfico continua sendo um elemento apenas auxiliar na propedêutica clínica, devido às suas limitações (MEDEIROS; NAVARRO⁵⁷, 1983). Ainda assim, a radiografia se constitui em um instrumento auxiliar de diagnóstico de incalculável e precioso valor, fornecendo substanciais informações de assessoramento ao exame clínico, plano de tratamento e preservação, de inúmeros procedimentos na clínica odontológica cotidiana (DAMANTE; DE CARVALHO¹⁵, 1988).

Com o advento da radiografia digital, algumas vantagens foram surgindo em relação aos filmes convencionais. O uso das ferramentas de análise tem levado à possibilidade de manipulação da imagem, permitindo a obtenção de melhor qualidade, pelo que leva à detecção de alterações ósseas muito sutis (ATTAELEMANAN; BORG; GRONDAHL⁵, 2000). A análise de valor de pixel por diferentes programas é uma dessas ferramentas que têm sido estudadas, mostrando resultados satisfatórios.

A imagem digital apresenta uma maior sensibilidade e reprodutibilidade, fornecendo desta maneira mais informações a respeito da imagem estudada. Além disso, minimiza os erros intra-observador, visto que etapas subjetivas são substituídas por valores quantitativos fornecidos pelo computador (MOL; VAN DER STELT⁵⁹, 1993).

Existem métodos digitais diretos e indiretos de captação da imagem. Dessa forma, mesmo as radiografias convencionais podem ser digitalizadas após sua aquisição através de um escâner, onde os cristais de prata sensibilizados na emulsão do filme radiográfico serão transcritos de forma numérica para a memória do computador. No monitor, as imagens digitalizadas são formadas por vários pixels (picture element), que correspondem a pontos luminosos de diferentes intensidades de cinza. Tais pixels podem ser convertidos em números, e cada pixel tem um número específico que corresponde ao seu nível de cinza ou de cor. Com a análise dos valores de pixels de uma imagem digital passamos a ter uma avaliação não só qualitativa, mas também quantitativa (SARMENTO⁸⁰, 2000).

As placas de fósforo fotoestimuláveis (PSP/photoestimulable plate) têm sido usadas como um sistema digital direto, onde a imagem fica armazenada na placa até ser descarregada no escâner específico do programa. Tem-se, então, uma imagem digital, onde, a partir dela, pode-se fazer uso do próprio programa do sistema para processar a imagem ou de outros programas, para quantificar os valores de pixels em determinadas regiões. O mesmo pode ser feito com radiografias convencionais que, após escaneadas, podem ser processadas por ferramentas específicas alterando sua cor, brilho, contraste e tamanho, para então serem analisadas quanto aos valores de pixels.

Nos dias atuais, cada vez mais, as placas de fósforo têm se mostrado como uma alternativa para os filmes periapicais. Assim como outros sistemas digitais diretos, os CCDs ("charge coupled devices") e as placas de fósforo necessitam de uma dose de radiação cerca de 50% menor em relação aos filmes convencionais (HILDEBOLT et al.³⁷, 1997).

Além das radiografias digitais oferecerem vantagens como baixas doses de radiação (SOH; LOH; CHONG⁹⁰, 1993), elas eliminam etapas como o processamento radiográfico, o que, além de tornar o método mais rápido, minimiza a possibilidade de erros (DAGENAIS; CLARK¹⁴, 1995).

No estudo da doença periapical, acredita-se que, mesmo em estágios precoces da doença pulpar, pequenas alterações no trabeculado ósseo periapical já estariam presentes sob a observação da microscopia, embora estas não sejam perceptíveis visualmente na radiografia. Nesse contexto, a radiografia digital e seus programas de análise têm sido estudados com maior frequência, no intuito de se chegar a um diagnóstico cada vez mais precoce, o que garante um tratamento mais conservador para o paciente.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA

FOB
USP

2

Revisão

de Literatura

2. *Revisão da Literatura*

2.1 Imagem Convencional X Imagem Digital

A utilização da radiografia vem se tornando cada vez mais essencial para a prática odontológica, desde a sua introdução nesse ramo em 1986. Porém, os filmes radiográficos convencionais apresentam duas grandes desvantagens se comparados aos sistemas digitais: uma maior dose de radiação e a necessidade do processamento químico. Neste contexto, surgiu em 1987, o primeiro sensor digital intrabucal para radiografias, e este se tornou uma alternativa à radiografia convencional. Esse novo sistema foi a Radiovisiografia (RVG-Trophy Radiologie, Vincennes, France), que acoplava um equipamento de raios-X convencional aos recursos de informática. Este sensor tem face ativa de tamanho reduzido, apesar de o volume externo ser maior que o do filme periapical. Possui um fio condutor junto de onde se conecta o chip ao restante do equipamento, permitindo que a imagem seja exibida imediatamente após a sensibilização do sensor pelos raios-X, sempre objetivando produzir radiografias de melhor qualidade com uma dose de radiação reduzida (HORNRETH *et al.*⁴², 1990, MOUYEN *et al.*⁶², 1989, NELVIG; WING; WELANDER⁶⁶, 1992, SANDERINK⁷⁸, 1993, VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997).

A imagem digital é uma matriz numérica resultante da conversão de um sinal analógico para um sinal digital onde cada ponto de informação, ou pixel, recebe uma orientação espacial e de densidade no sistema de memória digital através do “byte” (“binary term” – unidade de memória do computador) ou “bits” (seqüência de dígitos

binários), que pode ser tanto 1 (representando a presença de um pulso elétrico) quanto 0 (representando a ausência desse pulso de eletricidade). Na Odontologia, cada byte geralmente contém 8 bits, permitindo um máximo de 256 possíveis combinações de 0 e 1 ($2^8=256$) ou níveis de cinza, sendo o zero correspondente à cor preta e o 255 à cor branca, na maioria dos sistemas. Esta seqüência é armazenada na memória do computador e, quando a imagem for requerida, cada pixel é decodificado e a imagem é exibida no monitor, mostrando o nível de cinza correspondente à sua seqüência binária (FARMAN; SCARFE²¹, 1994).

Desta forma, a variedade de informação possível para cada pixel depende do número de bits em cada byte (KHADEMI⁴⁸, 1996, MOLTENI⁶⁰, 1993, MOUYEN et al.⁶², 1989, VELDER; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰², 1996). Nos sistemas que operam com 12, 16 ou 32 bits para cada byte, temos uma maior faixa de valores de cinza, entretanto consomem mais memória do computador para armazenar as informações (VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997).

O termo que define a quantidade de possíveis níveis de cinza que um pixel de uma imagem digitalizada pode exibir denomina-se alcance dinâmico (dynamic range) (SARMENTO; PRETTO; COSTA⁸², 1999). O alcance dinâmico das imagens digitalizadas não excede ao dos filmes convencionais (VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997). Embora sistemas de 12 bits, como tomografia computadorizada ou ressonância magnética, apresentem quatro mil e noventa e seis tons de cinza ($2^{12}=4096$), o olho humano pode distinguir no máximo cerca de cinquenta dessas nuances (OHKI; OKANO; NAKAMURA⁶⁷, 1994).

Uma vantagem de um pixel poder exibir 256 ou mais tons de cinza pode consistir no fato de que é possível transformar as diferentes tonalidades de cinza em cores diferentes, utilizando os próprios recursos dos sistemas digitais. É sabido que

o olho humano distingue melhor diferentes cores do que diferentes tons de cinza, o que facilita na diferenciação entre áreas mais ou menos densas (MEIER et al.⁵⁸, 1996, SARMENTO; PRETTO; COSTA⁸², 1999).

Outro ganho é a possibilidade de mensurar a média dos valores de pixels da área selecionada na imagem, quando se obtém a correspondência numérica de tais tons. Essa medida, se a imagem oferecer uma maior quantidade de tons de cinza, aumenta a capacidade de detectar diferenças sutis de densidade, mesmo que imperceptíveis ao olho humano (SARMENTO; PRETTO; COSTA⁸², 1999).

A flutuação indesejável das intensidades de pixels é denominada ruído, que pode comprometer a imagem estudada, afetando a sensibilidade e a intensidade da escala de cinza. O ruído varia consideravelmente dependendo da qualidade do sistema que é empregado e do tempo de exposição (FARMAN; SCARFE²¹, 1994, MOLTENI⁶⁰, 1993, SHROUT; HALL; HILDEBOLT⁸⁶, 1993).

Temos o ruído proveniente do processamento do sinal, o ruído eletrônico e o ruído determinado pelo fóton. O ruído proveniente do processamento do sinal é influenciado principalmente pelo “dark current” ou “fog” originado no próprio sensor, e que é fortemente dependente da temperatura. A contribuição do ruído eletrônico é menor, e pode ser desconsiderada para efeitos práticos. O ruído fotônico é o responsável pela proporção restante (MOLTENI⁶⁰, 1993).

Para se estabelecer um diagnóstico, o sinal a ser detectado deve exceder o ruído inerente ao sistema radiográfico na formação da imagem. Pequenas mudanças nos tecidos não serão percebidas na presença de uma imagem ruidosa (VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997, WENZEL¹⁰⁹, 1994). Como já mencionado, o ruído eletrônico e de digitalização são de menor importância, mas a

flutuação da fonte de raios X deve ser considerada (VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997, WELANDER et al.¹⁰⁶, 1994, WENZEL¹⁰⁹, 1994).

Fazendo uma comparação entre filme radiográfico e sensores, verifica-se que aquele é composto por um arranjo aleatório de cristais de prata metálica. Esses cristais de brometo ou iodeto de prata, quando sensibilizados pelos raios-X compõem uma imagem latente, que é invisível. Após o processamento com soluções químicas, os cristais de prata sensibilizados são reduzidos pelos componentes do revelador e depois fixados, passando a exibir diferentes tons de cinza. Temos, então, a imagem final, composta pela união de vários pontos que variam do preto absoluto ao branco absoluto (SARMENTO; PRETTO; COSTA⁸², 1999). Se observado em um maior aumento, é possível ver os grãos que compõem a dupla emulsão. Esses grãos são os cristais de prata que têm um tamanho mensurável, e cada cristal tem uma translucidez. Nos sistemas digitais diretos, essas funções são separadas em três unidades: o sensor, que substitui o filme e a partir dele se obtém a imagem radiográfica; a memória do computador, onde a imagem é armazenada; e o monitor, onde a imagem é vista e analisada (GRONDAHL²⁸, 1992, HORNER et al.⁴², 1990, WENZEL¹⁰⁹, 1994). Um pixel é o equivalente digital do cristal de prata, e cada pixel contém uma localização e uma informação a respeito de sua cor ou nível de cinza representada dentro do computador por um número (FARMAN; SCARFE²¹, 1994, KHADEMI⁴⁸, 1996). A imagem pode ser representada por uma tabela numérica (Figura 01). Os pixels têm tamanhos e formas, sendo usualmente quadrados, mas podem ser retangulares. Seu tamanho determina sua granulação, sua resolução espacial. Quanto menor o pixel, maior a resolução espacial (KHADEMI⁴⁸, 1996).

A resolução espacial é entendida como o número de pontos que formam a imagem por unidade de área. Esses pontos são traduzidos em cristais de prata na emulsão e em pixels na imagem digital. Quanto maior o número de pixels na imagem, melhor sua resolução espacial. Em geral, a resolução espacial de uma radiografia encontra-se em torno de 15 pl/mm (KHADEMI⁴⁸, 1996), o que equivale a uma imagem formada por pontos de cerca de 33 μ m.

Figura 1- A- Imagem radiográfica digital. B- Subsecção ampliada da imagem A. C- Valores dos pixels correspondentes da imagem B.

A técnica radiográfica digital é semelhante à convencional, mas a fase do processamento na câmera escura é substituída pelo computador, o que elimina os erros inerentes a essa fase. Sem dúvida, a principal causa das radiografias de baixa qualidade, encontradas na rotina da clínica odontológica, são erros inerentes ao

processamento na câmera escura. As imagens obtidas através do sensor eletrônico são arquivadas no computador, podendo ser manipuladas em programas adequados. Antes do desenvolvimento de tais sistemas digitais diretos de imagem, as radiografias eram digitalizadas indiretamente. Com o advento da imagem digital vieram suas vantagens; tornou-se possível o pós-processamento e a troca de informações radiográficas com grande facilidade e vários programas têm sido desenvolvidos e aprimorados com o intuito de facilitar e ampliar essas técnicas (GRONDAHL²⁸, 1992, VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997).

Esses programas dos sistemas digitais são capazes de realizar várias tarefas, como alterar brilho e contraste, girar a imagem, inverter a escala de cinza e aplicar pseudocores sobre os diferentes tons de cinza. Podemos, ainda, fazer medidas lineares e angulares (NELVIG; WING; WELANDER⁶⁶, 1992). O objetivo do pós-processamento é selecionar as informações que são úteis ao diagnóstico e descartar as que não são importantes, sem gerar novas informações. Uma radiografia de qualidade é fundamental para um diagnóstico correto. Para isso, devemos buscar sempre radiografias com adequado contraste, brilho e resolução (SANDERINK⁷⁸, 1993, VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997).

Além das ferramentas de processamento, outras vantagens surgiram com os sistemas digitais diretos, como a possibilidade de cópias de segurança das imagens radiográficas, formação imediata ou quase imediata da imagem, menor dose de radiação, a supracitada eliminação do processamento através da câmera escura, eliminação da necessidade de espaço para arquivo, armários, envelopes, fichas, cartões de montagem, negatoscópio; a melhora da comunicação entre profissionais e destes com seus pacientes através da exibição da imagem na tela do monitor e facilitação na procura das imagens, visto que elas podem ser arquivadas em pastas

eletrônicas de forma organizada e de fácil acesso (ANGMAR-MANSSON; TEN BOSCH³, 1993, FARMAN et al.²², 1995, HAITER NETO et al.³², 2000, WATANABE et al.¹⁰⁵, 1999, WENZEL¹⁰⁸, 1998, ZÁRADE-PEREIRA; ODA¹¹⁷, 2000).

As principais desvantagens seriam o alto custo inicial e tamanho do sensor no caso dos CCDs, que apresentam tamanho reduzido e volume acentuado além de rigidez quando comparado ao filme (GRONDAHL²⁸, 1992, SANDERINK⁷⁸, 1993, VANDRE; WEBBER¹⁰¹, 1995, VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997).

Em alguns sistemas, como na Radiovisiografia (RVG), que se trata de um sensor de lente e fibra óptica unidas, o CCD encontra-se acoplado a uma placa intensificadora, a qual transfere a luz obtida para o mesmo por meio de fibras ópticas, sendo o CCD exposto indiretamente aos raios-X, o que aumenta sua vida útil. A fluorescência da placa intensificadora devido à incidência dos raios-X é conduzida através de fibras ou lentes até o CCD, que converte essa energia em sinal eletrônico (FARMAN; SCARFE²¹, 1994, MOUYEN et al.⁶², 1989, VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997, WELANDER et al.¹⁰⁶, 1994).

Mais tarde, novos sensores a base de silício passaram a ser confeccionados, podendo estes serem expostos diretamente aos raios-X, como no caso do Visualix[®] (Gendex Dental System, Milano, Italy) e Sens-A Ray (Regam Medical Systems AB, Sundsvall, Sweden). Dessa forma, não são necessárias estruturas adicionais que transmitam o sinal até o CCD, o que torna tais sensores mais finos, facilitando seu manuseio e posicionamento adequado. Dentre tais sensores, o Visualix[®] tem-se mostrado o mais rápido, porém, o que apresenta maior ruído (MOLTENI⁶⁰, 1993). Neste sensor, assim como em outros CCDs, existem placas intensificadoras que objetivam reduzir o ruído. No caso do Visualix[®], temos uma camada de fósforo na

composição do sistema e, mesmo assim, tais sistemas ainda são mais finos que aqueles nos quais a conexão com o CCD é feita por fibras ópticas ou lentes. (MOLTENI⁶⁰, 1993, MOUYEN et al.⁶², 1989, NELVIG; WING; WELANDER⁶⁶, 1992, SANDERINK⁷⁸, 1993, VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997, WELANDER et al.¹⁰⁷, 1993).

2.1.1 Sistema Digora

Um outro tipo de sistema digital de radiografias intrabucais é o Digora[®] (Soredex, Orion Corporation, Helsinki, Finland), criado em 1994, sendo o primeiro sistema onde o filme radiográfico é substituído por uma placa de fósforo fotoestimável e reutilizável que não é ligada diretamente ao computador (STAMATAKIS; WELANDER; MCDAVID⁹⁶, 2000). Esse sistema apresenta manuseio e utilização mais simples, por possuir tamanho semelhante ao do filme convencional, ser mais fino em relação aos demais sensores e pela ausência do fio conector entre a placa e o aparelho de escaneamento, além de possuir maior área ativa. O aparelho radiográfico não precisa estar no mesmo ambiente que a unidade de leitura e o computador. Toda a boca pode ser radiografada, incluindo dentes posteriores e radiografias interproximais, isto pelo maior tamanho que as placas apresentam (KASHIMA⁴⁶, 1995, MOYSTAD et al.⁶⁴, 1996, STAMATAKIS; WELANDER; MCDAVID⁹⁶, 2000, VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997).

O funcionamento do sistema de fósforo fotoestimável consiste numa placa de imagem formada por quatro camadas. A primeira, que fica do lado a ser exposto, é formada por uma base de poliéster coberta por compostos de haletos cristalinos à base de flúor e haletos de bário impregnado de európio ativado (BaFBr:Eu2+). A

energia dos raios-X é convertida em luz visível, que forma uma imagem latente. Na segunda camada, a imagem é armazenada por fósforo fotossensível. A terceira camada é uma lâmina de metal que será atraída pelo ímã do sistema de leitura óptica. A quarta camada é composta por um plástico protetor. Quando um feixe de laser He-Ne (Hélio-Neônio) é direcionado sobre a placa, esta energia é emitida como luz azul fluorescente, e o resultado dos sinais ópticos fluorescentes é então convertido em sinais elétricos que são interpretados pelo computador. A energia que ainda permanece na placa pode ser eliminada expondo-se a placa à luz do sol ou à luz própria do aparelho. Ao ser eliminada esta energia remanescente, a placa pode ser reutilizada (HAITER NETO et al.³², 2000, HAYAKAWA et al.³⁶, 1998, KASHIMA⁴⁶, 1995, KHADEMI⁴⁸, 1996).

Os aparelhos radiográficos usados são os mesmos utilizados na obtenção de radiografias convencionais sendo necessário calibrar o programa do Digora[®] e o tempo de exposição (VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997). Depois de efetuada a exposição da placa, a mesma é inserida na unidade de leitura e o tempo para a leitura das placas pela unidade de captura é de cerca de 15 segundos para a placa menor e 25 segundos para a maior (SOREDEX⁹¹, 1995), até exibir a imagem na tela do computador (KASHIMA⁴⁶, 1995, VANDRE; WEBBER¹⁰¹, 1995).

O Digora[®] possui placas de captura de 1,6 x 26 x 35 mm, com 292 x 416 pixels e de 1,6 x 35 x 45 mm e um arranjo de 416 x 560 pixels. O tamanho de cada pixel é de 70 x 70 µm, obtendo-se uma resolução de 6 pl/mm (BORG; GRONDAHL; GRONDAHL⁸, 1997, HAYAKAWA et al.³⁶, 1998, KASHIMA⁴⁶, 1995, SOREDEX⁹¹, 1995, VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997).

Na versão mais atual do Digora[®], as imagens são armazenadas em 14 bits com dois diferentes tamanhos de pixel disponíveis: 40 e 64 μm . O tamanho do pixel das imagens obtidas na versão do Digora[®] utilizada neste trabalho é de 70 μm e a obtenção é de 8 bits. A resolução espacial do Digora[®] foi menor quando comparada aos sistemas digitais RVG-4[®], CDR[®] e Dixel[®], todos com captura por meio de CCD (Charge Coupled Device), conforme avaliado por (ARAKI; ENDO; OKANO⁴, 2000). Neste mesmo estudo, o Digora[®] demonstrou possuir a latitude mais ampla entre os sistemas avaliados, apesar da menor resolução (ARAKI; ENDO; OKANO⁴, 2000).

O programa Digora[®] é compatível com o Windows[®] (SOREDEX⁹¹, 1995) e várias ferramentas de manipulação podem ser aplicadas, como inversão dos tons de cinza, magnificação (de no máximo dezesseis vezes), realce em terceira dimensão, alteração de brilho e contraste. Medidas lineares, angulares e dos valores de pixel também podem ser realizadas (KASHIMA⁴⁶, 1995, SOREDEX⁹¹, 1995). A aplicação de pseudocores é outra possibilidade (SOREDEX⁹¹, 1995).

O Digora[®] necessita ser calibrado antes da aquisição da primeira imagem, a fim de que o escâner possa ajustar seu mecanismo de leitura e adaptar-se ao nível de exposição. Esse procedimento faz com que as imagens obtidas apresentem um equilíbrio na escala de cinza e brilho. A calibração é realizada através dos seguintes passos: 1- Adapta-se a voltagem, miliamperagem e tempo de exposição para o valor máximo que será usado; 2- Coloca-se a placa de fósforo a 5 cm de distância do tubo de raios-X; 3- Deve-se observar se o feixe de raios-X irá cobrir toda a superfície da placa e de que nada há entre a placa e o tubo; 4- Põe-se o Digora[®] no modo de calibração e insere-se a placa para o escaneamento a laser (HAYAKAWA et al.³⁶, 1998).

O mais importante no processo da calibração é a delimitação da exposição máxima. O sistema deve ser calibrado baseando-se na maior dose de radiação a ser utilizada, permitindo uma exposição de 10% a 100% da exposição da calibração (STAMATAKIS; WELANDER; MCDAVID⁹⁶, 2000).

As placas de fósforo do sistema Digora[®] podem promover imagens de qualidade, com uma considerável variação de tempos de exposição, isso se deve à ampla latitude que essas placas apresentam (HAYAKAWA et al.³⁶, 1998).

Os sistemas com placas apresentam um grande alcance dinâmico, devido ao controle automático da exposição e à baixa dose de radiação requerida, podendo a placa ser super ou sub-exposta e, ainda assim, fornecer imagens de qualidade, diferentemente dos filmes convencionais e dos sistemas digitais baseados no uso de sensores CCDs, que são muito mais vulneráveis às mudanças nas doses de exposição (LIM; LOH; HONG⁵⁴, 1995, VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997).

Enquanto o alcance dos filmes convencionais situa-se na faixa de 10^2 , a dinâmica dos sistemas com placas é de aproximadamente 10^4 , e a própria placa de captura tem uma capacidade ainda maior (KASHIMA⁴⁶, 1995).

O armazenamento das imagens no sistema Digora[®] é feito através de arquivos em torno de 234 kb ou 60 kb (para arquivos comprimidos), sendo aceitos vários formatos para importação e exportação de imagens (SOREDEX⁹¹, 1995).

Como desvantagem deste sistema, temos o tempo demandado para que a imagem seja exibida na tela do computador (de 15 a 20s). Embora mais rápido do que o tempo requerido para o processamento químico do filme convencional e da ausência de substâncias químicas no processamento, é mais lento que no sistema DDR (Direct Digital Radiography – Sistema Digital Direto) onde as imagens são

exibidas praticamente em tempo real (KASHIMA⁴⁶, 1995, VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997). Nos sistemas do tipo DDR, a repetição pode ser realizada de forma rápida, caso haja erro na tomada radiográfica. Já nos sistemas de placas de fósforo fotoestimuláveis a placa óptica deverá ser trazida novamente até o paciente e reposicionada a fim de que seja feita a repetição, o que demanda mais tempo (KHADEMI⁴⁸, 1996).

SARMENTO; RUBIRA⁸³, em 1998, avaliaram a qualidade da obturação do canal radicular por meio da densidade óptica. Para tal, selecionaram 60 caninos superiores de um banco de dentes que foram separados de acordo com o tamanho e volume aproximados, em três grupos: vinte dentes que foram obturados pela técnica de condensação lateral, outros vinte, apenas com cimento endodôntico e os últimos 20, com cones secundários e cimento endodôntico. O sistema radiográfico utilizado foi o Digora[®], com radiografias pré e pós tratamento endodôntico. Foi mensurada a densidade óptica dos materiais obturadores e os resultados mostraram que os dentes obturados com a técnica da condensação lateral exibiram maiores e menos dispersos valores de densidade óptica, revelando uma obturação mais compacta e homogênea, e que os diferentes padrões de densidade óptica dos métodos de obturação estudados podem avaliar a qualidade do tratamento endodôntico.

OLIVEIRA et al.⁶⁸, avaliaram, em 2000, a qualidade da imagem de radiografias digitalizadas pelos sistemas de armazenamento de fósforo utilizando dois aparelhos: Digora[®] (Soredex, Finlândia) e DenOptix[®] (Gendex, USA). O Digora[®] apresentou melhor qualidade de imagem, embora os dois sistemas apresentassem o mesmo tipo de detector de fóton.

Em 2003, SHROUT et al.⁸⁷, investigaram a imagem radiográfica de mandíbulas de cadáveres. Nessas mandíbulas foram feitos desgastes em osso medular, seguindo quatro passos seqüenciais. A medida que as referidas mandíbulas sofriam desgastes eram radiografadas por um sistema digital direto. A análise da imagem digital foi realizada por quatro métodos, sendo que a mensuração dos valores de pixels evidenciou mudanças significativas mesmo para pequenas alterações no osso medular.

No ano seguinte, o mesmo grupo de autores publicou um trabalho semelhante, utilizando a mesma metodologia e acrescentando uma análise visual das imagens. Concluíram que os métodos digitais de medição detectaram as mudanças no conteúdo ósseo mesmo quando diferenças visuais não eram aparentes (JETT et al.⁴³, 2004).

MARTINS et al.⁵⁵, em 2006, estudaram a influência do atraso entre a tomada radiográfica e o escaneamento da placa de fósforo no sistema Digora[®] em intervalos de 10, 30, 60, 120, 180 e 240 minutos, concluindo que há perda de informação diagnóstica detectável apenas pela análise de pixel, não sendo a mesma observada visualmente.

2.1.2 Imagem Digitalizada Indiretamente

A imagem convencional deve ser convertida em sinal elétrico para apresentar-se disponível na forma digital, podendo isto ser feito por meio de um escâner (KHADEMI⁴⁸, 1996, MOUYEN et al.⁶², 1989, VERSTEEG; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰³, 1997).

Nos escâneres, uma fonte de luz em forma de linha varre o objeto a ser digitalizado e mede a quantidade de luz refletida ou transmitida em cada ponto. Dessa forma, a luz captada é convertida em um sinal elétrico e este sinal é posteriormente digitalizado (ESCARPINATI; COSTA VIEIRA; SCHIABEL²⁰, 2002). Esse procedimento pode se dar basicamente através de três tecnologias de imagem: CCD (charge coupled device), PMT (tubos fotomultiplicadores) ou LASER (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) (DAVIDSON et al.¹⁶, 2001), sendo os escâneres a laser preferíveis em relação aos CCDs (HANGIANDREOU; O'CONNOR; FELMLEE³⁴, 1998).

O processo de digitalização é muito importante para que não haja perda de informação nas densidades maiores, como a radiolucidez discreta das cáries proximais incipientes (OHKI; OKANO; NAKAMURA⁶⁷, 1994). Em um escâner com especificação de, por exemplo, 1200 x 2400 dpi, o menor número corresponde à resolução óptica, e a escolha da dpi é um fator crítico no uso do escâner. Para se obter uma resolução maior que a óptica, é feita a interpolação através do programa, o que significa calcular valores que ocorrem entre dois valores conhecidos, acrescentando assim nova informação à imagem (FULTON²⁵, 2004).

OHKI; OKANO; NAKAMURA⁶⁷, em 1994, compararam imagens digitalizadas de três formas: escâner a laser, escâner a tambor e câmeras de vídeo. As imagens digitalizadas em pixels de 100 micrômetros e 32 tons de cinza foram consideradas suficientes para visualização adequada, sendo que o escâner a tambor apresentou imagens com maior precisão de interpretação de cáries proximais incipientes.

DAVIDSON et al.¹⁶, no ano de 2001, avaliaram um escâner a laser (Lumisys 75), e outro CCD, mais duas câmeras digitais em relação à qualidade da imagem original e da imagem corrigida por 10 radiologistas. Quando vistas na tela do

monitor, imagens obtidas pelos dois escâneres apresentaram melhor resultado nos testes realizados. Entre os quatro equipamentos estudados, o escâner a laser obteve a densidade óptica mais linear, porém, forneceu valores maiores que os ideais nas regiões de maior densidade. No entanto, o escâner CCD teve como vantagem ser mais barato e acessível.

A comparação da curva característica de filmes convencionais mamográficos em dois escâneres a laser (Lumiscan 50 e Lumiscan 75) foi feita por ESCARPINATI; COSTA VIEIRA; SCHIABEL²⁰, em 2002. A curva característica representa a relação entre a densidade óptica na radiografia e o nível de cinza do pixel na imagem digital. Esses equipamentos calcularam o nível de cinza de cada ponto, multiplicando a sua densidade óptica por 1000. Para a correção da imagem, a função matemática que melhor relacionava a curva medida e a curva característica esperada para cada digitalização foi determinada. Esta curva, chamada de curva de calibração, foi usada para ajustar o nível de cinza dos pixels das imagens digitalizadas para os valores esperados. Para os dois escâneres houve diferença em relação à curva ideal, e os autores propuseram um algoritmo de correção para calibração dos escâneres.

Em 2004, CAMPS; POMMEL; BUKIET¹¹ compararam dois métodos de avaliação radiográfica de tratamento endodôntico em humanos: o índice periapical (ORSTAVIK; KEREKES; ERIKSEN⁷⁰, 1986) e a média do nível de cinza. Cinquenta dentes humanos com lesões periapicais foram tratados endodonticamente. Tomadas radiográficas imediatamente ao término do tratamento e após 3 e 6 meses, com o uso de um penetrômetro de alumínio para equalizar os níveis de cinza, foram realizadas. Após escaneadas, o tamanho da lesão e a média do nível de cinza foram mensurados. Esse estudo demonstrou ser possível evidenciar alterações ósseas em

lesões periapicais pela análise do nível de cinza entre a radiografia inicial e seus controles, mesmo quando o índice periapical não sofre mudança.

A comparação das imagens digitalizadas de radiografias convencionais com as radiografias originais para avaliar lesões periapicais, cárias e estabelecer o valor diagnóstico das imagens digitalizadas foi realizada por GOGA; CHANDLER; LOVE²⁷, em 2004. Nesse artigo quatro grupos foram usados: radiografias interproximais demonstrando lesões cárias, radiografias periapicais de lesões periapicais, radiografias periapicais mostrando limas endodônticas de diferentes tamanhos e radiografias periapicais padronizadas com limas de tamanho 08 no comprimento de trabalho. Referidas radiografias foram fotografadas usando as câmeras digitais Olympus C2500-L e Nikon D1X e o escâner Nikon Supercootsan 4000 ED film/slide. Não houve diferença entre as câmeras. O diagnóstico realizado através do escâner foi equivalente ao da câmera Olympus, sendo inferior às duas câmeras nas demais análises.

Em 2005, OTIS; SHERMAN⁷¹ digitalizaram quinze radiografias interproximais e imprimiram-nas em papel fotográfico no tamanho de 4 x 3 cm e 8 x 6 cm. As radiografias convencionais e as duas impressões foram avaliadas por 14 observadores por meio de análise visual, concluindo não haver diferença entre as mesmas no diagnóstico subjetivo de cárie interproximal. O tamanho da impressão foi importante no diagnóstico de cárie em esmalte, posto ser mais fácil o seu diagnóstico em imagens impressas em 8 x 6 cm.

A comparação de medidas lineares de radiografias cefalométricas laterais originais com digitalizadas foi feita por BRUNTZ et al.⁹, em 2006. Para tal, radiografias cefalométricas de 30 pacientes pré e pós-tratamento foram selecionadas e três grupos foram criados: original, digital e cópia impressa. Os resultados

mostraram que apesar de alguma distorção ter sido encontrada, as discrepâncias horizontais e verticais relativamente pequenas foram consideradas clinicamente insignificantes. Além disso, os erros na identificação dos pontos cefalométricos contribuíram para tais discrepâncias.

2.1.3 Imagem Digital Direta X Indireta

A avaliação da qualidade de 12 imagens obtidas através do sistema Digora[®] com 12 imagens de filmes convencionais de velocidade E, com variações no tempo de exposição de 0.02 a 2.32 segundos foi estudada por LIM; LOH; HONG⁵⁴, em 1995. O sistema Digora[®] permitiu a obtenção de imagens de nível clínico aceitável, em toda a faixa de exposição empregada, mesmo com 53% da dose utilizada para sensibilizar os filmes convencionais.

Neste mesmo ano, MATSUDA et al.⁵⁶ compararam a acuidade do sistema Digora[®] com radiografias convencionais de velocidade E, na detecção de cáries proximais incipientes. Trinta e um pré-molares superiores foram selecionados e, das 62 faces, 33 apresentavam lesões incipientes. Os dentes foram radiografados pela técnica do paralelismo, sendo o tempo de exposição ajustado para as radiografias convencionais e diminuído em um oitavo para a obtenção das imagens digitais. Para análise das imagens obtidas com o Digora[®], os observadores puderam alterar o brilho e o contraste. Os resultados mostraram um melhor desempenho das imagens digitais, mesmo utilizando menores doses de radiação, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa.

Ainda em 1995, KASHIMA⁴⁶ comparou a qualidade de imagens obtidas através da placa de fósforo, com aquelas de radiografias convencionais, mostrando que a qualidade das imagens obtidas pelo sistema de placas era comparável, ou melhor, que as obtidas através de filmes convencionais. Concluiu-se que as imagens das placas de fósforo têm um potencial diagnóstico igual, ou melhor, que as radiografias convencionais.

SVANAES et al.⁹⁷, em 1996, testou a acurácia da detecção de cáries proximais pelo sistema Digora[®] comparando com radiografias convencionais. Cinquenta dentes, sendo vinte e cinco pré-molares e vinte e cinco molares extraídos foram montados num suporte e o conjunto foi radiografado com um aparelho de 60kVp, 7mA e filtração total equivalente a 1,7 mm de alumínio, com uma distância foco-filme de 24 cm. Filmes convencionais de velocidade E e placas de fósforo do sistema Digora[®] foram radiografados simultaneamente, para que a exposição fosse idêntica para ambos, e um penetrômetro com doze degraus foi acoplado ao filme. As radiografias convencionais foram processadas automaticamente e as placas de fósforo foram escaneadas no sistema Digora[®]. As imagens digitalizadas foram transferidas para um programa de imagem (Image-Pro Plus[®]) e exibidas em um monitor de 17" no tamanho da radiografia original (3 x 4 cm) e com um aumento de 4 vezes (12 x 16 cm). A interpretação das imagens no negatoscópio e no monitor foi realizada por 10 examinadores experientes. As imagens digitais foram examinadas com tamanho periapical e fundo preto; ampliadas quatro vezes e com fundo preto e ampliadas quatro vezes ao lado de textos e gráficos. Manipulação adicional da imagem não foi permitida. A presença de cárie foi confirmada por exame histológico, sendo que 61 superfícies proximais apresentavam lesões cariosas. Não houve diferença entre as imagens digitais e os filmes, sendo que as imagens que sofreram

magnificação do tamanho mostraram-se preferíveis na obtenção do diagnóstico. A interpretação das imagens que estavam ao lado de textos e gráficos determinou uma maior variabilidade interexaminador.

Imagens obtidas de 100 mandíbulas de cadáveres tanto com o Sistema Digora[®] quanto com filmes radiográficos de duas velocidades (E e D) foram comparadas por HOLTZMANN et al.⁴¹, em 1998, que encontraram equivalência entre as três técnicas para a detecção de reabsorção óssea perirradicular.

No mesmo ano, NAIR et al.⁶⁵ estudaram a detecção da perda óssea na crista alveolar de 106 amostras com o sistema de radiografia digital direta Sidexis[®] (Siemens Medical Systems, Inc., Bensheim, Germany) e o sistema de radiografia convencional Ektaspeed plus[®] (Eastman Kodak, Rochester, N.Y.), não foram verificadas diferenças significativas entre os dois sistemas.

HINTZE; WENZEL; FRYDENBERG⁴⁰, em 2002, avaliaram a acurácia diagnóstica para cárie usando quatro sistemas de radiografia digital (DenOptix[®], Cd-dent[®] e placas azul e branca do Digora[®]) e a radiografia convencional (Ekta Plus[®]). Foi encontrada uma equivalência para diagnóstico de cáries proximais entre os sistemas DenOptix[®], Digora[®] e Ekta Plus[®], sendo estes superiores ao sistema CD-dent[®], destacando-se o Digora[®] em relação aos outros no tocante ao diagnóstico de cáries oclusais.

WESTPHALEN et al.¹¹¹, em 2004, compararam radiografias convencionais e digitais no diagnóstico de reabsorção radicular externa simulada. Mandíbulas humanas, contendo dentes, foram cobertas por músculo bovino simulando tecido mole. Nove dentes de cada grupo dentário foram utilizados, sendo feitas três radiografias de cada grupo na posição ortorradial, mesiorradial e distorradial, usando filmes convencionais (Insight Kodak F-speed[®]) e sensor digital (DRS Gnatus

System[®]; Gnatus, Ribeirão Preto, Brasil). Os dentes foram extraídos e procedeu-se à confecção de cavidades nas superfícies mesial, distal e vestibular dos mesmos, nos terços cervical, médio e apical. Depois de feitos os desgastes, os dentes foram reposicionados e radiografados novamente. As imagens foram avaliadas por um endodontista, um radiologista e um clínico geral, cujo resultado mostrou a detecção de um maior número de cavidades pelo método digital em relação ao convencional, ressaltando-se que o método digital foi mais sensível para diagnóstico de reabsorções radiculares externas simuladas.

WOOLHISER et al.¹¹⁴, em 2005, compararam a acurácia de radiografias intraorais do tipo D e F, radiografias digitais e digitais melhoradas, em medidas lineares em endodontia, mostrando não haver diferença significativa entre as medidas, independentemente do tipo de imagem, embora os radiologistas mostrem predileção pelas imagens digitais melhoradas.

Em um estudo feito por KAEPLER; DIETZ; REINERT⁴⁴, em 2006, com 402 radiografias panorâmicas, de 201 pacientes, sendo duas radiografias de cada paciente, variando a dose de radiação do aparelho Orthophos Plusw[®] (Sirona, Bensheim, Germany), os autores analisaram a acurácia no diagnóstico comparando filmes com ecrans de intensidade média e regular e placa de fósforo. A análise foi feita por cinco observadores que concluíram que os ecrans de intensidade regular podem substituir os de intensidade média, assim como as radiografias panorâmicas digitais, com uma menor dose de radiação, sem detrimento diagnóstico.

No mesmo ano, FERREIRA et al.²³ investigaram a acurácia da detecção de desmineralização em esmalte por meio de radiografias convencionais e digitalizadas e compararam com a subtração logarítmica. Radiografias padronizadas dos dentes foram obtidas antes e após a fase de desmineralização com o emprego dos

sistemas digitais CygnusRay MPS[®], DenOptix[®] e Digora[®], além do filme InSight[®]. O sistema DenOptix[®] e as radiografias convencionais apresentaram os maiores valores de acurácia. No entanto, as imagens por subtração superaram as radiografias convencionais e as digitalizadas.

2.2 Fisiopatologia da doença periapical

A necrose pulpar é a morte da polpa, significa a cessação dos processos metabólicos desse órgão, com sua conseqüente perda de estrutura e de suas defesas naturais. No início do processo de necrose pulpar, os microorganismos são prevalentemente os aeróbios, que se multiplicam rapidamente, desenvolvendo-se uma intensa atividade química na polpa, com liberação de enzimas importantes, como a collagenase, responsável pela destruição fibrilar, a qual desempenha importante função na infecção dos tecidos moles (KREPEL et al.⁴⁹, 1991). Também a hialuronidase, a condroitinase, a hemolisina, a fosfatase ácida e a nuclease auxiliam na desorganização da substância fundamental dos tecidos, impedindo as trocas metabólicas. Como resultado final dessa agressão microbiana, tem-se a necrose pulpar que, inicialmente, mantém seus produtos necróticos no interior do canal radicular, não fornecendo ao clínico imagem radiográfica periapical. Porém, tais alterações levam a reações periapicais, pois as bactérias e suas toxinas, bem como os produtos oriundos da desintegração do tecido pulpar, representam as principais e mais freqüentes causas de reações periapicais de caráter proliferativo e exsudativo. De acordo com SIQUEIRA⁸⁹, em 2002, cerca de 15 a 30 espécies bacterianas estão envolvidas nas diferentes formas de patologia periapical.

Tais alterações patológicas se caracterizam radiograficamente por apresentarem desde um espessamento do periodonto apical, inicialmente, até grandes lesões com diâmetro de cinco ou mesmo superior a dez milímetros, que são evidenciadas radiograficamente, dois ou três anos após a instalação do processo infeccioso pulpar. Nesse caso, o exame microscópico mostra a presença de uma inflamação e área de reabsorção óssea atingindo a cortical, além de erosão do cemento apical (LEONARDO; SILVA⁵³, 2005).

Com o aparecimento da patologia periapical, o processo inflamatório se faz presente, ocorrendo a proliferação dos osteoclastos que são células que primariamente reabsorvem osso (HATA et al.³⁵, 1994) pela secreção de enzimas e ácidos (DELAISSE et al.¹⁷, 1993). A reabsorção óssea está intimamente relacionada com a infiltração nos tecidos periapicais e células inflamatórias (leucócitos polimorfonucleares - PMNs -, linfócitos T e B, macrófagos e plasmócitos). Essas células produzem citocinas, como a interleucina 1 alfa (IL-1 alfa), interleucina 1 beta (IL-1beta) e fator de necrose tumoral (TNF), que induzem a destruição do osso pelos osteoclastos (HAMACHI et al.³³, 1995, YOSHIMURA et al.¹¹⁶, 1997). A IL-6 e as prostaglandinas são outros mediadores químicos envolvidos na reabsorção óssea. Os PMNs são as primeiras células a chegar no sítio de invasão bacteriana (YOSHIMURA et al.¹¹⁶, 1997).

As células inflamatórias periapicais são uma comum seqüela da necrose de polpas infectadas. Numerosos tipos celulares, incluindo PMNs, linfócitos T e B, macrófagos e plasmócitos, podem ser identificados em lesões periapicais, e têm capacidade de mediar vários fenômenos imunológicos. A reabsorção óssea é sempre uma característica da doença inflamatória e a produção de IL-1, pelas

células inflamatórias, pode ser o mecanismo através do qual a osteólise é induzida (BARKHORDAR; HUSSAIN; HAYASHI⁶, 1992).

A reabsorção óssea nas doenças inflamatórias e infecciosas é um mecanismo protetor do hospedeiro, uma vez que permite um maior acúmulo de células imunológicas, que ajudam a localizar bactérias dentro do canal radicular. Além de estimular a reabsorção óssea, as citocinas inibem a formação de osso pelos osteoblastos. E assim, uma vez ocorrida a reabsorção óssea num processo crônico apical, a continuada produção de citocinas e prostaglandinas pelas células inflamatórias pode ser insuficiente para promover reabsorção adicional, mas o bastante para impedir neoformação óssea. Apenas após a remoção do estímulo bacteriano à produção de citocinas, através de tratamento endodôntico, a lesão poderá ser reparada por nova formação de osso.

2.2.1 Indução da doença periapical em ratos

A seqüência de mudanças na polpa e nos tecidos periapicais em molares de ratos, após exposição pulpar, já foi discutida em estudos anteriores, que mostraram um aumento na celularidade e vascularização apical 6 horas após a injúria, e necrose total da polpa entre o oitavo e o nono dia depois da exposição pulpar. Tecido de granulação apical maduro encontra-se presente após duas semanas, com sua gradual substituição por fibras colágenas, podendo, em alguns casos, haver a presença de granuloma recoberto por epitélio (STAHL⁹⁴, 1960).

Em um estudo de KAKEHASHI; STANLEY; FITZGERALD⁴⁵, em 1965, as polpas dos primeiros molares de ratos foram expostas a ambientes convencional e “germ-free”. Eles observaram que as polpas não infectadas sobreviveram à injúria, e

uma ponte de dentina foi formada em três a quatro semanas após a exposição. Não foram encontrados granulomas nem abscessos nesse grupo. Em contraste, o grupo controle de ratos com microbiota oral normal mostrou necrose da polpa em metade da raiz no oitavo dia após a manipulação do tecido pulpar. Nos dentes que permaneceram mais tempo com a cavidade pulpar exposta, a necrose foi total e acompanhada por granuloma e abscessos apicais. Em um espécime, uma camada de epitélio estava se proliferando dentro de um granuloma apical.

HILL³⁹, em 1932, produziu lesões periapicais experimentais em cachorros infectando a cavidade pulpar dos dentes em que ele havia feito a extirpação asséptica da polpa. Pontos de papel contaminados com estreptococos foram colocados no canal radicular e a cavidade foi fechada com cimento e amálgama. O autor encontrou lesões periapicais em todos os dentes acompanhados por um longo período, mesmo nos controles não infectados. A proliferação de restos epiteliais foi encontrada após 30 dias. Concluiu-se que as lesões nos dentes não infectados foram devido à irritação causada pelo acúmulo de exsudato ou de seus produtos no canal vazio. Não foi considerada a possibilidade de infiltração coronal.

GENVERT; MILLER; BURN²⁶, em 1940, estudaram a infecção da polpa em macacos. Em alguns dentes a polpa foi exposta e mantida a cavidade aberta, em outros, a polpa coronária foi inoculada por estreptococos. Mais da metade dos dentes que mostraram ausência de lesão periapical radiograficamente apontaram presença de tais lesões no exame microscópico. Algumas raízes apresentavam bactérias, outras não, mas não houve correlação de tal descoberta com os achados radiográficos.

A infecção pulpar em hamsters foi estudada por BURSTONE; LEVY¹⁰, em 1950. Os autores expuseram a polpa fraturando a coroa com fórceps e encontraram lesões granulomatosas após 23 dias.

STAHL; MILLER; GOLDSMITH⁹⁵, em 1958, estudaram os efeitos do trauma oclusal e privação de proteínas na resposta dos tecidos periapicais decorrentes de exposições pulpares de molares de ratos. O traumatismo oclusal causou reabsorção do septo interradicular, além de lesão periapical. A privação de proteínas levou a uma deficiência na localização do exsudato inflamatório e atraso no reparo ósseo.

Objetivando esclarecer o padrão da reação tecidual periapical em intervalos seqüenciais frente à injúria pular, TAGGER; MASSLER⁹⁸, em 1975, induziram lesões periapicais em molares de ratos, pela exposição da polpa ao meio ambiente bucal. Foram usados 30 ratos adolescentes (180 a 190 g) e dezoito ratos velhos, de um ano de idade (400 a 450g). Os quatro molares de cada rato tiveram suas polpas expostas, após anestesia geral, através de injeção intraperitoneal. A exposição do tecido pulpar foi realizada com brocas esféricas de número ½ pela face oclusal dos primeiros molares superiores e inferiores, porque o estudo piloto mostrou que o acesso pela face mesial provocou o enfraquecimento do dente e subsequente fratura de sua metade proximal, ou, quando muito pequena, não permitiu a ocorrência de necrose total da polpa e mudanças periapicais significativas. Os sacrifícios ocorreram em intervalos de tempo que variaram de dois e três dias, uma, três e quatro semanas, três e seis meses e um ano de pós-operatório. Blocos contendo os primeiros molares foram fixados em 10% de formalina e descalcificados. Seções seriadas de 8 µm dos blocos foram realizadas e depois coradas com hematoxilina-eosina (HE). Todo quinto corte recebeu coloração *Mallory*, para marcar o tecido conjuntivo, e cada décimo corte não foi corado para

estudos posteriores. Dois e três dias após a exposição pulpar ao meio oral, a polpa ainda era vital, exibindo vários graus de alterações inflamatórias, predominando o quadro de pulpíte ulcerativa. Três meses depois da exposição, a polpa estava completamente necrosada em quase todos os espécimes. Após seis meses, os achados foram similares ao período experimental anterior, assim como um ano após o procedimento, onde pouca diferença existiu em relação aos grupos anteriores. As lesões eram maduras, mas nenhum cisto periapical foi observado. Os fatores propostos para explicar o curso das alterações foram o tipo e influência dos microorganismos infectantes, susceptibilidade e potencial de defesa individual dos ratos e razões mecânicas, como impacção alimentar na cavidade.

Em um estudo de ANAN et al.¹, em 1991, 60 ratos foram anestesiados através de injeção intramuscular e foi confeccionada uma cavidade com motor de baixa rotação e broca esférica tamanho ½, expondo a polpa dos primeiros molares esquerdos à cavidade bucal. Os primeiros molares do lado direito foram controles negativos. Os animais foram sacrificados um, um e meio, dois, três, sete, dez, 14, 20 e 30 dias depois da exposição pulpar. A análise mostrou que de 36 horas a dois dias e de dez a 14 dias após o procedimento operatório os osteoclastos e suas lacunas de *Howship* já haviam aumentado em número e tamanho. De três a sete dias e de 14 a 20 dias pós-procedimento, embora os osteoclastos continuassem presentes, pré-osteoblastos foram encontrados, indicando serem estas fases reversas, com indícios de formação óssea. Após 20 a 30 dias, os osteoclastos diminuíram em número e tamanho comparando com o período de dez e 14 dias.

Uma cavidade com broca esférica tamanho ½ nos primeiros molares inferiores do lado esquerdo de ratos da raça Wistar foi realizada em um estudo de YAMASAKI et al.¹¹⁵, em 1994. A profundidade da cavidade tinha o diâmetro da

broca, sempre evitando atingir a região de furca. Os animais foram sacrificados de um a 56 dias após o procedimento operatório e realizou-se avaliação histológica dos espécimes. Os resultados indicaram que depois de um dia a necrose já estava presente na área adjacente à exposição da polpa e células inflamatórias estavam restritas à porção superior do tecido pulpar. Após três dias do procedimento operatório, o infiltrado inflamatório estava por toda a polpa e região periapical. No sétimo dia, a presença de reabsorção óssea foi evidenciada e, após vinte e um dias, abscessos apicais e infiltrado inflamatório puderam ser observados. No vigésimo oitavo dia, toda a polpa estava necrosada, sendo que a progressão da necrose pulpar se deu no sentido corono-apical. 56 dias depois, reabsorção óssea ainda estava presente.

As concentrações de interleucina-8 (IL-8) e óxido nítrico (NO) em amostras de exsudatos de lesões periapicais de 27 pacientes, colhidas durante tratamento endodôntico, foram estudadas por SHIMAUCHI et al.⁸⁵, em 2001. Os autores encontraram correlação positiva para ambos os mediadores, bem como constataram níveis mais altos de IL-8 (mas não de NO) nas amostras de pacientes com queixas álgicas, sugerindo correlação da IL-8 com os sintomas da doença periapical.

O nível de atividade de reabsorção das lesões periapicais de humanos foi muito próximo àquele detectado em lesões periapicais induzidas em ratos. A similaridade dos resultados nas duas espécies indica semelhança biológica e a possibilidade de se utilizar modelos animais para estudos de patologias periapicais (WANG; STASHENKO¹⁰⁴, 1993).

2.3 Imagem Digital e Doença Periapical

WHITE; HOLLENDER; GRATT¹¹², em 1984, compararam imagens obtidas por xerorradiografia e filmes radiográficos para o diagnóstico de lesões periapicais, correlacionando com cortes histológicos, e encontraram pouca diferença entre as técnicas radiográficas empregadas.

No ano de 1990, ORSTAVIK et al.⁶⁹ avaliaram a eficácia do Kontrom IBAS 2000®, um sistema computadorizado de análise de imagem existente no mercado. Foi feita a análise automatizada dos valores de pixels na diferenciação entre áreas saudáveis e áreas de lesão periapical crônica em radiografias de tratamentos endodônticos em humanos, sendo feita a comparação na radiografia inicial e em um intervalo de um, três, seis, 12 e 24 semanas após o tratamento endodôntico. Para tal, utilizaram digitalização de radiografias convencionais. As áreas de lesão periapical foram delimitadas e uma área de osso saudável de tamanho semelhante ao redor de cada lesão foi igualmente marcada. Os resultados foram expressos pela razão entre as médias dos valores dos pixels das duas áreas. Nos casos em que houve cicatrização da lesão, houve um aumento da razão, o que significou, segundo os autores, uma deposição de material mineral. De forma semelhante, as lesões que não tiveram melhora não mostraram mudanças nesta razão ao longo do tempo, mostrando que a avaliação do nível de cinza pode evidenciar numericamente a progressão ou regressão da doença periapical.

Em 1993, SHROUT; HALL; HILDEBOLT⁸⁶ avaliaram a diferença entre cistos e granulomas pela análise dos valores de pixels da imagem radiográfica. Radiografias de arquivo de lesões com diagnósticos histopatológicos de cistos e granulomas foram digitalizadas em um sistema de aquisição de 8 bits. O diagnóstico de cisto radicular foi dado aos espécimes que microscopicamente mostraram um limitante epitelial intraósseo da lesão associada à raiz de um dente não vital. As regiões de

interesse (ROIs) foram demarcadas nas áreas de lesão na imagem digital com o mouse incluindo a área radiolúcida mais 1 ou 2 milímetros de osso da periferia, tendo-se o cuidado para que área de dente não entrasse na ROI. Os histogramas destas áreas foram analisados. Uma região de controle na área de dentina foi demarcada, para corrigir as variações de tempo de exposição e processamento radiográfico que ocorreram devido à não padronização das radiografias. Os histogramas dos cistos dentários foram estreitos e unimodais. Os histogramas para os granulomas foram ou bimodais ou mais baixos e mais planos que aquele para os cistos. Os resultados indicaram que é possível o uso de técnicas de análise digitais para diferenciar lesões radiográficas que visualmente são indistinguíveis, como cistos e granulomas.

Em um estudo de metodologia semelhante ao de SHROUT; HALL; HILDEBOLT⁸⁶, 1993; WHITE et al.¹¹³, em 1994 não encontraram diferenciação radiográfica entre cistos e granulomas, quando realizada análise dos valores de pixels destas lesões. Um total de 55 lesões periapicais, 15 cistos e 40 granulomas, com confirmação histopatológica foram utilizados. As radiografias foram digitalizadas em 8 bits e submetidas ao algoritmo de correção de (RUTTIMANN; WEBBER; SCHMIDT⁷⁷, 1986) para minimizar as diferenças de processamento radiográfico. O histograma das áreas de lesão foi obtido e a média dos valores dos pixels foi utilizada para comparação, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os cistos e granulomas. Da mesma maneira, o valor de pixel não teve correlação com o tamanho das lesões.

KULLENDORFF; NILSSON⁵⁰, em 1996 compararam a acurácia diagnóstica da radiografia digital direta e da radiografia convencional na detecção de lesões

periapicais, concluindo serem os dois métodos similares na percepção de lesões ósseas.

A avaliação da reprodutibilidade da análise do valor de pixel em lesões periapicais em comparação a um método visual, utilizando como padrão ouro o Índice Periapical (ORSTAVIK; KEREKES; ERIKSEN⁷⁰, 1986), foi realizada em 1997, por KEROSUO; ORSTAVIK⁴⁷. Para tal, 353 radiografias de 62 pacientes foram avaliadas. Tais análises foram feitas no começo do tratamento endodôntico e em intervalos experimentais chegando até os dois anos, perfazendo um total de seis radiografias por paciente. A primeira radiografia da série foi utilizada para delimitar a lesão e uma área de osso normal ao redor da lesão, para comparação com as radiografias subseqüentes. A metodologia utilizada para avaliação dos valores de pixels foi a mesma utilizada no trabalho de ORSTAVIK et al.⁶⁹, em 1990. Para as lesões mais avançadas, a sensibilidade do método foi de 61% e a especificidade de 79%. No entanto, para as lesões menos severas, a especificidade foi menor, na ordem de 55%. O método teve um melhor resultado intra-examinador que interexaminador. Os autores concluíram que o método de análise de imagem descrito parece ser uma ferramenta apropriada na detecção de alterações ósseas em radiografias odontológicas.

SARMENTO; RUBIRA⁸³, em 1998, selecionaram radiografias periapicais, obtidas pela técnica da bisettriz, de dentes incisivos centrais e laterais, superiores e inferiores, que tiveram o diagnóstico clínico de necrose pulpar ou de pulpite irreversível e de incisivos hígidos. Foram agrupadas 112 radiografias de incisivos com diagnóstico clínico de necrose pulpar, 109 com pulpite irreversível e 68 dentes hígidos. As radiografias foram digitalizadas pelo sistema DentScan DentView[®] e a densidade óptica da região periapical foi medida. Os resultados mostraram que, em

geral, os dentes com necrose pulpar exibiram um valor de densidade óptica apical inferior àqueles com pulpite irreversível e estes, uma densidade menor que os dentes hígidos.

A variação dos valores de pixels na região periapical de primeiros molares de ratos induzidos ao desenvolvimento de doença periapical foi avaliado por SARMENTO⁸⁰, em 2000. Vinte ratos, com dois meses de vida, foram selecionados submetidos a uma cavidade na face oclusal do primeiro molar inferior esquerdo. Dez ratos foram sacrificados dois dias após a indução da doença e os outros dez, 30 dias depois. Para confirmar o estado pulpar e avaliar a reabsorção de osso periapical, foi realizada análise microscópica. Após o sacrifício, as mandíbulas dos ratos foram radiografadas no sistema Digora[®] e em filmes radiográficos convencionais, que foram posteriormente digitalizados através de escâneres. O grupo controle consistiu no primeiro molar inferior do lado direito dos mesmos animais, considerado sadio. As regiões de interesse (ROI) foram demarcadas nos ápices dos primeiros molares, sendo os valores de pixels mensurados através do programa IP Tooth[®] (LISA, CPE, UCB, Lyon, França). Os resultados evidenciaram uma menor média e maior coeficiente de variabilidade dos valores de pixels nas ROIs dos dentes do lado teste, quando comparados aos dentes controles, indicando a possibilidade de detectar alterações ósseas precoces por essa análise de pixel.

RICUCCI; MANNOCCI; FORD⁷⁵, em 2006, selecionaram 60 pacientes com lesões periapicais evidenciadas em radiografias periapicais. Tais radiografias foram digitalizadas e avaliadas na tela do computador quanto à ausência ou presença de lâmina radiopaca por dois avaliadores, objetivando relacionar o tipo de lesão com a presença ou não de lâmina radiopaca. Os cortes histológicos mostraram que, das 10 lesões com lâmina radiopaca, três tiveram o diagnóstico de cisto e sete de

granuloma ou abscesso. Das 47 lesões sem lâmina radiopaca, 40 tiveram diagnóstico de granuloma ou abscesso e sete de cisto. Concluiu-se que o diagnóstico das lesões periapicais não pôde ser baseado na presença ou ausência de lâmina radiopaca.

Em 2006, GUNDAPPA; NG; WHAITES²⁹ compararam a diferenciação entre cisto e granuloma periapical através da ultra-sonografia, radiografia digital e radiografia convencional. Quinze pacientes, entre 13 e 40 anos, com lesões periapicais associadas a dentes anteriores da maxila e da mandíbula, que necessitavam de cirurgia pararendodôntica, foram selecionados. Radiografias pré-operatórias periapicais convencionais e digitais através de um CCD foram realizadas. Os diagnósticos presuntivos e as medidas das lesões periapicais foram feitos por três profissionais especializados, sendo dois radiologistas e um endodontista. Após o exame de ultra-som pré-operatório, dois profissionais, sendo um endodontista e um ultra-sonografista, fizeram a análise das imagens quanto ao tamanho, conteúdo, suprimento vascular e diagnóstico presuntivo. A cirurgia periapical foi realizada e o material coletado foi enviado para análise histopatológica. Nas radiografias convencionais e digitais, as lesões periapicais foram observadas, mas não foi possível diferenciá-las entre cisto e granuloma. Já o ultra-som, mostrou um diagnóstico semelhante ao histológico nos 15 casos avaliados, embora o tamanho das lesões tenha sido subestimado em relação ao classificado nas radiografias convencionais e digitais. O estudo concluiu que as radiografias foram adequadas para definir a presença de lesão, mas não sua natureza, sendo o ultra-som preferível para diagnóstico do tipo de lesão.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA

FOB
USP

3

Proposição

3. Proposição

Este trabalho teve como objetivos:

- Induzir pulpite, necrose pulpar e lesão óssea periapical em primeiros molares inferiores de ratos.
- Observar microscopicamente a presença de reabsorção óssea no periápice dos dentes induzidos à doença periapical.
- Verificar as diferenças entre as médias dos valores de pixels da região periapical de dentes induzidos à doença periapical e de seus controles, no período experimental de 2, 15 e 30 dias obtidas por meio de radiografias convencionais digitalizadas e radiografias obtidas através do sistema Digora®.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA

FOB
USP

4

Material

e Métodos

4. Material e Métodos

Este estudo recebeu a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, e encontra-se protocolado sob nº 13/2005.

4.1 Grupos Experimentais

Foram usados vinte e sete ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), fêmeas adultas (90 dias de idade e peso médio entre 190-215g), fornecidos pelo Biotério Central da Faculdade de Odontologia de Bauru e divididos em três grupos, segundo a data de realização da orto-eutanásia. Nove ratos, sacrificados aos dois dias, compuseram o primeiro grupo. Outros nove, sacrificados aos 15 dias, fizeram parte do Grupo 2 e os demais, sacrificados ao final de 30 dias, pertenceram ao Grupo 3. Os animais foram mantidos durante o período experimental em boas condições de alimentação, com ração e água *ad libitum*, ciclo claro-escuro de 12 horas, temperatura e higiene (CAMPS; POMMEL; BUKIET¹¹, 2004).

4.2 Material:

1. Dopalen injetável (Cloridrato de ketamina) e Anasedan injetável (Cloridrato de xilazina) fabricados por Vetbrands do Brasil Ltda;
2. Balança Salter;
3. Caixas, água e ração para ratos;

4. Motor de alta rotação;
5. Brocas esféricas tamanho $\frac{1}{4}$;
6. Campos cirúrgicos, cabo de bisturi 3 e lâmina 15;
7. Frascos com formol a 10% tamponado em fostato de sódio monobásico (monohidratado) e fosfato de sódio dibásico (anidro);
8. Solução aquosa de EDTA pH 7,2 (solução contendo 4,13% de Titriplex III Merck® e 0,44% de hidróxido de sódio);
9. Navalhas para micrótomo;
10. Micrótomo Jung-Leica RM2045;
11. Lâminas histológicas e coloração HE;
12. Microscópio óptico binocular (Olympus CH2);
13. Filmes radiográficos tamanho 2 IP-21 Insight – Eastman Kodak;
14. Aparelho radiográfico X-707, 70KVp e 7mA (Yoshida Dental MFC Co. Ltd., Tóquio, Japão);
15. Solução reveladora e fixadora de filmes radiográficos prontas para uso (Kodak Company, Nova York, EUA);
16. Programa ImageJ® 1.29x (NIH – EUA);
17. Computador compatível com sistema Windows® (monitor de 17” tela plana);
18. Escâner a laser 12 bits Lumiscan 75 (Lumisys - Sunnyvale, EUA) – LADI – E.E.E. – São Carlos – USP;
19. Escâner óptico PowerLook II (Techville - Dallas – EUA) – LADI – E.E.E. – São Carlos – USP;
20. Escâner óptico HP Scanjet 5370c (Hewlett-Packard Company - Palo Alto – EUA) – FOB-USP ;
21. Sistema Digora® (Soredex – Tuusula – Finlândia) – FOB-USP;

22. Duas placas de fósforo azuis do sistema Digora[®], tamanho 1,6 x 35 x 45 mm;
23. Sony DXC-151A RGB Vídeo Câmera (Sony Corporation, Tokyo, Japan);
24. Software Kontron KS300[®] (KontronElectronic GMBH - Munique – Alemanha).

4.3 Indução de lesão periapical nos animais

Segundo técnica preconizada por ANAN et al.¹, em 1991, TAGGER; MASSLER⁹⁸, em 1975 e YAMASAKI et al.¹¹⁵, em 1994, os animais (Grupos I, II e III) foram submetidos à anestesia geral intramuscular, com Dopalen injetável (Cloridrato de ketamina) e Anasedan injetável (Cloridrato de xilazina), relaxante muscular e sedativo de uso animal. Após a anestesia, o procedimento operatório foi realizado, sendo confeccionada uma cavidade na face oclusal do primeiro molar inferior do lado direito. Uma broca esférica, de tamanho ¼, ou seja, 0,51mm, foi utilizada em alta rotação, sem refrigeração. A profundidade da cavidade correspondeu ao diâmetro da broca. A cavidade foi deixada aberta, em contato com o meio bucal, sendo o lado esquerdo utilizado como controle (TAGGER; MASSLER⁹⁸, 1975) (Figura 2).

Figura 2 - Primeiro molar inferior direito sendo submetido à abertura coronária.

Durante o procedimento operatório, os animais foram posicionados em uma mesa própria, que os mantinha em posição adequada e com a boca aberta (Figuras 3 e 4).

Figura 3 - Mesa operatória

Figura 4 - Rato posicionado na mesa operatória após anestesia, com o dispositivo de abertura bucal.

4.4 Obtenção das peças cirúrgicas

Os animais pertencentes aos grupos I, II e III foram submetidos à orto-eutanásia por excesso de anestésico ao término dos períodos de dois, 15 e 30 dias, respectivamente, visando observar o dente com pulpíte e em dois diferentes estágios da mortificação pulpar do mesmo. Os nove primeiros ratos (grupo I) foram sacrificados dois dias após o procedimento operatório, objetivando a análise do dente ainda com pulpíte. Os nove ratos seguintes, sacrificados 15 dias depois da abertura coronária, pertenceram ao grupo II e o grupo III foi formado por nove ratos sacrificados trinta dias após o procedimento operatório (KAKEHASHI; STANLEY; FITZGERALD⁴⁵, 1965, SARMENTO⁸⁰, 2000). As mandíbulas foram dissecadas, e as hemimandíbulas direita e esquerda de cada rato foram separadas e submetidas ao processo de fixação em formol tamponado a 10%, durante uma semana, em frascos previamente identificados (Figura 5).

Figura 5 - Hemimandíbulas depois de dissecadas.

4.5 Obtenção das radiografias

Após a fixação, as hemimandíbulas foram radiografadas, utilizando filmes radiográficos tamanho 2 (Kodak Insight), expostos segundo os parâmetros: 70kVp, 7mA, filtração total equivalente a 2,2 mm de alumínio, distância foco-filme de 30 cm, com o feixe de radiação perpendicular às peças cirúrgicas. O tempo de exposição foi definido através de ajuste realizado por teste piloto, onde uma série de radiografias das peças foi realizada nos tempos de exposição de 0,05; 0,07; 0,09; 0,1; 0,13; 0,17 e 0,2s e analisadas por dois radiologistas experientes, que desconheciam os tempos de exposição aos quais as peças haviam sido submetidas. Desta forma, as melhores imagens foram selecionadas, e o tempo de exposição de 0,13s foi estabelecido para o filme convencional. As hemimandíbulas direita e esquerda pertencentes ao mesmo

animal foram posicionadas sobre o mesmo filme, o lado teste (direito) na parte superior e o lado controle (esquerdo) na parte inferior, de forma que a face lingual das peças ficasse em contato com a superfície ativa do filme.

Um penetrômetro construído com sete degraus de alumínio foi posicionado na porção do filme próxima ao picote, acima da hemimandíbula correspondente ao lado teste. Apenas quatro degraus deste aparato foram utilizados no estudo, pois os demais degraus ficaram fora do filme radiográfico e da placa de fósforo.

Uma placa de acrílico com um tamanho de 3 x 4 x 2cm foi posicionada sobre as hemimandíbulas simulando tecido mole.

As radiografias convencionais foram reveladas, fixadas e lavadas pelo método temperatura-tempo, com soluções novas.

O mesmo procedimento radiográfico foi realizado para as duas placas de fósforo fotoestimuláveis azuis do sistema Digora[®], cujo tempo de exposição foi de 0,09s, também selecionado por teste piloto, semelhante ao feito para o filme convencional, destacando-se que o sistema foi previamente calibrado para exposição máxima de 0,2s (Figuras 6, 7, 8, 9 e 10).

Figura 6 - Filme periapical Insigth e placa azul do Digora[®].

Figura 7 - Esquema do posicionamento das hemimandíbulas sobre o filme radiográfico e sobre a placa de fósforo para obtenção das imagens radiográficas.

Figura 8 - Hemimandíbulas posicionadas sobre o filme convencional e placa de fósforo azul do Digora[®], com o simulador de tecido mole.

Figura 9 - Esquema da imagem radiográfica obtida.

Figura 10 - Imagem radiográfica digital obtida com a placa de fósforo fotoestimulável do sistema Digora[®].

As imagens obtidas sobre as placas de captura foram processadas na unidade que acompanha o sistema Digora[®] por um escaneamento a laser, sempre imediatamente após a exposição. As imagens armazenadas no software do Digora[®] for Windows[®], versão 1.50, foram em seguida armazenadas no formato TIFF para possibilitar o processamento em outros softwares. Esses procedimentos forneceram imagens de oito bits, com uma matriz de pixel 416 x 560. Cada pixel apresentava uma resolução espacial de 70 x 70µm e 6 pl/mm. O tamanho do arquivo correspondia a 227 kbytes para cada imagem.

4.6 Preparo e análise das imagens

As radiografias convencionais foram montadas em cartelas, identificadas e digitalizadas em três equipamentos diferentes. O primeiro foi o escâner HP Scanjet 5370c 300dpi; seguido pelo escâner a laser (Lumiscan) que apresenta uma resolução espacial de 1024 pixels/linha, uma resolução de contraste de 12 bits e uma sensibilidade na faixa de 0 a 3.6 e finalmente o escâner óptico (PowerLook II) com resolução espacial de 600dpi. As imagens das cartelas das radiografias digitalizadas pelos três escâneres foram abertas no programa ImageJ[®], convertidas para 8 bits, e cada radiografia foi recortada e transformada em um arquivo separado. Obtivemos assim, oitenta e uma novas imagens que foram armazenadas no formato TIFF.

As imagens foram abertas em um computador que opera com plataforma Windows[®], com monitor de 17 polegadas e tela plana. A sala foi escurecida durante a análise das radiografias, para melhor visualização. Em cada uma das imagens, uma área correspondente à região de interesse (ROI) foi aberta no formato oval e salva para que seu tamanho e formato pudessem ser mantidos em todas as medições. Uma outra área foi igualmente criada e salva, objetivando medir as diferenças de histograma entre as tomadas radiográficas através dos quatro degraus do penetrômetro.

Após a abertura da imagem pelo programa ImageJ[®], realizou-se a inversão da escala de cinza da mesma e, para melhor visualização da área examinada, a imagem foi ampliada oito vezes na tela. A medida da ROI foi feita na região periapical do primeiro molar inferior, mais próxima da raiz mesial, sem tocá-la. Apenas osso periapical deveria estar contido na área.

Utilizando os recursos do programa ImageJ[®], a média dos valores de pixels da área e seu desvio padrão foram anotados, segundo dados fornecidos pelo histograma. Tal medida foi realizada tanto na peça cirúrgica localizada na parte superior da imagem (teste), quanto na peça localizada na parte inferior (controle), em cada uma das 81 imagens. O examinador estava livre para realizar alterações no brilho e contraste da imagem visualizada.

Em cada imagem, a área de controle foi posicionada na faixa mais central de cada um dos quatro degraus do penetrômetro, nas imagens sem aumento, e um novo histograma foi solicitado. O histograma do software ImageJ[®] forneceu os dados sobre a média dos valores dos pixels numa escala de 8 bits, atribuindo o valor zero para o nível mais escuro de cinza (preto) e duzentos e cinqüenta e cinco, para o mais claro (branco). Isso não ocorreu no Lumiscan, pois o mesmo apresenta a paleta de escala de cinza permanente interna invertida, onde o zero corresponde ao branco e o 255 ao preto. Assim, após a inversão da imagem e seleção da área a ser medida, os valores encontrados foram convertidos para o padrão dos demais equipamentos, permitindo, assim, uma melhor comparação entre os aparelhos.

As medidas das regiões de interesse (ROIs) foram obtidas pelo mesmo examinador, e obedecendo a mesma técnica uma segunda vez, após passados trinta dias, para a avaliação da concordância intra-examinador e obtenção da reprodutibilidade do método de medida de valores de pixels por meio do histograma. Em caso de diferença de valores, uma média das tomadas foi realizada.

As cinqüenta e quatro radiografias obtidas através das duas placas fotoestimuláveis azuis do sistema digital Digora[®] foram abertas, e as medidas dos valores de pixels realizaram-se da mesma maneira que para as radiografias convencionais digitalizadas. Uma área de 252 pixels foi salva para medir as ROIs e

de 375 pixels para avaliar as diferenças de histograma no penetrômetro. Também foi feita uma segunda medida de todas as ROIs para concordância intra-examinador. Em seguida, foi feita uma média das medidas nos casos em que houve diferença entre elas (Figuras 11 e 12).

Figura 11 - Mensuração da média dos valores de pixels da ROI pelo programa ImageJ®.

Figura 12 - Mensuração da média dos valores de pixels da região de controle no segundo degrau do penetrômetro pelo programa ImageJ®.

4.7 Análise histológica dos tecidos dentários e parodontários do primeiro molar inferior

As vinte e sete mandíbulas foram separadas em hemimandíbulas, radiografadas, fixadas em formol a 10% em tampão fosfato, desmineralizadas em EDTA pH 7,2 e processadas histologicamente para inclusão em Histoiresina (resina sintética + parafina – Merck®). Cortes semi-seriados de 5µm de espessura foram obtidos em um micrótomo Jung RM2045 (Leica®) no sentido longitudinal da raiz e corados pela Hematoxilina-Eosina (Luna, 1945).

Para análise morfológica foram selecionados 5 cortes/animal que apresentavam a porção central da câmara pulpar coronal e radicular do primeiro

molar inferior estudado, perfazendo um total de 45 cortes para cada grupo, totalizado 270 cortes. A identificação das lâminas foi vedada para que o examinador não identificasse o grupo experimental analisado. Embora as características do lado controle fossem óbvias, a identificação aleatória das lâminas fez com que os lados da doença periapical fossem mais dificilmente identificados. A análise foi realizada por um único observador em um microscópio binocular Olympus CH2 (Carl Zeiss), em aumentos de quatro, dez e quarenta vezes, o que totalizou em uma ampliação de cem, duzentas e quatrocentas vezes.

4.8 Análise morfométrica da região apical da raiz mesial do primeiro molar inferior

A partir dos 5 cortes/animal selecionados para análise histológica foram obtidos o percentual de tecido ósseo, região apical da raiz, tecido mole (tecido conjuntivo e infiltrado inflamatório quando presente), medula óssea e nervo alveolar inferior em um sistema de análise de imagem digitalizada, composto por um microscópio Zeiss Axioskop II com objetiva de imersão 100X, câmera CCD-IRIS RGB – Sony e software Kontron KS300 (KontronElectronic GMBM) instalado em um computador IBM. Para tanto, foi capturada de cada corte histológico, com a objetiva de 10 vezes, uma imagem que continha a porção apical da raiz mesial perpendicular ao nervo alveolar e posicionada centralmente (conforme a Figura 13). A área estudada foi estabelecida em números de pixels e para cada imagem capturada foi determinada a área total (At) que era fixa (307200 pixels) e a área ocupada por cada estrutura (Ae). O percentual de cada estrutura (P) foi calculado pela relação $P = (Ae/At).100$

Figura 13- Programa KS300 utilizado para determinação do percentual de tecido ósseo. Observar a porção apical da raiz mesial (R) do primeiro molar posicionada perpendicularmente ao nervo alveolar (seta preta), o tecido ósseo (O) circundado em verde e sua área total obtida no quadro a esquerda.

Tabela 1 - Parâmetros microscópicos analisados nos lados teste e controle para classificação da condição dentária e paradentária.

Parâmetros Histológicos Avaliados	Condição Histopatológica
DENTÁRIOS	
Condição da polpa coronária (Fig. 14)	Sadia (Fig. 14a)/Necrosada (Fig.14b)
Condição da polpa radicular (Fig. 14)	Sadia (Fig. 14 c)/ Inflamada(Fig. 14 d) /Necrosada(Fig. 14 e)
Áreas de reabsorção radicular (Fig. 15)	Ausente (Fig. 15a)/Leve (Fig. 15b)/Moderada (Fig. 15c)/Intensa (Fig. 15d)
PERIODONTAIS/PERIAPICAIS	
Condição da região de furca (Fig. 16)	Sadia (Fig. 16a)/ Necrosada (Fig. 16b)/ Inflamada (Fig. 16c) /Recessão gengival (Fig. 16d)
Infiltrado inflamatório no ápice da raiz	Ausente (Fig. 15a) /Leve (Fig. 15b)/Moderado (Fig. 15c)/Intenso (Fig. 15d)
Infiltrado inflamatório no periodonto de sustentação (Fig.17)	Ausente (Fig.17a)/Leve (Fig.17b)/Moderado (Fig.17c)/Intenso (Fig.17d)
Qualidade do infiltrado inflamatório	Ausente/PMNs (neutrófilos)/Monomorfonuclear (predominantemente Macrófagos e raramente linfócitos e plasmócitos)
Áreas de reabsorção óssea (Fig. 18)	Ausente (Fig. 18a)/Leve (Fig. 18b)/Moderada (Fig. 18c)/Intensa (Fig. 18d)
Presença de osteoclastos (Fig. 19)	Ausente (Fig. 19a)/Leve (Fig. 19b)/Moderado (Fig. 19c)/Intenso (Fig. 19d)

Figura 14- Parâmetros microscópicos para a condição pulpar: a) polpa coronária (PC) **sadia** e a dentina (D) circundada pela camada odontoblástica (seta); b) polpa coronária **necrosada** exibindo tecido necrosado (TN) de característica amorfa, restos alimentares (asterisco) e ausência da camada odontoblástica na superfície da dentina (seta); c) polpa radicular (PR) sadia e dentina (D) envolta pela camada odontoblástica; d) polpa radicular inflamada com inúmeros PMNs (círculo) dispersos na matriz extracelular e a ausência da camada

odontoblástica (seta) na superfície da dentina (D); e) polpa radicular necrosada (TN) com ausência da camada odontoblástica (seta) na superfície da dentina (D). HE.

Figura 15.- Parâmetros microscópicos para as áreas de reabsorção radicular e infiltrado inflamatório no ápice da raiz: a) **ausente**, sem sinais de reabsorção radicular e de processo inflamatório; b) **leve**, pequenas áreas de reabsorção (seta) na superfície do cimento e presença de pequenas áreas de infiltrado inflamatório (asterisco) no ligamento periodontal; c) **moderado**, pequenas áreas de abscesso (asterisco) e extensas áreas de processo inflamatório associado a reabsorção do cimento e mais raramente da dentina (seta); d) **Intenso**, extensas áreas de abscesso (asterisco) e de reabsorção tanto do cimento quanto da dentina (seta), expondo o canal radicular (CR). HE.

Figura 16.- Parâmetros microscópicos para a região de furca: a) **sadia**, com dentina (D), cemento (seta), osso alveolar (O), e fibras do ligamento periodontal (LP) com características normais; b) **necrosada**, exibindo necrose tecidual (TN), ausência de osteoblastos e de osteócitos no osso alveolar (O), cemento (seta) com superfície irregular e sem células; c) **inflamada**, presença de reabsorção do cemento associado ao processo inflamatório (seta); d) **recessão gengival** (seta) expondo a região de furca com alguns fragmentos ósseos (asteriscos) associados a células inflamatórias (seta azul) . HE.

Figura 17-Parâmetros microscópicos para o infiltrado inflamatório no periodonto de sustentação: a) **ausente**, cimento (C), ligamento periodontal (LP) e osso alveolar (O) íntegros, sem sinais de processo inflamatório; b) **leve**, presença de inúmeras células inflamatórias (seta) associadas a áreas de desorganização do tecido conjuntivo; c) **moderado**, aglomerado de células inflamatórias (seta) associado a áreas de degradação do tecido conjuntivo e reabsorção dos tecidos mineralizados; d) **Intenso**, grande área de abscesso (seta). HE.

Figura 18-Parâmetros microscópicos para reabsorção óssea: a) **ausente**, sem sinais de reabsorção óssea tanto na porção coronal, mantendo a distância vertical (corono-apical/linha tracejada), quanto na lateral (seta preta), mantendo o espaço do ligamento periodontal; b) **leve**, pequena reabsorção óssea tanto na porção corono-apical quanto lateral, diminuindo discretamente a distância vertical (linha tracejada) e exibindo irregularidade no contorno da superfície do osso alveolar (setas); c) **moderada**, aumento da reabsorção na porção corono-apical e lateral, reduzindo a distância corono-apical (linha tracejada) ao terço médio da raiz com substituição de grande parte do tecido ósseo alveolar lateral (setas) por tecido conjuntivo e processo inflamatório; d) **intenso**, reabsorção do tecido ósseo até o nível da porção apical da raiz (linha tracejada) e recessão gengival (seta azul) com exposição da região de furca e de fragmento ósseo (asterisco) . HE.

Figura 19-Parâmetros microscópicos para a presença de osteoclastos: a) **ausente**, b) **leve**, presença de alguns osteoclastos (seta) na superfície do osso alveolar (O); c) **moderada**, com alguns osteoclastos (setas) promovendo reabsorção óssea a distância; e d) **intensa**, grande número de osteoclastos (setas) ao longo da superfície do osso alveolar e no seu interior. C = cimento, O = osso alveolar. HE.

4.9 Análise estatística

As médias dos valores de pixels dos lados teste e controle de cada animal foram submetidas ao teste T de Student (pareado), tanto nas imagens digitais diretas quanto nas indiretas. A ANOVA a um critério foi utilizada para avaliar as diferenças entre as médias dos valores dos pixels das áreas de doença periapical e das áreas controle entre os grupos, sendo o tempo o critério utilizado. O teste de Tukey foi empregado para detecção do lado (teste/controlado) onde tais diferenças foram estatisticamente significativas. O número de pixels correspondente à área de tecido ósseo periapical, tecido mole, raiz, medula óssea e nervo alveolar inferior foram submetidos ao teste ANOVA a dois critérios comparando os lados teste e controle e os períodos experimentais de 2, 15 e 30 dias.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA

FOB
USP

S

Resultados

5. Resultados

Inicialmente, as médias dos valores de pixels dos quatro degraus do penetrômetro de todas as imagens estudadas obtidas a partir de um mesmo método de aquisição de imagem foram analisadas quanto à variação dos valores das médias entre os grupos pelo teste ANOVA um critério e Tukey. Os resultados mostraram diferença estatisticamente significativa entre os diferentes períodos experimentais para o primeiro degrau do penetrômetro nas imagens obtidas com as duas placas do Digora[®], com $p=0,039$ para a placa 1 e $p=0,010$ para a placa 2, não existindo diferença para os demais degraus. Nos escâneres, essa diferença foi estatisticamente significativa para todos os degraus do penetrômetro com $p<0,01$ (Anexo 02). As ROIs foram analisadas conforme descrito na metodologia, e 135 imagens foram obtidas para análise, sendo, 27 imagens de uma das placas azuis do Digora[®] denominada placa 1, 27 da segunda placa azul, denominada placa 2, 27 do escâner a laser, Lumiscan 75, 27 do escâner óptico PowerLook II e, finalmente, 27 do escâner óptico HP Scanjet 5370c. A região de interesse (ROI) definida foi utilizada na mensuração da média dos valores de pixels dos lados teste e controle da imagem de cada rato.

Na análise feita no programa ImageJ[®], as imagens tiveram seus tons de cinza invertidos por uma ferramenta do programa, para melhor visualização da lesão. Logo, as regiões mais radiolúcidas apresentavam-se mais claras na imagem, com um maior valor de pixel. O escâner a laser possui sua paleta de escala de cinza permanente invertida (o 0 significa o branco e o 255, o preto), portanto, convertemos os valores obtidos com esse escâner para o padrão dos demais equipamentos, para

que sua escala se mostrasse equivalente, com o 0 (zero) sendo o preto e o 255, o branco.

5.1 Análise dos valores de pixels nas radiografias digitais diretas

A análise mostrou que as médias dos valores de pixels de cada grupo aumentaram no lado teste em relação ao lado controle, indicando perda óssea, nos três períodos experimentais, de forma semelhante para as duas placas do Digora[®]. A comparação das médias dos valores de pixels entre os lados teste e controle foi feita para os três grupos de ratos pelo teste T de Student (pareado), e em todos eles obtivemos $P < 0,05$, sendo estatisticamente significativo. Nas figuras 20, 21 e 22 abaixo, observamos o comportamento das duas placas nos três períodos experimentais.

Figura 20 - Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para as placas de fósforo 1 e 2 do sistema Digora[®], nos ratos do grupo I (dois dias).

Figura 21 - Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para as placas de fósforo 1 e 2 do sistema Digora[®], nos ratos do grupo II (15 dias).

Figura 22 – Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para as placas de fósforo 1 e 2 do sistema Digora[®], nos ratos do grupo III (30 dias).

A análise da influência da variável tempo na doença periapical foi feita pelo teste ANOVA a um critério e teste de Tukey. A ANOVA para o sistema Digora® não mostrou variação estatisticamente significativa para nenhum dos intervalos de tempo na placa 1 (lado controle $p = 0,199$ e lado teste $p = 0,085$), assim como para o lado controle da placa 2 ($p = 0,057$). Essa variação só se mostrou significativa na placa 2 ($p = 0,008$) entre os grupos teste de dois e 30 dias (Tabela 2).

Tabela 2 – Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias obtidas com a placa 2 do Digora®: Placa 2 - lado experimental

Comparação	P	Interpretação
Grupo 1 x Grupo 2	0,122478	Não significativa
Grupo 1 x Grupo 3	0,005965	Significativa
Grupo 2 x Grupo 3	0,362232	Não significativa

5.2 Análise dos valores de pixels nas radiografias digitais indiretas

Os mesmos testes estatísticos foram aplicados para as imagens digitalizadas indiretamente pelos escâneres Lumiscan 75, PowerLook II e HP Scanjet 5370c. As médias dos valores de pixels das regiões de interesse (ROIs) foram obtidas da mesma forma que para as radiografias fornecidas pelo Digora® (Figuras 23, 24 e 25).

Figura 23 - Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para os três escâneres utilizados, nos ratos do grupo I (dois dias).

Figura 24 - Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para os três escâneres utilizados, nos ratos do grupo II (quinze dias).

Figura 25 - Gráfico das médias dos valores de pixels dos lados teste e controle para os três escâneres utilizados, nos ratos do grupo III (trinta dias).

O teste T pareado mostrou diferença estatisticamente significativa entre os lados teste e controle para as radiografias digitalizadas nos períodos de 15 e 30 dias, com um aumento da média dos valores de pixels. Essa diferença, embora presente, não foi significativa no período experimental de dois dias para os três escâneres estudados.

Da mesma forma que para as imagens obtidas pelo sistema Digora®, a análise da influência da variável tempo no lado teste e no lado controle foi feita através do teste ANOVA a um critério e Tukey (Tabelas 3 a 8).

Tabela 3 - Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o **escâner HP Scanjet 5370c no lado teste**.

Comparação	P	Interpretação
Grupo 1 x Grupo 2	0,000175	Significativa
Grupo 1 x Grupo 3	0,803884	Não significativa
Grupo 2 x Grupo 3	0,000136	Significativa

Tabela 4 - Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o **escâner HP Scanjet 5370c no lado controle**.

Comparação	P	Interpretação
Grupo 1 x Grupo 2	0,096289	Não significativa
Grupo 1 x Grupo 3	0,000557	Significativa
Grupo 2 x Grupo 3	0,00013	Significativa

Tabela 5 - Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o **escâner óptico PowerLook II no lado teste**.

Comparação	P	Interpretação
Grupo 1 x Grupo 2	0,103389	Não significativa
Grupo 1 x Grupo 3	0,065715	Não significativa
Grupo 2 x Grupo 3	0,00053	Significativa

Tabela 6 - Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o **escâner óptico PowerLook II no lado controle**.

Comparação	P	Interpretação
Grupo 1 x Grupo 2	0,448417	Não significativa
Grupo 1 x Grupo 3	0,000306	Significativa
Grupo 2 x Grupo 3	0,000135	Significativa

Tabela 7 - Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o **escâner a laser - Lumiscan 75 no lado teste**.

Comparação	P	Interpretação
Grupo 1 x Grupo 2	0,003327	Significativa
Grupo 1 x Grupo 3	0,267222	Não significativa
Grupo 2 x Grupo 3	0,000184	Significativa

Tabela 8 - Teste de Tukey para a variável tempo: significância estatística entre as médias dos valores de pixels dos diferentes intervalos de tempo (grupos I, II e III), para medidas obtidas nas áreas de doença periapical em radiografias digitalizadas com o **escâner a laser - Lumiscan 75 no lado controle**.

Comparação	P	Interpretação
Grupo 1 x Grupo 2	0,404338	Não significativa
Grupo 1 x Grupo 3	0,000206	Significativa
Grupo 2 x Grupo 3	0,000131	Significativa

5.3 Análise microscópica

A análise foi feita por um único observador, por microscopia de luz, em aumentos de quatro, dez e quarenta vezes, o que totalizou em uma ampliação de cem, duzentas e quatrocentas vezes. A identificação das lâminas foi vedada para

que o examinador não identificasse o grupo experimental analisado. Embora as características do lado controle fossem óbvias, a identificação aleatória das lâminas fez com que os lados da doença periapical fossem mais dificilmente identificados.

5.4. Análise histológica dos tecidos dentários e parodontários do primeiro molar inferior

5.4.1 Grupo controle

O quadro histomorfológico da estrutura e da organização dos tecidos dentários e periodontais/periapicais do primeiro molar inferior não apresentou diferença entre os períodos sendo retratados conjuntamente (Figuras 26, 27, 28 e 29). Em relação à estrutura dentária, todos os dentes apresentaram dentina intacta sem sinais de cavitação e com superfície interna revestida por uma monocamada de células odontoblásticas justapostas. O tecido pulpar se mostrou sadio e compatível com a idade do animal, composto por tecido conjuntivo frouxo, ricamente innervado e vascularizado e sem sinais de processo inflamatório. Com relação aos tecidos periodontais/periapicais, toda a superfície externa da dentina radicular se apresentou recoberta pelo cimento, com superfície uniforme e inserção de fibras do ligamento periodontal, unindo o dente ao osso alveolar. O osso alveolar também apresentou superfície lisa e arredondada com inserção das fibras do ligamento periodontal. Associado ao osso alveolar, o processo alveolar mostrou um denso arranjo homogêneo de trabéculas, com grandes espaços medulares e raríssimos osteoclastos. O espaço entre o osso e o cimento mostrou-se constante em toda superfície periapical.

Figura 26.- Corte longitudinal do primeiro molar inferior do lado **controle - dois dias**: a) visão panorâmica mostrando a integridade das estruturas dentárias e paradentárias; b) detalhe da figura anterior mostrando na região de furca, o ligamento periodontal (asterisco) formado por densas fibras colágenas inseridas ao cimento (seta preta) e ao osso alveolar (O); c) região média-apical da raiz mesial mostrando o canal radicular com tecido pulpar (P) sadio e a dentina (D) envolta internamente pela camada odontoblástica e externamente pelo cimento (C). Observar, o osso alveolar (O) de superfície regular e levemente ondulada e o ligamento periodontal (asterisco), fazendo uma ponte entre o cimento (C) e o osso alveolar (O); d) detalhe da região apical exibindo a polpa dentária (P) sadia em comunicação com o tecido conjuntivo do periápice e o osso alveolar (O) sem sinais de reabsorção ou de processo inflamatório. O espaço entre o osso (O) e o cimento (C) mostra-se constante em toda região periapical. NA = nervo alveolar. HE.

Figura 27 – Corte longitudinal do primeiro molar inferior do lado **controle - dois dias**: a) detalhe da região apical mostrando o cimento (C) e a dentina (D) sem sinais de reabsorção e a superfície do osso alveolar (setas) lisa com inserção de fibras; b) detalhe da região de furca, mostrando o ligamento periodontal (asterisco) formado por densas fibras colágenas inseridas ao cimento (C) e ao osso alveolar (O); c-d) detalhe do periodonto de sustentação na região apical, lado distal (fig. c) e lado proximal (Fig. d), da raiz mesial, mostrando a integridade do cimento (C) e do osso alveolar (O) e as densas fibras de Sharpey (setas) inseridas a essa estrutura. M = medula óssea. V = vaso. HE.

Figura 28.- Corte longitudinal do primeiro molar inferior do lado **controle** - **15 dias**: a) visão panorâmica mostrando a integridade das estruturas dentárias e paradentárias; b) detalhe da figura anterior mostrando, na região de furca, o ligamento periodontal (asterisco), cimento (seta preta), dentina (D) e osso alveolar (O); c) região média-apical da raiz mesial mostrando o canal radicular com tecido pulpar (P) sadio e a dentina (D) envolta internamente pela camada odontoblástica e externamente pelo cimento (C). Observar, o osso alveolar (O) de superfície regular e levemente ondulada e o ligamento periodontal (asterisco), fazendo uma ponte entre o cimento (C) e o osso alveolar (O); d) detalhe da região apical exibindo a polpa dentária (P) sadio, o osso alveolar (O) sem sinais de reabsorção e o espaço entre o osso e o cimento constante em toda superfície periapical. NA = nervo alveolar. HE.

Figura 29.- Corte longitudinal do primeiro molar inferior do lado **controle** - **30 dias**: a) visão panorâmica mostrando a integridade das estruturas dentárias e paradentárias; b) detalhe da figura anterior mostrando, na região de furca, o ligamento periodontal (asterisco), cimento (seta preta), dentina (D) e osso alveolar(O); c) região média-apical da raiz mesial mostrando o canal radicular com tecido pulpar (P) sadio e a dentina (D) envolta internamente pela camada odontoblástica e externamente pelo cimento (C). Observar, o osso alveolar (O) de superfície regular e levemente ondulada e o ligamento periodontal (asterisco), fazendo uma ponte entre o cimento (C) e o osso alveolar (O); d) detalhe da região apical exibindo a polpa dentária (P), o osso alveolar (O) sem sinais de reabsorção e o espaço entre o osso e o cimento constante em toda superfície periapical. NA = nervo alveolar. HE

5.4.2 Grupo teste - dois dias

Os dentes submetidos à abertura coronária, pertencentes ao grupo de sacrifício de dois dias (Figuras 30 e 31), mostraram, em todos os casos, extensa abertura coronária, com preenchimento da cavidade pulpar coronária até o início do terço cervical superior por restos alimentares, fragmentos de dentina e tecido necrosado. Uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso isolava o restante da polpa radicular que apresentou intenso processo inflamatório com a presença de células inflamatórias do tipo monomorfonuclear e polimorfonuclear, além de hiperemia vascular e intenso exsudato inflamatório. O processo inflamatório diminuiu em direção ao ápice radicular. Circundando toda a raiz, o cemento se mostrava íntegro, sem sinais de reabsorção e com inserção de fibras do ligamento periodontal, exceto na região de furca que apresentava necrose do ligamento periodontal. Na maioria dos casos, na região de furca, o osso alveolar não apresentava osteoblastos na sua superfície e as lacunas osteocíticas estavam vazias, indicando que o tecido ósseo estava desvitalizado. Apenas três casos exibiram abscessos na região de furca com intenso infiltrado inflamatório e pequenas áreas de reabsorção óssea. Na região apical, algumas células inflamatórias se mostravam presentes no ligamento periodontal e o osso alveolar apresentava inúmeras áreas de reabsorção, aumentando o espaço do ligamento periodontal. Na região distal da porção coronal e média da raiz mesial, o ligamento periodontal mostrava-se íntegro e sem sinais de processo inflamatório. Já na porção proximal, os espaços medulares do processo alveolar se mostravam maiores, decorrente da reabsorção óssea, com substituição do tecido medular por tecido conjuntivo contendo células inflamatórias tipo PMNs e monomorfonucleares.

Figura 30.- Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido a **abertura coronária - dois dias**: a) na visão panorâmica mostrando as estruturas dentárias e paradentárias, observar a abertura coronária (seta verde) e o preenchimento da cavidade pulpar coronária por restos alimentares, fragmentos de dentina e tecido necrosado; b) detalhe da figura anterior mostrando, na região de furca, a necrose do ligamento periodontal (asterisco) e a superfície do osso alveolar (O) sem recobrimento por osteoblastos; c) região cervical-média da raiz mesial, mostrando o canal radicular no terço cervical superior vazio, circundado por uma cápsula de tecido fibroso (seta) que separa da polpa inflamada (P). Observar o ligamento periodontal (asterisco) ainda com vitalidade; d) detalhe da região apical exibindo a polpa dentária (P) aparentemente sadia, o osso alveolar (O) com sinais de reabsorção da sua superfície, alterando o espaço entre o osso e o cimento. NA = nervo alveolar. HE.

Figura 31.- Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido a **abertura coronária - dois dias**: a) região apical mostrando tecido conjuntivo (TC) do periápice sadio e reabsorção do osso alveolar (setas); b) região de furca, exibindo necrose (asterisco) do ligamento periodontal, ausência de osteoblastos na superfície do osso alveolar (O) e lacunas osteocíticas vazias (cabeça de setas); c e d) detalhe do periodonto de sustentação na região apical, lado distal (Fig. c) e lado proximal (Fig. d) da raiz mesial, exibindo reabsorção do osso alveolar (O) pelos osteoclastos (setas). HE.

5.4.3 Grupo teste – 15 dias

Os dentes submetidos à abertura coronária, pertencentes ao grupo de sacrifício de 15 dias (Figuras 32 e 33), mostraram, em todos os casos, extensa abertura coronária, com preenchimento da cavidade pulpar coronária por restos alimentares, fragmentos de dentina e tecido necrosado e da cavidade pulpar radicular por tecido necrosado, exceto na região do periápice que apresentou abscesso com inúmeros PMNs. A região proximal da porção media e apical da raiz exibiu extensas áreas de reabsorção radicular associada a focos de infiltrado inflamatório rico em PMNs. A região de furca, apresentou intensa reabsorção óssea e substituição tanto do tecido ósseo como do ligamento periodontal por tecido conjuntivo rico em células inflamatórias tipo PMNs, macrófagos e células epiteliais, indicando recessão do tecido gengival.

Na região distal da porção coronal e média da raiz mesial, o periodonto de sustentação mostrava-se íntegro, com raríssimos osteoblastos na superfície do osso alveolar e algumas células inflamatórias PMNs difusas no ligamento periodontal. Já na porção proximal, grande parte do tecido ósseo se mostrou substituído por tecido conjuntivo, contendo inúmeros PMNs e macrófagos difusos, restando apenas algumas trabéculas ósseas que apresentavam áreas de reabsorção.

Figura 32.- Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido a **abertura coronária 15 dias**: a) na visão panorâmica mostrando as estruturas dentárias e paradentárias, observar a abertura coronária (seta verde) e o preenchimento da cavidade pulpar coronária por restos alimentares, fragmentos de dentina e tecido necrosado, e da cavidade pulpar radicular por tecido necrosado; b) detalhe da região de furca mostrando preenchimento por tecido conjuntivo (asterisco) contendo fragmentos ósseos em reabsorção (seta) e mais coronalmente, pequena região ocupada por tecido epitelial (seta vazada); c) região cervical-média da raiz mesial, mostrando grandes áreas de reabsorção dentária (D), associadas à extenso processo inflamatório (seta azul) e intensa reabsorção do tecido ósseo (O) alveolar por osteoclastos (setas) com substituição por tecido conjuntivo (asterisco). Observar a polpa (P) necrosada; d) detalhe da região apical exibindo a polpa dentária (P) inflamada e reabsorção do osso (O) alveolar, aumentando o espaço entre o osso (O) e o cimento (C) ocupado por tecido conjuntivo (asterisco). HE.

Figura 33.- Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido à **abertura coronária - 15 dias**: a) detalhe da região distal da porção apical da raiz mesial, mostrando cimento (C) e ligamento periodontal (asterisco) íntegros com reabsorção do osso (O) alveolar por osteoclastos (seta); b) região de furca preenchida por tecido conjuntivo (asterisco) contendo células inflamatórias (seta preta) e pequenas áreas ocupadas por tecido epitelial (seta vermelha); c) região proximal da porção media da raiz mesial mostrando polpa (P) necrosada e extensas áreas de reabsorção (seta preta) da dentina (D) associadas ao processo inflamatório (seta azul) rico em PMNs; d) detalhe da reabsorção do tecido ósseo (O) por osteoclastos (setas), envolvidos por tecido conjuntivo (asterisco). HE.

5.4.4 Grupo teste - 30 dias

Os dentes submetidos à abertura coronária, pertencentes ao grupo de sacrifício de 30 dias (Figuras 34 e 35), mostraram, em todos os casos, extensa abertura coronária, com preenchimento da cavidade pulpar coronária e radicular por restos alimentares, fragmentos de dentina e tecido necrosado. A região proximal da porção apical da raiz mesial exibiu extensas áreas de reabsorção radicular associadas a focos de infiltrado inflamatório rico em PMNs. Na porção média, a superfície da dentina reabsorvida apresentou formação de um tecido cementóide com inserção de densas fibras colágenas, semelhantes as fibras de Sharpey do ligamento periodontal. Em quase toda extensão da região inter-radicular, o tecido ósseo estava ausente, restando apenas algumas trabéculas ósseas próximas ao osso basal, circundadas por tecido conjuntivo fibroso ricamente celularizado e vascularizado, com raras células inflamatórias difusas no tecido. Os osteoclastos se mostravam ausentes e o tecido ósseo remanescente não apresentava sinais de reabsorção. Sua superfície exibiu sinais de formação óssea com inúmeros osteoblastos de citoplasma abundante circundando a matriz recentemente sintetizada, indicando estar ocorrendo uma tentativa do organismo de repor os tecidos perdidos. Com a perda do tecido ósseo, a região de furca apresentou intensa recessão gengival, promovendo exposição da superfície dentária e fragmentos de tecido ósseo desvitalizado.

Figura 34- Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido a **abertura coronária - 30 dias**: a) na visão panorâmica mostrando as estruturas dentárias e paradentárias, observar a abertura coronária (seta verde) e o preenchimento da cavidade pulpar coronária e radicular por restos alimentares, fragmentos de dentina e tecido necrosado; b) detalhe da região de furca mostrando recessão gengival (seta vermelha) e a exposição de tecido ósseo (O) desvitalizado; c) região cervical-média da raiz mesial, mostrando grandes áreas de reabsorção dentária (setas pretas), associado ao tecido conjuntivo (asterisco). Observar recessão gengival com o tecido epitelial (seta vermelha) circundando o tecido ósseo (O) desvitalizado; d) detalhe da porção apical exibindo a polpa dentária necrosada, dentina (D) e cemento (C) íntegros na região distal e abscesso periapical (seta azul) envolto por tecido conjuntivo (asterisco) com reabsorção dentária (setas pretas) na região proximal. O tecido ósseo (O) não exibe sinais de reabsorção. HE.

Figura 35.- Corte longitudinal do primeiro molar inferior direito submetido à **abertura coronária - 30 dias**: a) detalhe da região proximal da porção media da raiz mesial, com intensa reabsorção dentinária paralisada com formação de tecido cementóide (seta) com inserção de densas fibras colágenas; b) região de furca mostrando intensa recessão gengival (seta vermelha) com exposição de tecido ósseo (O) sem vitalidade; c) região proximal da porção apical da raiz mesial mostrando abscesso (seta azul) rico em PMNs na superfície reabsorvida (seta preta) do cimento (C); d) região inter-radicular apresentando processo alveolar (O) sem sinais de reabsorção e com superfícies recobertas por osteoblastos (seta) com citoplasma volumoso e os espaços preenchidos por tecido conjuntivo (asterisco). HE.

Tabela 9: Quadro comparativo dos parâmetros histológicos avaliados quanto a condição dentária e periodontal/periapical nos diferentes grupos analisados.

Parâmetros Histológicos Avaliados	Grupos controle dois, 15 e 30 dias	Grupo Teste dois dias	Grupo Teste 15 dias	Grupo Teste 30 dias
DENTÁRIOS				
Condição da polpa coronária	Sadia	Necrosada	Necrosada	Necrosada
Condição da polpa radicular	Sadia	Inflamada	Necrosada/inflamada	Necrosada
Áreas de reabsorção radicular	Ausente	Leve	Moderado	Intenso
PERIODONTAIS/PERIAPICAIS				
Condição da região de furca	Sadia	Necrosada/inflamada	Inflamada	Recessão gengival
Infiltrado inflamatório no ápice da raiz	Ausente	Leve	Moderado	Intenso
Infiltrado inflamatório no periodonto de sustentação	Ausente	Leve	Moderado	Intenso
Qualidade do infiltrado inflamatório	Ausente	PMNs	PMNs/monomorfo-nucleares	PMNs/monomorfo-nucleares
Áreas de reabsorção óssea	Ausente	Moderada	Intensa	Intensa
Presença de osteoclastos	Ausente	Moderado	Intenso	Leve

5.5 Análise morfométrica da região apical da raiz mesial do primeiro molar inferior

O número total de pixels obtidos para a região apical da raiz mesial, tecido mole (tecido conjuntivo e/ou infiltrado inflamatório), tecido ósseo, medula óssea e nervo alveolar na região apical da raiz mesial do primeiro molar inferior dos grupos controle e teste nos diversos períodos experimentais encontram-se apresentados na Tabela 10, e o percentual para cada estrutura na Figura 36. Tais valores foram submetidos ao teste ANOVA a dois critérios e Tukey mostrando haver diferença estatisticamente significativa entre os lados teste e controle e entre os períodos experimentais para o lado teste na região de raiz, tecido ósseo, tecido mole e medula (Tabelas 11 e 12).

Tabela 10.- Média e desvio padrão do número total de pixels de cada estrutura presente na região periapical da raiz mesial do primeiro molar inferior nos grupos controle e teste nos diversos períodos experimentais.

Parâmetros	Período de dois dias		Período de 15 dias		Período de 30 dias	
	Controle	Teste	Controle	Teste	Controle	Teste
Raiz	415.489* ± 42.958**	410.285 ± 45.078	394.583 ± 34.707	318.248 ± 44.579	414.230 ± 68.810	284.294 ± 22.345
Tecido mole	215.718 ± 28.582	295.467 ± 31.593	207.281 ± 20.498	696.984 ± 61.367	205.142 ± 32.021	806.631 ± 45.912
Tecido ósseo	554.400 ± 35.857	476.991 ± 34.094	616.394 ± 11.7848	375.946 ± 33.248	610.704 ± 63.826	297.402 ± 41.971
Medula óssea	211.704 ± 37.217	208.890 ± 41.078	176.631 ± 65.085	Ausente Ausente	169.995 ± 66.325	Ausente Ausente
Nervo alveolar	138.689 ± 43.952	144.367 ± 51.711	141.112 ± 51.624	144.822 ± 48.180	135.929 ± 24.432	147.674 ± 42.113

* Média dos 9 animais.

** Desvio padrão da média dos 9 animais.

Figura 36.- Gráfico do percentual de pixels obtidos para cada estrutura presente na região periapical da raiz mesial do primeiro molar inferior nos grupos controle e teste nos três períodos experimentais.

Tabela 11 – Resultados do teste de Tukey intragrupo (lado teste x lado controle) da quantidade de pixels obtidos para as diferentes estruturas da região periapical nos diferentes períodos experimentais.

Raiz		
Período	p	Interpretação
2 dias	0,816	Não significativa
15 dias	0,006	Significativa
30 dias	<0,01	Significativa
Osso		
Período	p	Interpretação
2 dias	<0,01	Significativa
15 dias	<0,01	Significativa
30 dias	<0,01	Significativa
Tecido Mole		
Período	p	Interpretação
2 dias	<0,01	Significativa
15 dias	<0,01	Significativa
30 dias	<0,01	Significativa
Medula Óssea		
Período	p	Interpretação
2 dias	<0,01	Significativa
15 dias	<0,01	Significativa
30 dias	<0,01	Significativa
Nervo Alveolar Inferior		
Período	p	Interpretação
2 dias	0,994	Não Significativa
15 dias	0,567	Não Significativa
30 dias	0,961	Não Significativa

Tabela 12 - Resultados do teste de Tukey na comparação da quantidade de pixels obtidos para as diferentes estruturas da região periapical do lado teste entre os diferentes períodos experimentais.

Raiz		
Comparação	p	Interpretação
2 dias vs 15 dias	<0,01	Significativa
15 dias vs 30 dias	0,173	Não significativa
2 dias vs 30 dias	<0,01	Significativa
Osso		
Comparação	p	Interpretação
2 dias vs 15 dias	<0,01	Significativa
15 dias vs 30 dias	<0,01	Significativa
2 dias vs 30 dias	<0,01	Significativa
Tecido Mole		
Comparação	p	Interpretação
02 dias vs 15 dias	<0,01	Significativa
15 dias vs 30 dias	<0,01	Significativa
02 dias vs 30 dias	<0,01	Significativa

A análise das tabelas 11 e 12 e da figura 30 mostraram que:

a) no lado controle, o número total de pixels de cada estrutura avaliada não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os períodos ($p>0,05$), indicando a excelente padronização dos cortes histológicos selecionados para morfometria e a semelhança entre os animais utilizados;

b) no lado teste, o número total de pixels da raiz e do tecido ósseo diminuiu, respectivamente, 31% e 38% entre 2 e 30 dias, enquanto que, o tecido mole aumentou 173% no mesmo período; indicando que os tecidos mineralizados foram reabsorvidos e substituídos pelo tecido mole;

c) no período de dois dias, o número de pixels do tecido ósseo do grupo teste foi 14% menor em relação ao grupo controle, enquanto que, o tecido mole foi 37% maior. Já as demais estruturas analisadas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, indicando que, aos dois dias, no grupo teste já houve reabsorção do tecido ósseo e sua substituição por tecido conjuntivo. No grupo teste o número de pixels da raiz dentária e do tecido ósseo, aos 15 dias, foram, respectivamente, 19% e 39% menor em relação ao grupo controle e aos 30 dias essa diferença passou a ser de, respectivamente, 31% e 51%. Já, a medula óssea no grupo teste estava ausente. Este menor percentual de pixels do tecido ósseo e da raiz dentária e a ausência da medula óssea no grupo teste foi inversamente proporcional ao do tecido conjuntivo que, aos 15 e 30 dias, foi 236% e 293% maior, respectivamente, em relação ao controle.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA

FOB
USP

6

Discussão

6. Discussão

6.1 Da metodologia

O estudo em animais permitiu que o dente e o tecido periapical fossem examinados histologicamente após a aquisição das imagens. Desta forma, foi possível comprovar a condição de tais tecidos. Isso foi importante para que a análise dos valores de pixels pudesse ser comparada de forma segura às alterações teciduais. Outros trabalhos (SARMENTO⁷⁹, 1997, SARMENTO; RUBIRA⁸³, 1998) realizaram medições semelhantes do nível de cinza periapical, mas, como foram estudos *in vivo* com seres humanos, tornou-se inviável a comprovação histológica dos achados radiográficos. O diagnóstico do estado pulpar de tais estudos foi baseado nos achados clínicos, o que foi uma desvantagem.

Nesta pesquisa, optou-se pela escolha de ratos devido a facilidade de obtenção dos mesmos no biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru. Além disso, um maior número de animais pôde ser usado com menores gastos, devido ao seu pequeno porte e fácil manejo. O processamento histológico de tais animais é simples e suas reações teciduais periapicais assemelham-se às do homem (TAGGER; MASSLER⁹⁸, 1975, WANG; STASHENKO¹⁰⁴, 1993).

A anestesia realizada nesse trabalho foi a intramuscular, pois acredita-se ser esta adequada para um maior tempo de procedimento (ANAN et al.¹, 1991).

As reações periapicais foram induzidas pela abertura coronária do primeiro molar inferior direito. Vários trabalhos descreveram essa técnica na indução de reações pulpares e periapicais de dentes de ratos (KAKEHASHI; STANLEY;

FITZGERALD⁴⁵, 1965, SARMENTO⁸⁰, 2000, TAGGER; MASSLER⁹⁸, 1975). O presente estudo confirmou que apenas a abertura coronária e o contato da polpa com o meio bucal são suficientes para a indução da doença periapical. Porém, alguns estudos sugerem a introdução de uma lima endodôntica no conduto radicular após a abertura coronária (ANAN; AKAMINE; MAEDA², 1993, HAMACHI et al.³³, 1995). Um estudo de KAKEHASHI; STANLEY; FITZGERALD⁴⁵, em 1965, onde animais germ free, que tiveram suas polpas expostas e apresentaram inflamação pulpar mínima, com posterior formação de ponte de dentina, evidenciou a importância do microorganismo na patogênese da doença periapical.

Na obtenção das radiografias, uma placa de polimetilmetacrilato (acrílico) foi utilizada como simulador de tecido mole para mimetizar a condição natural do animal e padronizar a quantidade de tecido mole existente na peça. Inicialmente, foram realizadas radiografias com e sem a simulação de tecido mole, comprovando a alteração dos valores de pixel existente entre ambas. Se o tecido mole do animal tivesse sido preservado, talvez uma maior ou menor quantidade do mesmo levasse a uma variação dos valores de pixels, pois a presença do tecido mole tende a diminuir a quantidade de radiação que chega ao filme ou à placa. Logo, se as quantidades de tecidos moles fossem diferentes entre uma mandíbula e outra, variações adicionais dos valores de pixels poderiam ocorrer.

Segundo PIETROBELLI et al.⁷², em 1996, um fenômeno de atenuação ocorre quando o sinal de fótons atravessa um elemento, componente químico ou solução e, então, é diminuído de intensidade espontaneamente através de interações anatômicas que ocorrem, levando à absorção e dissipação de tais fótons. Desta forma, temos que, quando um feixe de raios X incide sobre a mandíbula, a presença de tecidos moles nessa trajetória influencia o resultado dos valores de pixel.

Diferentes materiais têm sido utilizados na simulação de tecidos moles, como a água, que foi o primeiro material utilizado nesse tipo de simulação, tendo vários estudos sido realizados com ela (BLAKE et al.⁷, 1992, HILDEBOLT et al.³⁸, 1993), seguida pela cera (CASATI; TAVANO; FREITAS¹², 1969, COOK; CUNNINGHAM¹³, 1995), o polietileno (COOK; CUNNINGHAM¹³, 1995) e tecido muscular e adiposo de animais (CASATI; TAVANO; FREITAS¹², 1969, LASKEY et al.⁵¹, 1992).

Um estudo de SOUZA; COSTA; PUPPIN⁹³, em 1999, avaliou o uso de tecido muscular bovino, água e cera utilidade como simuladores de tecido mole em mandíbulas humanas secas. Os simuladores apresentaram-se em duas espessuras, de 0,5 e 1,0cm em diferentes tempos de exposição. O comportamento dos simuladores variou de acordo com a espessura e tempo de exposição utilizado, sendo que o músculo bovino diferiu significativamente dos outros simuladores, mostrando melhores resultados, especialmente na espessura de 1,0cm.

No presente estudo, um aparato de acrílico simulando tecido mole foi usado para simular as condições reais. Esse material foi escolhido por apresentar uma maior estabilidade em relação aos supracitados. O músculo bovino sofreria ressecamento entre os períodos experimentais, ou mesmo entre as radiografias de um mesmo período, devendo ser congelado e mantido hidratado. A cera também apresenta uma menor estabilidade em relação ao acrílico, por possuir materiais voláteis em sua composição (REIS⁷⁴, 2001).

Foi ainda utilizado, em todas as radiografias, um penetrômetro de alumínio, para avaliar discrepâncias entre as imagens. Esse artifício tem sido muito usado na literatura para corrigir tais discrepâncias de imagem, embora o cálculo para a obtenção da correção apresente modificações entre os trabalhos (CAMPS; POMMEL; BUKIET¹¹, 2004, GURDAL; AKDENIZ³⁰, 1998, JETT et al.⁴³, 2004,

SOUTHARD et al.⁹², 1999). Apesar de terem sido observadas diferenças nos valores de pixels do penetrômetro nos diferentes períodos experimentais, especialmente para os escâneres, onde essa diferença se fez presente em todos os degraus do penetrômetro (Anexo 02), não julgamos conveniente o uso de um fator de correção. Esse cálculo, embora eliminasse possíveis discrepâncias entre as imagens radiográficas, poderia levar a alterações também na região de interesse estudada.

6.2 Da análise microscópica

Análise ultra-estrutural, avaliação enzima-histoquímica e imunohistoquímica, imunocitoquímica, hibridização DNA-DNA e análise através de microscopia eletrônica de varredura já foram empregadas para identificar as células e os fatores celulares envolvidos nas lesões periapicais (ANAN et al.¹, 1991, HAMACHI et al.³³, 1995, MOLVEN; OLSEN; KEREKES⁶¹, 1991). No entanto, neste trabalho, assim como no de SARMENTO⁸⁰, em 2000, apenas a observação morfológica do tecido pulpar e periapical foi realizada, sendo o diagnóstico suficientemente elucidado com tal avaliação.

O processo inflamatório foi observado na região pulpar no período experimental de dois dias, o que está de acordo com a literatura (STAHL⁹⁴, 1960, YAMASAKI et al.¹¹⁵, 1994), que afirma que após seis horas do procedimento operatório, a inflamação da polpa já é observada. A necrose pulpar foi observada nos períodos experimentais de 15 e 30 dias, o que também condiz com a literatura, onde estudos mostraram a presença de necrose total da polpa entre o oitavo e o 20º dia (STAHL⁹⁴, 1960, YAMASAKI et al.¹¹⁵, 1994).

HAMACHI et al.³³, em 1995, afirmaram que a reabsorção óssea está presente a partir do terceiro dia após o procedimento operatório. A reabsorção óssea em nosso estudo, embora ainda muito sutil, já podia ser observada após dois dias da abertura coronária do primeiro molar inferior.

A atividade reabsortiva estava presente de maneira ativa no 15º dia. Alguns autores afirmaram que essa atividade passa a diminuir a partir de então, com um decréscimo do número de osteoclastos (ANAN et al.¹, 1991, ANAN; AKAMINE; MAEDA², 1993). Embora a lesão pareça estar estabilizada, com diminuição da reabsorção óssea, a neoformação óssea não ocorre devido à presença de fatores agressores. (WANG; STASHENKO¹⁰⁴, 1993). No período experimental de 30 dias, uma grande área de reabsorção pôde ser observada, mas um menor número de osteoclastos estava presente. A quantidade de osso periapical era mínima, tendo sido substituído por tecido conjuntivo celularizado (Figura 30).

A análise estatística mostrou um decréscimo de osso com aumento da quantidade de tecido mole na região periapical, assim como a presença de reabsorção radicular entre os períodos de dois e 15 dias e, entre 15 e 30 dias, apenas para o tecido mole e tecido ósseo. Essa diferença foi significativa entre os lados teste e controle nos três períodos experimentais estudados, exceto para a região radicular, onde essa diferença não foi significativa entre os lados teste e controle no período de dois dias e entre os períodos experimentais de 15 e 30 dias. Isso, provavelmente, porque a reabsorção na doença periapical é maior na região óssea que na região radicular, não sendo esta muito evidente.

6.3 Das imagens digitalizadas

O presente estudo confirmou a presença e intensidade de reabsorção óssea observada radiograficamente através do estudo microscópico. Estudos que compararam imagens obtidas através de radiografias convencionais, e intensidade de reabsorção óssea vista microscopicamente, mostraram que muitas vezes essa relação não é estabelecida com precisão (BARKHORDAR; HUSSAIN; HAYASHI⁶, 1992, GENVERT; MILLER; BURN²⁶, 1940-41).

Um estudo feito por DELANO et al.¹⁹, em 1998, onde foi feita a indução e o tratamento de lesões periapicais em cachorros, mostrou concordância entre a histopatologia da doença periapical e seus valores de pixels, medidos em radiografias digitais. O reparo de tais lesões foi acompanhado radiograficamente no mesmo animal, o que foi impossível de ser realizado em nossa pesquisa, pela própria limitação de tamanho dos ratos. No nosso estudo, a avaliação dos valores de pixels entre grupos, nos períodos de dois, 15 e 30 dias, foi feita utilizando ratos diferentes, o que pode representar um viés, dadas as possíveis diferenças constitucionais entre os animais.

A dificuldade de fazer tal associação em humanos está no fato de que as implicações éticas impossibilitam a análise microscópica de tecidos humanos saudáveis, sendo o padrão-ouro difícil de ser obtido.

JETT et al.⁴³, em 2004 e SHROUT et al.⁸⁷, em 2003, realizaram metodologias semelhantes, removendo osso medular de mandíbulas de cadáveres e radiografando as peças para medir os valores de pixels das áreas em que osso foi removido. Esses estudos mostraram ser possível detectar perda óssea na região mandibular por análise de valores de pixels, mesmo que esta ainda não seja visível

radiograficamente. Os estudos que demonstraram essa variação dos valores de pixels com radiografias de arquivos podem apresentar erros, devido à falta de padronização das mesmas, embora as pesquisas realizadas com este intuito tenham demonstrado eficácia na medida dos valores de pixels (SARMENTO; RUBIRA⁸³, 1998, SHROUT et al.⁸⁸, 1993, WHITE et al.¹¹³, 1994).

Os trabalhos em humanos que utilizaram radiografias padronizadas na avaliação dos valores de pixels de lesões periapicais, utilizaram o índice periapical, proposto no estudo de ORSTAVIK; KERÉKES; ERIKSEN⁷⁰, em 1986, e confirmaram a concordância entre o índice periapical e a medida dos valores de pixels (CAMPS; POMMEL; BUKIET¹¹, 2004, DELANO et al.¹⁸, 2001, KEROSUO; ORSTAVIK⁴⁷, 1997). O trabalho de CAMPS; POMMEL; BUKIET¹¹, em 2004, evidenciou que a detecção de alterações ósseas em lesões periapicais pela medida de valores de pixels entre a radiografia inicial e seus controles é possível, mesmo quando não há modificação do índice periapical.

As imagens deste trabalho foram examinadas no programa ImageJ[®], com as tonalidades de cinza invertidas, e mostraram uma média dos valores de pixels maior no lado teste que no lado controle. Nas placas de fósforo fotoestimuláveis, o aumento dos valores de pixels no lado teste foi estatisticamente significativo nos três períodos experimentais estudados. As radiografias digitalizadas através dos escâneres evidenciaram essa diferença de forma estatisticamente significativa apenas nos períodos experimentais de 15 e 30 dias, embora a diferença estivesse presente aos dois dias, esta não foi estatisticamente significativa. Os achados microscópicos de reabsorção óssea nos períodos experimentais mais avançados levaram a uma maior alteração nos valores de pixel, tornando-a diagnosticável por qualquer dos métodos de aquisição de imagem estudados.

No período experimental de dois dias, essa diferença só foi evidente nas imagens digitais diretas, mostrando que estas foram mais confiáveis para diagnóstico que as imagens digitalizadas indiretamente. As áreas de reabsorção óssea periapical nas mandíbulas dos ratos foram muito sutis no período experimental de dois dias, por tratar-se de um animal pequeno, com uma mandíbula de pequena espessura óssea. Essa foi uma desvantagem do uso de ratos nessa pesquisa. Talvez, se a mesma tivesse sido realizada em um animal de maior porte - como cachorros- a análise dos valores de pixels no período experimental de dois dias pudesse ter sido diagnosticada mesmo com um método de digitalização indireto.

No estudo realizado por SARMENTO⁸⁰, em 2000, um grupo de ratos sofreu abertura coronária e foi sacrificado aos 30 dias. O nível de cinza periapical avaliado pelo programa Photoshop, com a digitalização indireta de 75 dpi, não mostrou diferença estatística entre o lado controle e o lado teste, sendo essa diferença evidenciada microscopicamente, o que reforça a afirmação de que a modalidade de captura é muito importante, sendo a digitalização indireta menos confiável para esse tipo de análise.

Estudos anteriores, comparando a análise dos valores de pixels periapical de dentes sadios, com pulpíte e com necrose pulpar, observaram que os dentes com necrose apresentavam um valor de pixel menor que os com pulpíte, e estes, um valor menor que os dentes sadios (SARMENTO; RUBIRA⁸³, 1998). Os valores de pixels das regiões periapicais de dentes com pulpíte e necrose mostraram-se inferiores aos controles, porque a análise foi feita sem a inversão da escala de cinza das imagens. Desta forma, à medida que a reabsorção óssea se fazia presente, a região tornava-se mais preta na imagem e, conseqüentemente, com um menor valor

de pixel. O inverso foi visto em nosso estudo, pelo estabelecimento da inversão das tonalidades de cinza das imagens visualizadas no momento das medições.

Os resultados obtidos para as medidas de valores de pixels nas regiões teste e controle não apresentaram, em muitos casos, diferenças significativas destes valores entre os períodos evolutivos. Desta forma, a metodologia aplicada não foi eficaz em avaliar diferenças de valores de pixels entre os períodos experimentais. O estudo de SARMENTO⁸⁰, em 2000, de metodologia semelhante ao presente trabalho, apresentou diferença na análise de valores de pixels do lado teste em relação ao controle, porém, essa diferença não foi constatada entre os períodos evolutivos, apresentando ainda inversão dos valores em alguns casos.

Em algumas comparações, para todos os escâneres utilizados na digitalização, os sítios de doença periapical, embora apresentassem reabsorção óssea periapical microscopicamente, a média dos valores de pixel do grupo III foi menor que do grupo II, e algumas vezes foi até menor que do grupo I. Essa inversão de grandeza não possui explicação histológica.

O crescimento fisiológico dos animais entre os períodos experimentais pode ter influenciado nos resultados; porém, é difícil avaliar o quanto. Enquanto a média do peso dos ratos sacrificados aos dois dias (grupo I) era de 196g, dos ratos do grupo II era de 205g e dos ratos pertencentes ao grupo III, de 211g, representando um aumento de 4,5% do grupo I para o grupo II e de 7,6% do grupo I para o grupo III. Aparentemente, esta variação ponderal pode ter interferido nos resultados dos valores de pixel, pois é sabido que esse crescimento também está associado ao aumento da espessura óssea. Dessa maneira, uma diminuição dos valores de pixels em um período experimental de mais tempo, pode estar representando a presença de reabsorção óssea em uma mandíbula mais espessa.

Além disso, as mudanças das médias dos valores de pixel entre os grupos, para mais ou menos, seguiram o padrão das alterações observadas no penetrômetro, sugerindo que essas alterações são fortemente influenciadas pelas alterações na incidência e quantidade de raios X, no processamento radiográfico, no processo de escaneamento ou alterações inerentes à placa de fósforo, além da adição de ruído ao exame de imagem.

Como as radiografias dos grupos I, II e III foram realizadas em tempos diferentes, alterações, mesmo que mínimas, na exposição ou processamento da imagem podem ter interferido nesses resultados.

Na tentativa de obter-se um melhor entendimento destes resultados, foi realizada a análise do coeficiente de variabilidade do valor de pixel (CV), assim como o ruído das regiões teste e controle de cada animal e do penetrômetro, tanto para as imagens digitalizadas diretamente quanto para as digitalizações indiretas (RUBIRA-BULLEN⁷⁶, 2004). Esses cálculos não foram o objetivo desta pesquisa, somente foram realizados com intuito de elucidar os resultados. Os achados mostraram um baixo ruído e um baixo coeficiente de variabilidade em todas as regiões estudadas (Anexos 3 a 11). Com o mesmo objetivo, o ANOVA a um critério e o teste de Tukey, foram aplicados às médias dos valores de pixel dos quatro degraus do penetrômetro, com a variável tempo sendo empregada, mostrando uma variação estatisticamente significativa no primeiro degrau do penetrômetro para as duas placas do Digora[®], e para todos os degraus nos escâneres, esclarecendo que a comparação entre os grupos foi prejudicada pela variação de pixel da imagem, mesmo nas regiões de controle (penetrômetro), onde essa variação não era esperada (Anexo 02).

Para diminuir o nível de ruído das imagens capturadas diretamente, as placas de fósforo foram cobertas pelo envelope protetor, pois ela é sensível à luz (SOREDEX⁹¹, 1995). Pode ter havido diferenças na exposição, decorrentes do aparelho, mas são mais freqüentes em aparelhos sem controle digital, diferente do que foi usado em nossa pesquisa. As imagens foram descarregadas sempre imediatamente após a tomada radiográfica, pois o tempo entre a tomada e o descarregamento das placas também influencia nos valores de pixels (FREITAS et al.²⁴, 2006).

As imagens nesse trabalho foram obtidas com baixas doses de radiação. Como os lados teste e controle foram expostos ao mesmo tempo, ambos sofreram a mesma exposição e as mesmas variações da exposição. Os resultados histológicos foram consistentes com os achados radiográficos, quando comparamos os lados teste e controle do mesmo animal. As diferenças entre as imagens de ratos diferentes de um mesmo grupo podem ter sido influenciadas pelas variações da fonte, associada a outros fatores como espessura óssea e resquícios de tecido mole na peça. A metodologia utilizada procurou diminuir ao máximo tais interferências, mantendo a posição da fonte de raios-x estável durante as tomadas radiográficas, processando e escaneando as radiografias convencionais de cada grupo em conjunto, para cada um dos escâneres utilizados.

O sistema Digora[®] foi calibrado previamente ao uso, antes do início das tomadas radiográficas das peças cirúrgicas. A calibração era feita sempre em uma das placas, e ambas as placas eram descarregadas no sistema; talvez isso explique, em parte, a alteração dos valores que ocorreu entre as placas, uma vez que alterações inerentes à placa influenciam os valores de pixels obtidos através das mesmas. As placas deste estudo tinham cerca de dois anos de uso e, apesar de

utilizadas apenas com finalidade de pesquisa, uma poderia ter sido mais utilizada que a outra, apresentando maior ruído. Talvez o uso de placas novas fosse mais adequado para minimizar as variações das imagens, embora não represente a realidade de uma clínica. Um estudo de FREITAS et al.²⁴, em 2006, objetivou determinar a reprodutibilidade dos valores de pixels obtidos com duas placas brancas do sistema Digora[®]. As exposições foram padronizadas, com variação no tempo de exposição e leitura das duas placas de fósforo fotoestimuláveis, contendo a imagem de um penetrômetro. A menor variação dos valores de pixels foi de 50 a 70%. As faixas mais radiopacas do penetrômetro, assim como no presente trabalho, mostraram uma variação maior. A reprodutibilidade dos valores de pixels não foi satisfatória. Esses achados são importantes para estabelecer a reprodutibilidade dos valores de pixels em estudos quantitativos usando imagem digital e ajudam a elucidar variações de valores de pixels inesperadas, como as que ocorreram no penetrômetro.

TEIXEIRA et al.⁹⁹, em 2006, avaliaram a reprodutibilidade dos valores de pixels utilizando duas placas azuis e duas brancas, do sistema Digora[®]. As placas foram posicionadas em um “phantom”, juntamente com um penetrômetro, expostas cinco vezes consecutivas e descarregadas imediatamente. Sete regiões de interesse foram avaliadas em diferentes localizações do “phantom” e nos degraus do penetrômetro pelo histograma. Os valores de pixel atribuídos às imagens obtidas por meio das placas foram transformados em coeficiente de variabilidade de valor de pixel (CV). As placas brancas mostraram CV de oito a 12% e as azuis de sete a 16%. Houve diferença estatística significativa entre as duas placas brancas e as duas azuis.

A análise dos valores de pixels parece ser um exame radiográfico confiável para comparações dentro de um mesmo indivíduo, mas não apresenta a mesma confiabilidade entre indivíduos diferentes, de acordo com os resultados encontrados neste estudo, assim como nos estudos de SARMENTO⁸⁰, em 2000, e de SCHMITD⁸⁴, em 2005, onde a pesquisadora avaliou radiograficamente a reabsorção óssea periodontal, por meio de valores de pixels, comparando com exame histopatológico. Trinta ratos foram submetidos à indução da doença periodontal, com fio de seda 3-0 ao redor do primeiro molar inferior direito, sendo o lado esquerdo deixado como controle. O grupo I foi sacrificado depois de sete dias, o grupo II, após 14 dias e o grupo III, após 28 dias. As hemimandíbulas dos 30 animais foram radiografadas em filmes radiográficos tamanho 2 e placa de fósforo fotoestimulável do Digora[®]; as radiografias convencionais foram digitalizadas em um escâner a laser. As médias dos valores de pixels das áreas de doença e das áreas controle foram aferidas no programa ImageJ[®], sendo os valores de pixel significativamente menores nas áreas de doença periodontal. A análise microscópica evidenciou perda óssea, com aumento de osteoclastos e diminuição da altura da crista óssea alveolar com o passar do período experimental; porém a avaliação radiográfica intergrupos não mostrou diferença significativa, mostrando inversão de valores em algumas comparações. O estudo concluiu que a análise dos valores de pixels na radiografia digital foi capaz de evidenciar perda óssea quando comparada com seus controles, mas não entre períodos experimentais diferentes.

Essa dificuldade é uma realidade que deverá ser mais bem estudada, pois nos seres humanos, ela também estará presente através das diferentes massas corporais e idade entre os pacientes, o que dificulta as comparações entre eles.

Nos dias atuais, com o avanço da tecnologia e a possibilidade de ampliar a memória do computador, essas imagens, que antes se apresentavam como um problema para serem armazenadas, hoje podem ser arquivadas com maior facilidade e menor custo. Assim, imagens de maior resolução e alcance dinâmico são melhores, sendo o limitante disto a capacidade de memória do computador (OHKI; OKANO; NAKAMURA⁶⁷, 1994).

As imagens digitais diretas deste estudo foram obtidas com o Digora[®], um sistema direto de placas de fósforo fotoestimuláveis. Nesses sistemas, existe uma correlação entre a dose de radiação e a quantidade de luminescência da placa de captura (KASHIMA⁴⁶, 1995, LIM; LOH; HONG⁵⁴, 1995). As placas de captura apresentam menos ruído e uma imagem de melhor qualidade que outros sistemas diretos, além de serem mais sensíveis a pequenas variações da fonte de exposição em relação aos filmes convencionais, devendo ser utilizadas quando pequenas diferenças de contraste são importantes (HILDEBOLT et al.³⁷, 1997, KASHIMA⁴⁶, 1995).

Nesse estudo, o uso de escâneres foi o método de escolha para a digitalização indireta, pois estes apresentam melhores resultados em relação às câmeras de vídeo (SHROUT; HALL; HILDEBOLT⁸⁶, 1993, SHROUT et al.⁸⁸, 1993), mas, embora os escâneres sejam eficientes na digitalização radiográfica, a qualidade das imagens ainda é pequena, pois a radiografia convencional apresenta um largo alcance dinâmico, grande resolução e alta frequência espacial, sendo difícil sua reprodução com qualidade (KHADEMI⁴⁸, 1996).

Nossos resultados mostraram que a digitalização direta com placas de fósforo foi superior à digitalização indireta com escâneres (Figuras 20 a 25).

Os valores das médias não foram comparados entre as modalidades de captura no programa ImageJ[®], pois existe variação dos valores de pixels, dependendo do método de captura. Apesar da padronização nas tomadas radiográficas, qualquer modalidade de captura pode modificar os valores de pixels na região estudada. Um estudo feito por RAMALHO et al.⁷³, em 1999, comparou as escalas de cinza dos sistemas DentScan DentView[®] com o Digora[®]. Os resultados também mostraram uma variação dos valores de cinza pelo método de aquisição da imagem. Logo, as médias dos valores de pixels obtidas por um programa ou método de captura de uma imagem não podem ser comparadas com as médias de outros programas ou outros métodos de aquisição.

O programa ImageJ[®] mostrou-se um programa adequado para tal análise. As medidas das áreas periapicais estudadas foram facilmente selecionadas, sendo que a ferramenta de seleção de área deste programa permite manter o tamanho e a forma da área selecionada salvos, permitindo o uso desta mesma seleção em todas as medidas realizadas para cada método de digitalização de imagem empregado. Isso forneceu uma maior confiabilidade às medidas e facilitou a mensuração das mesmas. A área a ser medida, selecionada logo abaixo da raiz mesial do primeiro molar inferior, foi demarcada de maneira visual, o que não pareceu influenciar na padronização dos resultados, pois a repetição das medidas na mesma área da imagem foi bastante semelhante, com um intervalo de tempo de 30 dias. Se pequenas reabsorções ósseas puderam ser detectadas em mandíbulas de ratos, que são extremamente pequenas, certamente a variação dos valores de pixels de lesões periapicais em humanos também seria detectável.

Uma outra vantagem do ImageJ[®] em relação a outros programas de análise de imagem, é que mesmo com a modificação de brilho e contraste, o valor de pixel

se mantêm o mesmo, não sofrendo alterações. Isso possibilitou que a imagem pudesse ter sua aparência melhorada pelo examinador. Essa modificação não foi possível em trabalhos que utilizaram programas como Photoshop® e IP Tooth®, o que foi uma desvantagem. Muitos estudos mostraram ser o pós-processamento um fator positivo, que ajuda na interpretação da imagem (WENZEL; HINTZE¹¹⁰, 1993). Embora outros trabalhos afirmem que a manipulação da imagem não traga benefícios ao diagnóstico (KULLENDORFF; NILSSON⁵⁰, 1996, OHKI; OKANO; NAKAMURA⁶⁷, 1994). HAAK; WICHT³¹, em 2004, estudaram o uso da escala de cinza inversa na detecção de cáries proximais. Cinco observadores analisaram radiografias interproximais digitais de 320 superfícies não restauradas. As imagens foram dispostas no formato convencional e inverso em três diferentes tamanhos, 1:1, 1:2 e 1:7. A confirmação das lesões cariosas foi realizada por estudo histológico. Os autores concluíram que o diagnóstico de cárie interproximal não é melhorado pela inversão da escala de cinza, sendo que lesões dentinárias são mais dificilmente detectadas em tais imagens.

Um estudo de KULLENDORFF; NILSSON⁵⁰, em 1996, comparou a acurácia diagnóstica da imagem da radiografia digital direta e da mesma radiografia após pós-processamento digital na detecção de lesões periapicais. O estudo concluiu que o pós-processamento digital para o diagnóstico de tais lesões tem efeito limitado, sendo preferidas as técnicas básicas de processamento, como brilho e contraste.

TYNDALL et al.¹⁰⁰, em 1998, avaliaram imagens com e sem manipulação, obtidas a partir do sistema digital direto Sidexis® (CCD), comparando-as com as imagens obtidas a partir de filmes convencionais Ektaspeed plus®, e concluíram que as imagens digitais não processadas são equivalentes à radiografia convencional

para a detecção de cárie, sendo que tais imagens apresentam uma acurácia diagnóstica superior às imagens digitais manipuladas.

Neste estudo, a manipulação das imagens favoreceu a visualização dos limites da raiz, facilitando a localização da área de interesse e tornando a repetição da mesma mais fácil nas diferentes imagens analisadas. O valor utilizado foi a média das duas medidas obtidas nesse intervalo de trinta dias. A diferença entre as medidas não foi significativa e não teria magnitude para interferir nos resultados. Após seis meses, uma nova análise foi realizada em caráter confirmatório, chegando-se aos mesmos resultados.

A interpretação das imagens foi feita sempre em uma sala escurecida, no mesmo computador, com monitor de tela plana de 17 `` e resolução de 1024 por 768 pixels. Segundo MOLTENI⁶⁰, em 1993, é importante que as imagens sejam analisadas com brilho, contraste, luz e distância apropriados. Um máximo de três horas de avaliação por dia foi estabelecido, para evitar a fadiga do examinador, o que poderia comprometer a leitura.

No momento da análise, as imagens foram ampliadas oito vezes, o que pareceu facilitar o posicionamento adequado da região de interesse na mesma.

Os benefícios da ampliação de radiografias digitalizadas foram avaliados por MOYSTAD et al.⁶³, em 1995. O objetivo do trabalho era detectar se a ampliação aumentava a detecção de lesões de cárie em superfícies proximais em pré-molares e molares extraídos. Os dentes foram radiografados com filmes tipo E e as radiografias, assim obtidas, foram digitalizadas com o emprego de uma câmera de vídeo. Foram realizadas ampliações de três, seis, doze, dezesesseis, dezoito e trinta vezes o seu tamanho original. As ampliações de dezoito e trinta vezes apresentaram

resultados inferiores, enquanto a de dezesseis vezes foi considerada a mais adequada.

Em um outro trabalho de MOYSTAD et al.⁶⁴, em 1996, os autores avaliaram o desempenho do Sistema Digora® na detecção de lesões de cárie de superfícies proximais, através de imagens manipuladas. A amostra consistia de 25 molares e 25 pré-molares dos quais foram obtidas imagens digitalizadas e convencionais. As avaliações das imagens foram realizadas por dez dentistas. Os resultados demonstraram que o realce das imagens aumentou a acuidade de diagnóstico, quando comparado com imagens sem realce e filmes convencionais.

SVANAES et al.⁹⁷, em 1996, avaliaram 25 pré-molares e 25 molares, onde foram produzidas cáries artificialmente nas superfícies proximais, sendo, em seguida, radiografados com filmes de velocidade E e com o sistema Digora® para obtenção de cinquenta imagens. O trabalho analisou o Sistema Digora® quanto à sua capacidade de demonstrar a presença de lesões de cárie de superfícies proximais, com a utilização do recurso de ampliação. As imagens ampliadas quatro vezes foram interpretadas por dez examinadores quanto à detecção de lesão de cárie e mostraram-se preferíveis na obtenção do diagnóstico.

As imagens digitais requerem menores doses de radiação do que filmes convencionais (FARMAN; SCARFE²¹, 1994, GRONDAHL²⁸, 1992, KASHIMA⁴⁶, 1995, VELDEERS; SANDERINK; VAN DER STELT¹⁰², 1996, WELANDER et al.¹⁰⁷, 1993). No presente trabalho, o tempo de exposição utilizado foi escolhido no teste piloto. Nas placas de fósforo, para determinar uma imagem adequada para diagnóstico, esse tempo foi de 0,09s. Já nas radiografias convencionais, o tempo de exposição foi de 1, 3s.

Com a pequena quantidade de radiação necessária para a aquisição de radiografias digitais diretas, a avaliação clínica inicial do paciente com exames periapicais de boca toda é uma realidade que deve ser considerada. Mesmo fazendo uso da aquisição de imagens digitais indiretamente, com a possibilidade de manipulação das mesmas, haveria uma diminuição do índice de repetições, diminuindo a dose de radiação fornecida ao paciente (SARMENTO⁷⁹, 1997).

Desta forma, as radiografias obtidas neste exame inicial poderiam ser usadas em comparações futuras, com novas tomadas radiográficas de dentes que apresentassem alguma alteração. A análise de pixel seria mais uma ferramenta para diagnóstico, associada sempre ao exame clínico do paciente.

Os resultados deste trabalho mostraram haver um paralelo entre a situação pulpar e os valores de pixels da área estudada, apesar de o estudo ter sido realizado em ratos, que apresentam as limitações já citadas.

Apesar da resistência de muitos profissionais, alto custo da tecnologia e das implicações éticas pelo risco de manipulação das imagens, a imagem digital tem se alastrado e se aperfeiçoado cada vez mais. A informatização tende a tornar este método o de escolha para as radiografias diárias.

Pesquisas futuras devem ser encorajadas, utilizando modelos experimentais de maior porte para viabilizar o acompanhamento intragrupo nos diferentes períodos experimentais. Outros sistemas digitais também devem ser estudados, para que suas falhas e benefícios sejam identificados, visando um aperfeiçoamento dos mesmos.

Um estudo em humanos pode ser delineado, selecionando uma amostra de pacientes que irão submeter-se à cirurgia parendodôntica para correção de lesões periapicais. Para isso, os pacientes devem ser submetidos a radiografias

padronizadas desde o momento inicial de seu tratamento, e radiografias de controle pós-cirúrgicas podem ser realizadas, evidenciando o reparo ósseo na região. Desta forma, poderíamos correlacionar os achados radiográficos e histológicos em seres humanos.

O campo é vasto e ainda se tem muito a explorar, pois as inúmeras possibilidades de pós-processamento da imagem digital acrescentam informações ao exame do paciente, sendo que o cirurgião-dentista deve estar preparado para interpretar corretamente e usufruir destes benefícios, pois o estudo de imagens radiográficas digitais obtidas por método direto faz parte de uma linha crescente de pesquisa em busca de métodos de diagnósticos cada vez mais precisos.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA

FOB
USP

Conclusões

7. Conclusões

1 – A metodologia aplicada foi eficiente para provocar pulpite e necrose pulpar nos ratos estudados.

2 – Dentes portadores de pulpite apresentaram microscopicamente reabsorção óssea periapical, porém, os dentes com necrose apresentaram uma maior reabsorção. Os dentes controle apresentaram polpa sadia, sem sinais de reabsorção óssea periapical.

3 – As médias dos valores de pixels nas áreas de doença periapical induzidas em ratos indicaram maior reabsorção óssea que as médias de tais valores no lado controle, para os três períodos experimentais, na radiografia digital direta ($p < 0,05$) e para os períodos de 15 e 30 dias para as imagens digitalizadas indiretamente ($p < 0,05$).

4 – Mesmo uma pequena reabsorção óssea periapical já foi suficiente para determinar mudanças nos valores de pixel daquela área no método digital direto quando comparada com seus respectivos controles. O método de aquisição de imagens digitais diretas foi mais eficiente em relação ao método indireto, mostrando um paralelo entre os achados radiográficos e microscópicos para cada um dos grupos estudados, visto que a análise microscópica mostrou uma diminuição da quantidade de osso no lado teste em todos os períodos experimentais estudados quando comparados com seus respectivos controles.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA

FOB
USP

Anexos

Anexos

Anexo 1 - Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Faculdade de Odontologia de Bauru.

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

CEEPA-Proc. Nº 13/2005

Bauru, 04 de julho de 2005.

Senhora Professora,

Informamos que esta Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais, apreciou novamente o projeto de pesquisa "**Avaliação de reabsorção óssea periapical por meio de valores de pixel e comparação com análise histopatológica - estudo experimental em ratos**" de autoria de Renata Cordeiro Teixeira, sob sua orientação, emitindo **parecer favorável** à realização do trabalho tendo em vista não haver infrações éticas.

Sendo o que nos apresenta para o momento, despedimo-nos

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luís Antônio de Assis Taveira

Vice-Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Ilma Srª Profª Drª Izabel Regina Fischer Rubira-Bullen
DD. Docente do Departamento de Estomatologia

Anexo 2 - Resultados do teste ANOVA para as médias dos valores de pixels dos quatro degraus do penetrômetro entre os períodos experimentais, para cada um dos métodos de digitalização utilizados

Método	Degrau do penetrômetro	Valor de P
Placa 1 do Digora	1	0,039
Placa 1 do Digora	2	0,146
Placa 1 do Digora	3	0,283
Placa 1 do Digora	4	0,670
Placa 2 do Digora	1	0,010
Placa 2 do Digora	2	0,060
Placa 2 do Digora	3	0,307
Placa 2 do Digora	4	0,962
Escâner 5370c	1	< 0,01
Escâner 5370c	2	< 0,01
Escâner 5370c	3	< 0,01
Escâner 5370c	4	< 0,01
Escâner Powerlook 2	1	< 0,01
Escâner Powerlook 2	2	< 0,01
Escâner Powerlook 2	3	< 0,01
Escâner Powerlook 2	4	< 0,01
Escâner a laser Lumiscan 75	1	< 0,01
Escâner a laser Lumiscan 75	2	< 0,01
Escâner a laser Lumiscan 75	3	< 0,01
Escâner a laser Lumiscan 75	4	< 0,01

Anexo 3 - Ruído das ROIs dos lados teste e controle dos 27 animais nas duas placas de fósforo fotoestimuláveis estudadas.

Placa1	Ruído Teste	Ruído Controle	Placa2	Ruído Teste	Ruído Controle
Rato1Placa1Grupo1	3,379	4,389	Rato1Placa2Grupo1	3,644	4,425
Rato2Placa1Grupo1	4,124	3,952	Rato2Placa2Grupo1	4,137	4,111
Rato3Placa1Grupo1	5,299	3,864	Rato3Placa2Grupo1	4,573	3,893
Rato4Placa1Grupo1	4,269	4,473	Rato4Placa2Grupo1	4,158	4,503
Rato5Placa1Grupo1	4,385	3,154	Rato5Placa2Grupo1	4,715	3,852
Rato6Placa1Grupo1	3,740	4,453	Rato6Placa2Grupo1	3,617	4,573
Rato7Placa1Grupo1	4,543	4,383	Rato7Placa2Grupo1	4,577	4,391
Rato8Placa1Grupo1	4,728	3,895	Rato8Placa2Grupo1	5,313	3,794
Rato9Placa1Grupo1	3,636	5,210	Rato9Placa2Grupo1	3,840	4,076
Rato1Placa1Grupo2	5,253	4,449	Rato1Placa2Grupo2	6,598	4,655
Rato2Placa1Grupo2	3,682	4,630	Rato2Placa2Grupo2	4,380	4,605
Rato3Placa1Grupo2	4,033	5,262	Rato3Placa2Grupo2	4,886	4,184
Rato4Placa1Grupo2	3,408	3,795	Rato4Placa2Grupo2	4,668	4,170
Rato5Placa1Grupo2	3,533	3,435	Rato5Placa2Grupo2	5,265	3,692
Rato6Placa1Grupo2	4,195	5,418	Rato6Placa2Grupo2	5,645	4,507
Rato7Placa1Grupo2	5,321	3,875	Rato7Placa2Grupo2	6,358	4,459
Rato8Placa1Grupo2	5,447	4,060	Rato8Placa2Grupo2	5,964	3,731
Rato9Placa1Grupo2	3,940	3,952	Rato9Placa2Grupo2	3,698	4,604
Rato1Placa1Grupo3	4,601	4,143	Rato1Placa2Grupo3	6,575	5,456
Rato2Placa1Grupo3	3,608	4,700	Rato2Placa2Grupo3	5,677	4,618
Rato3Placa1Grupo3	4,066	3,631	Rato3Placa2Grupo3	5,065	4,414
Rato4Placa1Grupo3	5,352	4,191	Rato4Placa2Grupo3	6,497	4,154
Rato5Placa1Grupo3	4,441	4,656	Rato5Placa2Grupo3	5,540	4,476
Rato6Placa1Grupo3	4,847	4,539	Rato6Placa2Grupo3	5,655	4,492
Rato7Placa1Grupo3	4,505	3,875	Rato7Placa2Grupo3	6,602	4,289
Rato8Placa1Grupo3	5,134	4,633	Rato8Placa2Grupo3	7,277	4,901
Rato9Placa1Grupo3	5,905	4,507	Rato9Placa2Grupo3	6,775	4,308

Anexo 4 - Ruído das ROIs dos lados teste e controle dos 27 animais nos três escâneres estudados.

	Ruído Teste	Ruído Controle
Rato1Escâner 5370cGrupo1	2,343	2,035
Rato2Escâner 5370cGrupo1	2,828	2,192
Rato3Escâner 5370cGrupo1	2,573	2,283
Rato4Escâner 5370cGrupo1	2,570	2,301
Rato5Escâner 5370cGrupo1	2,699	2,496
Rato6Escâner 5370cGrupo1	2,442	3,131
Rato7Escâner 5370cGrupo1	3,161	2,230
Rato8Escâner 5370cGrupo1	3,090	2,313
Rato9Escâner 5370cGrupo1	3,090	2,313
Rato1Escâner 5370cGrupo2	2,164	2,553
Rato2Escâner 5370cGrupo2	2,294	3,028
Rato3Escâner 5370cGrupo2	1,633	2,538
Rato4Escâner 5370cGrupo2	2,683	2,607
Rato5Escâner 5370cGrupo2	2,899	2,474
Rato6Escâner 5370cGrupo2	2,378	2,169
Rato7Escâner 5370cGrupo2	2,542	2,607
Rato8Escâner 5370cGrupo2	2,027	2,900
Rato9Escâner 5370cGrupo2	2,253	2,272
Rato1Escâner 5370cGrupo3	2,168	3,085
Rato2Escâner 5370cGrupo3	3,841	3,142
Rato3Escâner 5370cGrupo3	2,983	2,659
Rato4Escâner 5370cGrupo3	2,708	2,873
Rato5Escâner 5370cGrupo3	4,286	2,673
Rato6Escâner 5370cGrupo3	3,404	2,037
Rato7Escâner 5370cGrupo3	3,263	2,979
Rato8Escâner 5370cGrupo3	3,152	2,267
Rato9Escâner 5370cGrupo3	2,867	2,232
Rato1EscânerPowerLookIIGrupo1	1,718	1,259
Rato2EscânerPowerLookIIGrupo1	1,330	1,320
Rato3EscânerPowerLookIIGrupo1	1,161	1,573
Rato4EscânerPowerLookIIGrupo1	1,182	1,126
Rato5EscânerPowerLookIIGrupo1	1,445	1,284
Rato6EscânerPowerLookIIGrupo1	1,581	1,802
Rato7EscânerPowerLookIIGrupo1	1,365	1,241
Rato8EscânerPowerLookIIGrupo1	1,563	1,447
Rato9EscânerPowerLookIIGrupo1	1,150	1,148
Rato1EscânerPowerLookIIGrupo2	1,867	1,537
Rato2EscânerPowerLookIIGrupo2	1,569	1,486
Rato3EscânerPowerLookIIGrupo2	1,474	1,552
Rato4EscânerPowerLookIIGrupo2	1,079	1,801
Rato5EscânerPowerLookIIGrupo2	1,532	1,147
Rato6EscânerPowerLookIIGrupo2	1,296	1,102

Rato7EscânerPowerLookIIGrupo2	1,262	1,219
Rato8EscânerPowerLookIIGrupo2	1,678	1,607
Rato9EscânerPowerLookIIGrupo2	1,195	1,542
Rato1EscânerPowerLookIIGrupo3	2,338	2,277
Rato2EscânerPowerLookIIGrupo3	3,446	2,023
Rato3EscânerPowerLookIIGrupo3	2,077	1,558
Rato4EscânerPowerLookIIGrupo3	1,713	1,468
Rato5EscânerPowerLookIIGrupo3	2,019	2,623
Rato6EscânerPowerLookIIGrupo3	2,217	1,576
Rato7EscânerPowerLookIIGrupo3	2,484	1,356
Rato8EscânerPowerLookIIGrupo3	1,799	2,046
Rato9EscânerPowerLookIIGrupo3	1,543	1,179
Rato1EscânerLaserGrupo1	4,679	1,885
Rato2EscânerLaserGrupo1	2,338	3,130
Rato3EscânerLaserGrupo1	3,327	4,722
Rato4EscânerLaserGrupo1	1,913	2,483
Rato5EscânerLaserGrupo1	1,430	2,579
Rato6EscânerLaserGrupo1	3,100	2,897
Rato7EscânerLaserGrupo1	4,631	4,175
Rato8EscânerLaserGrupo1	1,457	2,564
Rato9EscânerLaserGrupo1	1,481	3,049
Rato1EscânerLaserGrupo2	8,650	4,059
Rato2EscânerLaserGrupo2	5,334	3,790
Rato3EscânerLaserGrupo2	4,698	4,006
Rato4EscânerLaserGrupo2	5,210	6,286
Rato5EscânerLaserGrupo2	2,733	3,018
Rato6EscânerLaserGrupo2	4,826	3,722
Rato7EscânerLaserGrupo2	4,288	4,243
Rato8EscânerLaserGrupo2	2,424	5,739
Rato9EscânerLaserGrupo2	6,081	5,678
Rato1EscânerLaserGrupo3	2,904	4,568
Rato2EscânerLaserGrupo3	6,814	4,498
Rato3EscânerLaserGrupo3	6,037	3,555
Rato4EscânerLaserGrupo3	5,443	3,206
Rato5EscânerLaserGrupo3	6,443	2,312
Rato6EscânerLaserGrupo3	5,444	3,146
Rato7EscânerLaserGrupo3	3,726	3,181
Rato8EscânerLaserGrupo3	3,307	3,383
Rato9EscânerLaserGrupo3	3,784	1,896

Anexo 5 - Valores atribuídos ao ruído nos quatro degraus do penetrômetro para cada radiografia na placa 1 do Digora®.

Animal/Método	1º degrau	2º degrau	3º degrau	4º degrau
Rato1Placa1Grupo1	4,114	3,690	3,181	2,834
Rato2Placa1Grupo1	4,204	3,835	3,465	3,034
Rato3Placa1Grupo1	3,595	3,510	3,121	3,041
Rato4Placa1Grupo1	4,108	3,753	3,118	2,822
Rato5Placa1Grupo1	3,983	3,593	3,007	2,881
Rato6Placa1Grupo1	3,591	3,683	2,909	2,891
Rato7Placa1Grupo1	3,966	3,620	3,277	3,086
Rato8Placa1Grupo1	3,939	3,781	3,001	2,855
Rato9Placa1Grupo1	3,951	3,345	3,129	2,859
Rato1Placa1Grupo2	3,981	3,731	3,074	2,949
Rato2Placa1Grupo2	4,257	3,826	2,978	2,970
Rato3Placa1Grupo2	4,000	3,981	3,125	2,600
Rato4Placa1Grupo2	4,220	3,751	3,094	2,818
Rato5Placa1Grupo2	4,011	3,614	3,154	2,827
Rato6Placa1Grupo2	3,985	3,528	3,053	2,974
Rato7Placa1Grupo2	3,826	3,465	2,657	2,896
Rato8Placa1Grupo2	3,857	3,401	3,067	2,844
Rato9Placa1Grupo2	3,802	3,366	3,125	2,488
Rato1Placa1Grupo3	3,770	3,277	2,991	2,521
Rato2Placa1Grupo3	4,320	3,756	3,632	3,170
Rato3Placa1Grupo3	3,965	3,472	3,137	2,735
Rato4Placa1Grupo3	4,051	3,669	3,230	2,855
Rato5Placa1Grupo3	4,193	3,567	2,976	2,620
Rato6Placa1Grupo3	4,175	3,530	2,978	2,828
Rato7Placa1Grupo3	3,826	3,465	2,657	2,896
Rato8Placa1Grupo3	4,046	3,315	3,022	2,892
Rato9Placa1Grupo3	4,089	3,697	3,409	2,924

Anexo 6 - Valores atribuídos ao ruído nos quatro degraus do penetrômetro para cada radiografia na placa 2 do Digora®.

Animal/Método	1º degrau	2º degrau	3º degrau	4º degrau
Rato1Placa2Grupo1	4,102	3,366	3,424	2,925
Rato2Placa2Grupo1	3,730	3,259	3,008	2,923
Rato3Placa2Grupo1	3,846	3,580	3,094	2,817
Rato4Placa2Grupo1	3,812	3,734	3,411	2,704
Rato5Placa2Grupo1	3,650	3,323	2,880	2,670
Rato6Placa2Grupo1	3,761	3,470	3,034	2,703
Rato7Placa2Grupo1	3,954	3,782	3,370	2,667
Rato8Placa2Grupo1	3,871	3,711	2,910	2,642
Rato9Placa2Grupo1	3,863	3,490	3,093	2,750
Rato1Placa2Grupo2	4,024	3,779	3,050	2,811
Rato2Placa2Grupo2	3,871	3,718	3,030	2,710
Rato3Placa2Grupo2	3,819	3,399	2,899	2,672
Rato4Placa2Grupo2	4,294	3,627	3,135	2,784
Rato5Placa2Grupo2	4,194	3,693	3,213	2,671
Rato6Placa2Grupo2	4,033	3,549	2,970	2,489
Rato7Placa2Grupo2	4,565	3,895	3,474	2,973
Rato8Placa2Grupo2	4,377	3,362	3,145	2,595
Rato9Placa2Grupo2	3,850	3,295	3,173	2,666
Rato1Placa2Grupo3	4,021	3,524	2,817	2,533
Rato2Placa2Grupo3	3,944	3,634	3,264	2,865
Rato3Placa2Grupo3	3,625	3,254	3,055	2,832
Rato4Placa2Grupo3	3,767	3,731	3,066	3,049
Rato5Placa2Grupo3	3,747	3,384	2,968	2,569
Rato6Placa2Grupo3	3,862	3,683	3,208	2,882
Rato7Placa2Grupo3	3,833	3,392	3,225	2,897
Rato8Placa2Grupo3	3,674	3,308	3,054	2,679
Rato9Placa2Grupo3	4,185	3,565	3,273	3,037

Anexo 7 - Valores atribuídos ao ruído nos quatro degraus do penetrômetro para cada radiografia no escâner HP Sacnjet 5370c.

Animal/Método	1º degrau	2º degrau	3º degrau	4º degrau
Rato2Escâner 5370cGrupo1	2,988	2,625	1,817	1,663
Rato3Escâner 5370cGrupo1	3,040	2,570	1,947	1,942
Rato4Escâner 5370cGrupo1	3,075	2,228	1,937	1,608
Rato5Escâner 5370cGrupo1	3,035	2,257	1,941	1,508
Rato6Escâner 5370cGrupo1	2,710	2,544	1,915	1,631
Rato7Escâner 5370cGrupo1	2,950	2,255	1,808	1,428
Rato8Escâner 5370cGrupo1	2,990	2,398	1,671	1,215
Rato9Escâner 5370cGrupo1	3,186	2,457	1,698	0,994
Rato1Escâner 5370cGrupo2	3,186	2,457	1,698	0,994
Rato2Escâner 5370cGrupo2	3,057	2,528	2,064	1,067
Rato3Escâner 5370cGrupo2	3,163	2,598	1,589	1,231
Rato4Escâner 5370cGrupo2	2,968	2,303	1,876	0,927
Rato5Escâner 5370cGrupo2	3,026	2,308	1,914	1,556
Rato6Escâner 5370cGrupo2	2,987	2,391	2,114	1,326
Rato7Escâner 5370cGrupo2	2,929	2,344	1,860	1,478
Rato8Escâner 5370cGrupo2	2,849	2,527	1,901	1,154
Rato9Escâner 5370cGrupo2	2,885	2,627	1,786	1,064
Rato1Escâner 5370cGrupo3	3,104	2,336	1,829	0,980
Rato2Escâner 5370cGrupo3	3,054	2,716	2,039	1,591
Rato3Escâner 5370cGrupo3	3,230	2,777	2,035	1,449
Rato4Escâner 5370cGrupo3	2,878	3,050	1,884	1,119
Rato5Escâner 5370cGrupo3	3,305	2,514	1,971	1,659
Rato6Escâner 5370cGrupo3	3,283	2,515	2,242	1,670
Rato7Escâner 5370cGrupo3	2,933	2,454	1,727	1,674
Rato8Escâner 5370cGrupo3	2,946	2,494	2,066	1,474
Rato9Escâner 5370cGrupo3	2,724	2,614	1,823	1,388
Rato1Escâner 5370cGrupo1	2,996	2,370	1,883	1,271

Anexo 8 - Valores atribuídos ao ruído nos quatro degraus do penetrômetro para cada radiografia no escâner PowerLook II.

Animal/Método	1º degrau	2º degrau	3º degrau	4º degrau
Rato1EscânerPowerLookIIGrupo1	3,066	1,825	1,122	1,073
Rato2EscânerPowerLookIIGrupo1	2,667	1,752	1,089	2,925
Rato3EscânerPowerLookIIGrupo1	4,668	2,331	1,399	0,826
Rato4EscânerPowerLookIIGrupo1	3,059	1,592	1,076	0,709
Rato5EscânerPowerLookIIGrupo1	3,288	1,621	1,065	0,712
Rato6EscânerPowerLookIIGrupo1	4,016	1,444	1,380	0,809
Rato7EscânerPowerLookIIGrupo1	4,258	1,559	1,457	0,839
Rato8EscânerPowerLookIIGrupo1	2,611	2,171	1,156	1,114
Rato9EscânerPowerLookIIGrupo1	1,629	1,379	1,169	0,953
Rato1EscânerPowerLookIIGrupo2	3,503	1,582	0,964	0,694
Rato2EscânerPowerLookIIGrupo2	2,158	1,586	0,964	0,754
Rato3EscânerPowerLookIIGrupo2	2,792	1,797	1,079	0,911
Rato4EscânerPowerLookIIGrupo2	2,414	1,999	1,204	0,977
Rato5EscânerPowerLookIIGrupo2	2,538	1,473	1,323	0,908
Rato6EscânerPowerLookIIGrupo2	2,922	1,622	1,144	0,791
Rato7EscânerPowerLookIIGrupo2	2,642	2,165	1,208	0,845
Rato8EscânerPowerLookIIGrupo2	2,651	1,664	1,050	0,653
Rato9EscânerPowerLookIIGrupo2	1,738	1,454	1,060	0,705
Rato1EscânerPowerLookIIGrupo3	3,289	1,882	1,294	0,913
Rato2EscânerPowerLookIIGrupo3	3,913	1,732	1,142	0,663
Rato3EscânerPowerLookIIGrupo3	3,158	2,466	1,186	0,780
Rato4EscânerPowerLookIIGrupo3	5,044	2,498	1,657	0,923
Rato5EscânerPowerLookIIGrupo3	3,086	2,420	1,411	1,207
Rato6EscânerPowerLookIIGrupo3	3,581	2,133	1,296	0,958
Rato7EscânerPowerLookIIGrupo3	5,899	2,885	2,205	0,980
Rato8EscânerPowerLookIIGrupo3	4,268	1,758	1,513	0,948
Rato9EscânerPowerLookIIGrupo3	2,194	1,728	1,123	0,847

Anexo 9 - Valores atribuídos ao ruído nos quatro degraus do penetrômetro para cada radiografia no escâner a laser Lumiscan.

Animal/Método	1º degrau	2º degrau	3º degrau	4º degrau
Rato1EscânerLaserGrupo1	0,588	0,609	0,921	1,776
Rato2EscânerLaserGrupo1	0,444	0,758	1,706	1,770
Rato3EscânerLaserGrupo1	0,403	0,445	1,216	1,745
Rato4EscânerLaserGrupo1	0,313	0,526	0,640	1,700
Rato5EscânerLaserGrupo1	0,869	0,936	0,794	1,280
Rato6EscânerLaserGrupo1	0,533	0,811	0,859	1,341
Rato7EscânerLaserGrupo1	0,813	0,800	1,127	2,129
Rato8EscânerLaserGrupo1	0,951	0,394	0,647	0,263
Rato9EscânerLaserGrupo1	0,230	0,527	0,535	1,590
Rato1EscânerLaserGrupo2	0,461	0,844	1,194	1,783
Rato2EscânerLaserGrupo2	0,596	0,601	0,935	2,126
Rato3EscânerLaserGrupo2	0,524	0,607	1,206	1,623
Rato4EscânerLaserGrupo2	0,632	0,714	1,008	2,033
Rato5EscânerLaserGrupo2	0,607	0,873	0,985	2,008
Rato6EscânerLaserGrupo2	0,623	0,507	1,094	1,522
Rato7EscânerLaserGrupo2	0,497	0,718	1,491	1,592
Rato8EscânerLaserGrupo2	0,494	0,676	0,952	1,759
Rato9EscânerLaserGrupo2	0,495	0,681	0,739	2,321
Rato1EscânerLaserGrupo3	1,738	0,688	1,057	1,074
Rato2EscânerLaserGrupo3	0,524	0,653	0,883	1,765
Rato3EscânerLaserGrupo3	0,373	0,537	0,811	1,434
Rato4EscânerLaserGrupo3	0,669	0,751	0,768	1,164
Rato5EscânerLaserGrupo3	0,681	0,508	1,060	1,233
Rato6EscânerLaserGrupo3	0,574	0,565	0,505	0,884
Rato7EscânerLaserGrupo3	0,758	0,688	0,659	1,816
Rato8EscânerLaserGrupo3	0,656	0,673	0,636	1,937
Rato9EscânerLaserGrupo3	0,530	0,665	0,861	1,175

Anexo 10 – Coeficiente de variabilidade de valor de pixel da ROIs dos lados teste e controle nos três grupos experimentais estudados, para cada um dos métodos de digitalização empregado.

Método	Grupo	CV - teste	CV - controle
Digora – Placa 1	I	5,522	7,598
Digora – Placa 1	II	7,535	6,510
Digora – Placa 1	III	6,003	6,000
Digora – Placa 2	I	5,308	6,486
Digora – Placa 2	II	5,016	4,904
Digora – Placa 2	III	8,284	3,571
Escâner 5370c	I	3,636	2,769
Escâner 5370c	II	4,138	3,780
Escâner 5370c	III	3,565	1,968
Escâner PowerLook	I	5,573	5,403
Escâner PowerLook	II	3,080	5,169
Escâner PowerLook	III	7,260	4,908
Escâner Lumiscan	I	7,386	5,150
Escâner Lumiscan	II	5,849	4,124
Escâner Lumiscan	III	3,442	4,323

Anexo 11 - Coeficiente de variabilidade de valor de pixel da região de controle do penetrômetro nos três grupos experimentais estudados, para cada um dos métodos de digitalização empregado.

Método	Grupo	Penetrômetro
Digora – Placa 1	I	8,974
Digora – Placa 1	II	7,067
Digora – Placa 1	III	7,268
Digora – Placa 2	I	8,399
Digora – Placa 2	II	4,939
Digora – Placa 2	III	6,425084
Escâner 5370c	I	4,026
Escâner 5370c	II	2,254171
Escâner 5370c	III	5,226119
Escâner PowerLook	I	9,140462
Escâner PowerLook	II	7,928204
Escâner PowerLook	III	10,41865
Escâner Lumiscan	I	1,109298
Escâner Lumiscan	II	2,134095
Escâner Lumiscan	III	3,330035

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA

FOB
USP

Referências

Bibliográficas

Referências Bibliográficas

1. Anan H, Akamine A, Hara Y, Maeda K, Hashiguchi I, Aono M. A histochemical study of bone remodeling during experimental apical periodontitis in rats. *J Endod* 1991;17(7):332-7.
2. Anan H, Akamine A, Maeda K. An enzyme histochemical study of the behavior of rat bone cells during experimental apical periodontitis. *J Endod* 1993;19(2):83-6.
3. Angmar-Mansson B, ten Bosch JJ. Advances in methods for diagnosing coronal caries--a review. *Adv Dent Res* 1993;7(2):70-9.
4. Araki K, Endo A, Okano T. An objective comparison of four digital intra-oral radiographic systems: sensitometric properties and resolution. *Dentomaxillofac Radiol* 2000;29(2):76-80.
5. Attaelmanan A, Borg E, Grondahl HG. Digitisation and display of intra-oral films. *Dentomaxillofac Radiol* 2000;29(2):97-102.
6. Barkhordar RA, Hussain MZ, Hayashi C. Detection of interleukin-1 beta in human periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992;73(3):334-6.
7. Blake GM, McKeeney DB, Chhaya SC, Ryan PJ, Fogelman I. Dual energy x-ray absorptiometry: the effects of beam hardening on bone density measurements. *Med Phys* 1992;19(2):459-65.
8. Borg E, Grondahl K, Grondahl HG. Marginal bone level buccal to mandibular molars in digital radiographs from charge-coupled device and storage phosphor systems. An in vitro study. *J Clin Periodontol* 1997;24(5):306-12.

9. Bruntz LQ, Palomo JM, Baden S, Hans MG. A comparison of scanned lateral cephalograms with corresponding original radiographs. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;130(3):340-8.
10. Burstone MS, Levy BM. The production of experimental apical granulomata in the Syrian hamster. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1950;3(6):807-11.
11. Camps J, Pommel L, Bukiet F. Evaluation of periapical lesion healing by correction of gray values. *J Endod* 2004;30(11):762-6.
12. Casati LA, Tavano O, Freitas JAS. Estudo comparativo entre alguns materiais como substitutos para o tecido mole, no qual concerne à absorção de Raios X e emissão de radiação secundária. *Estomatologia & Cultura* 1969;3(2):153-66.
13. Cook JE, Cunningham JL. The assessment of fracture healing using dual x-ray absorptiometry: a feasibility study using phantoms. *Phys Med Biol* 1995;40(1):119-36.
14. Dagenais ME, Clark BG. Receiver operating characteristics of RadioVisioGraphy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995;79(2):238-45.
15. Damante JH, de Carvalho PV. [Radiographic interpretation of experimentally produced bone lesions in dry human mandible (1)]. *Rev Odontol Univ Sao Paulo* 1988;2(3):131-8.
16. Davidson HC, Johnston DJ, Christian ME, Harnsberger HR. Comparison of radiographic image quality from four digitization devices as viewed on computer monitors. *J Digit Imaging* 2001;14(1):24-9.

17. Delaisse JM, Eeckhout Y, Neff L, Francois-Gillet C, Henriet P, Su Y, et al. (Pro)collagenase (matrix metalloproteinase-1) is present in rodent osteoclasts and in the underlying bone-resorbing compartment. *J Cell Sci* 1993;106 (Pt 4):1071-82.
18. Delano EO, Ludlow JB, Orstavik D, Tyndall D, Trope M. Comparison between PAI and quantitative digital radiographic assessment of apical healing after endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;92(1):108-15.
19. Delano EO, Tyndall D, Ludlow JB, Trope M, Lost C. Quantitative radiographic follow-up of apical surgery: a radiometric and histologic correlation. *J Endod* 1998;24(6):420-6.
20. Escarpinati MC, Costa Vieira MA, Schiabel H. Computer technique for digital radiographic images correction based on the digitizer characteristic curve. *J Digit Imaging* 2002;15 Suppl 1:228-30.
21. Farman AG, Scarfe WC. Pixel perception and voxel vision: constructs for a new paradigm in maxillofacial imaging. *Dentomaxillofac Radiol* 1994;23(1):5-9.
22. Farman AG, Scarfe WC, Schick DB, Rumack PM. Computed dental radiography: evaluation of a new charge-coupled device-based intraoral radiographic system. *Quintessence Int* 1995;26(6):399-404.
23. Ferreira RI, Haiter-Neto F, Tabchoury CP, de Paiva GA, Boscolo FN. Assessment of enamel demineralization using conventional, digital, and digitized radiography. *Pesqui Odontol Bras* 2006;20(2):114-9.
24. Freitas P, Yaedu RY, Rubira-Bullen IR, Escarpinati M, Vieira MC, Schiabel H, et al. Reproducibility of pixel values for two photostimulable phosphor plates in consecutive standardized scanings. *Pesqui Odontol Bras* 2006;20(3):207-13.

25. Fulton W. A few scanning tips. USA; 2004.
26. Genvert H, Miller H, Burn CG. Experimental Production of Apical Lesions of Teeth in Monkeys, and Their Relation to Systemic Disease. *Yale J Biol Med* 1940-41;13:649-662.
27. Goga R, Chandler NP, Love RM. Clarity and diagnostic quality of digitized conventional intraoral radiographs. *Dentomaxillofac Radiol* 2004;33(2):103-7.
28. Grondahl HG. Digital radiology in dental diagnosis: a critical view. *Dentomaxillofac Radiol* 1992;21(4):198-202.
29. Gundappa M, Ng SY, Whaites EJ. Comparison of ultrasound, digital and conventional radiography in differentiating periapical lesions. *Dentomaxillofac Radiol* 2006;35(5):326-33.
30. Gurdal P, Akdeniz BG. Comparison of two methods for radiometric evaluation of resin-based restorative materials. *Dentomaxillofac Radiol* 1998;27(4):236-9.
31. Haak R, Wicht MJ. Caries detection and quantification with DIAGNOdent: prospects for occlusal and root caries? *Int J Comput Dent* 2004;7(4):347-58.
32. Haiter Neto F, Oliveira AE, Tuji FM, Rocha AS. Estágio Atual da Radiografia Digital. *Revista da ABRO* 2000;1(3):01-06.
33. Hamachi T, Anan H, Akamine A, Fujise O, Maeda K. Detection of interleukin-1 beta mRNA in rat periapical lesions. *J Endod* 1995;21(3):118-21.
34. Hangiandreou NJ, O'Connor TJ, Felmlee JP. An evaluation of the signal and noise characteristics of four CCD-based film digitizers. *Med Phys* 1998;25(10):2020-6.

35. Hata K, Kukita T, Akamine A, Kukita A, Kurisu K, Iijima T. A novel monoclonal antibody recognizing a unique antigen of rat osteoclasts induced by the calcified matrices. *Histochemistry* 1994;101(5):347-54.
36. Hayakawa Y, Farman AG, Kelly MS, Kuroyanagi K. Intraoral radiographic storage phosphor image mean pixel values and signal-to-noise ratio: effects of calibration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;86(5):601-5.
37. Hildebolt CF, Fletcher G, Yokoyama-Crothers N, Conover GL, Vannier MW. A comparison of the response of storage phosphor and film radiography to small variations in X-ray exposure. *Dentomaxillofac Radiol* 1997;26(3):147-51.
38. Hildebolt CF, Rupich RC, Vannier MW, Zerbolio DJ, Jr., Shrout MK, Cohen S, et al. Inter-relationships between bone mineral content measures. Dual energy radiography (DER) and bitewing radiographs (BWV). *J Clin Periodontol* 1993;20(10):739-45.
39. Hill TJ. Experimental Dental Granulomas in Dogs. *J Am Dent Assoc* 1932;19:1389-98.
40. Hintze H, Wenzel A, Frydenberg M. Accuracy of caries detection with four storage phosphor systems and E-speed radiographs. *Dentomaxillofac Radiol* 2002;31(3):170-5.
41. Holtzmann DJ, Johnson WT, Southard TE, Khademi JA, Chang PJ, Rivera EM. Storage-phosphor computed radiography versus film radiography in the detection of pathologic periradicular bone loss in cadavers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;86(1):90-7.
42. Horner K, Shearer AC, Walker A, Wilson NH. Radiovisiography: an initial evaluation. *Br Dent J* 1990;168(6):244-8.

43. Jett S, Shrout MK, Mailhot JM, Potter BJ, Borke JL. An evaluation of the origin of trabecular bone patterns using visual and digital image analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;98(5):598-604.
44. Kaeppler G, Dietz K, Reinert S. The effect of dose reduction on the detection of anatomical structures on panoramic radiographs. *Dentomaxillofac Radiol* 2006;35(4):271-7.
45. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;20:340-9.
46. Kashima I. Computed radiography with photostimulable phosphor in oral and maxillofacial radiology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995;80(5):577-98.
47. Kerosuo E, Orstavik D. Application of computerised image analysis to monitoring endodontic therapy: reproducibility and comparison with visual assessment. *Dentomaxillofac Radiol* 1997;26(2):79-84.
48. Khademi JA. Digital images & sound. *J Dent Educ* 1996;60(1):41-6.
49. Krepel CJ, Gohr CM, Edmiston CE, Jr., Farmer SG. Anaerobic pathogenesis: collagenase production by *Peptostreptococcus magnus* and its relationship to site of infection. *J Infect Dis* 1991;163(5):1148-50.
50. Kullendorff B, Nilsson M. Diagnostic accuracy of direct digital dental radiography for the detection of periapical bone lesions. II. Effects on diagnostic accuracy after application of image processing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;82(5):585-9.
51. Laskey MA, Lyttle KD, Flaxman ME, Barber RW. The influence of tissue depth and composition on the performance of the Lunar dual-energy X-ray absorptiometer whole-body scanning mode. *Eur J Clin Nutr* 1992;46(1):39-45.

52. Lauris JRP, Costa ET, Boscolo FN. Radiografia odontológica digitalizada: Técnicas dos principais processamentos digitais. *Revista da ABRO* 2001;2(1).
53. Leonardo MR, Silva LAB. Filosofia do tratamento de canais radiculares Necropulpectomia: Conceituação. In: Leonardo MR, editor. *Endodontia Tratamento de canais radiculares - Princípios técnicos e Biológicos*. São Paulo: Artes Médicas; 2005. p. 123-66.
54. Lim KF, Loh EEM, Hong HY. Quatitative Assessment of a New Intra-Oral Digital Imaging System. *J Dent Res (IADR Abstracts)* 1995;74:463.
55. Martins MG, Whaites EJ, Ambrosano GM, Haiter Neto F. What happens if you delay scanning Digora phosphor storage plates (PSPs) for up to 4 hours? *Dentomaxillofac Radiol* 2006;35(3):143-6.
56. Matsuda Y, Okano T, Igeta A, Seki K. Accuracy of intraoral digital radiography in detecting incipient proximal caries. *J Dent Res (IADR Abstracts)* 1995;74:463.
57. Medeiros AMC, Navarro JAC. Interpretação radiográfica de defeitos ósseos experimentais produzidos em mandíbulas humanas. I – no septo interdental. *Estomatologia & Cultura* 1983;12(2):34-9.
58. Meier AW, Brown CE, Miles DA, Analoui M. Interpretation of chemically created periapical lesions using direct digital imaging. *J Endod* 1996;22(10):516-20.
59. Mol A, van der Stelt PF. Locating the periapical region in dental radiographs using digital image analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;75(3):373-82.
60. Molteni R. Direct digital dental x-ray imaging with visualix/VIXA. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;76(2):235-43.

61. Molven O, Olsen I, Kerekes K. Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. *Endod Dent Traumatol* 1991;7(5):226-9.
62. Mouyen F, Benz C, Sonnabend E, Lodter JP. Presentation and physical evaluation of RadioVisioGraphy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989;68(2):238-42.
63. Moystad A, Svanaes DB, Larheim TA, Grondahl HG. Effect of image magnification of digitized bitewing radiographs on approximal caries detection: an in vitro study. *Dentomaxillofac Radiol* 1995;24(4):255-9.
64. Moystad A, Svanaes DB, Risnes S, Larheim TA, Grondahl HG. Detection of approximal caries with a storage phosphor system. A comparison of enhanced digital images with dental X-ray film. *Dentomaxillofac Radiol* 1996;25(4):202-6.
65. Nair MK, Ludlow JB, Tyndall DA, Platin E, Denton G. Periodontitis detection efficacy of film and digital images. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85(5):608-12.
66. Nelvig P, Wing K, Welanders U. Sens-A-Ray. A new system for direct digital intraoral radiography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992;74(6):818-23.
67. Ohki M, Okano T, Nakamura T. Factors determining the diagnostic accuracy of digitized conventional intraoral radiographs. *Dentomaxillofac Radiol* 1994;23(2):77-82.
68. Oliveira AE, de Almeida SM, Paganini GA, Haiter Neto F, Boscolo FN. Comparative study of two digital radiographic storage phosphor systems. *Braz Dent J* 2000;11(2):111-6.

69. Orstavik D, Farrants G, Wahl T, Kerekes K. Image analysis of endodontic radiographs: digital subtraction and quantitative densitometry. *Endod Dent Traumatol* 1990;6(1):6-11.
70. Orstavik D, Kerekes K, Eriksen HM. The periapical index: a scoring system for radiographic assessment of apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol* 1986;2(1):20-34.
71. Otis LL, Sherman RG. Assessing the accuracy of caries diagnosis via radiograph. Film versus print. *J Am Dent Assoc* 2005;136(3):323-30.
72. Pietrobelli A, Formica C, Wang Z, Heymsfield SB. Dual-energy X-ray absorptiometry body composition model: review of physical concepts. *Am J Physiol* 1996;271(6 Pt 1):E941-51.
73. Ramalho LMP, Sarmento VA, Spohr AM, Lof AS, Nilza PC. Mensuração da densidade óptica de áreas de imagens radiográficas - comparação entre um sistema digital direto e um indireto. *Rev Odontol Univ Santo Amaro* 1999;4(2):48-50.
74. Reis LFG. Análise dos níveis de cinza do corpo mandibular obtidos de radiografias digitalizadas com filmes ultra-speed e insight: estudo in vitro [Doutorado]. Porto Alegre: Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. ; 2001.
75. Ricucci D, Mannocci F, Ford TR. A study of periapical lesions correlating the presence of a radiopaque lamina with histological findings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):389-94.
76. Rubira-Bullen IR. Avaliação do processo de digitalização de três equipamentos por meio dos valores de pixels atribuídos a uma imagem radiográfica [Livre Docência]. Bauru: Universidade de São Paulo; 2004.

77. Ruttimann UE, Webber RL, Schmidt E. A robust digital method for film contrast correction in subtraction radiography. J Periodontal Res 1986;21(5):486-95.
78. Sanderink GC. Imaging: new versus traditional technological aids. Int Dent J 1993;43(4):335-42.
79. Sarmento VA. Estudo de alterações estruturais na região periapical de incisivos comprometidos endodonticamente - avaliação através de imagens digitalizadas. [Mestrado]. Salvador: Universidade Federal da Bahia; 1997.
80. Sarmento VA. Proposta para diagnóstico radiofráfico de alterações pulpares através da determinação do nível de cinza apical sobre imagens digitalizadas - estudo experimental em ratos [Doutorado]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do rio Grande do Sul; 2000.
81. Sarmento VA, Pretto SM. Diagnóstico radiográfico de alterações periapicais de origem endodôntica do nível de cinza em imagens digitais - estudo experimental em ratos. RPG 2003;10:333-45.
82. Sarmento VA, Pretto SM, Costa NP. Entendendo a imagem digitalizada. Rev Odonto Ciência 1999;14(27):171-8.
83. Sarmento VA, Rubira IR. Mensuração da densidade óptica apical – uma proposta para diagnóstico diferencial em endodontia. J Bras Odont Clin 1998;2(12):65-8.
84. Schmitd LB. Avaliação radiográfica da reabsorção óssea periodontal por meio de valor de pixel e comparação com análise histopatológica [Dissertação de Mestrado]. Bauru: Universidade de São Paulo; 2005.

85. Shimauchi H, Takayama S, Narikawa-Kiji M, Shimabukuro Y, Okada H. Production of interleukin-8 and nitric oxide in human periapical lesions. *J Endod* 2001;27(12):749-52.
86. Shrout MK, Hall JM, Hildebolt CE. Differentiation of periapical granulomas and radicular cysts by digital radiometric analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;76(3):356-61.
87. Shrout MK, Jett S, Mailhot JM, Potter BJ, Borke JL, Hildebolt CF. Digital image analysis of cadaver mandibular trabecular bone patterns. *J Periodontol* 2003;74(9):1342-7.
88. Shrout MK, Potter BJ, Yurgalavage HM, Hildebolt CF, Vannier MW. 35-mm film scanner as an intraoral dental radiograph digitizer. I: A quantitative evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;76(4):502-9.
89. Siqueira JF, Jr. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;94(3):281-93.
90. Soh G, Loh FC, Chong YH. Radiation dosage of a dental imaging system. *Quintessence Int* 1993;24(3):189-91.
91. Soredex. Digora - installation, setup, and user's guide. Helsinki. 1995.
92. Southard TE, Wunderle DM, Southard KA, Jakobsen JR. Geometric and densitometric standardization of intraoral radiography through use of a modified XCP system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999;87(2):253-7.
93. Souza PH, Costa NP, Puppin AAC. Análise óptica da densidade óssea retromolar mandibular por meio de imagens digitalizadas, utilizando simuladores de tecidos moles. *Revista Odonto Ciência* 1999(28):27-53.

94. Stahl SS. Response of the periodontium, pulp, and salivary glands to gingival and tooth injury in young adult male rats. II. Pulp and periapical tissues. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1960;13:734-42.
95. Stahl SS, Miller SC, Goldsmith ED. The influence of occlusal trauma and protein deprivation on the response of periapical tissues following pulpal exposures in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1958;11(5):536-40.
96. Stamatakis HC, Welander U, McDavid WD. Physical properties of a photostimulable phosphor system for intra-oral radiography. *Dentomaxillofac Radiol* 2000;29(1):28-34.
97. Svanaes DB, Moystad A, Risnes S, Larheim TA, Grondahl HG. Intraoral storage phosphor radiography for approximal caries detection and effect of image magnification: comparison with conventional radiography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;82(1):94-100.
98. Tagger M, Massler M. Periapical tissue reactions after pulp exposure in rat molars. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1975;39(2):304-17.
99. Teixeira RCT, Rubira-Bullen IRF, Rubira CMF, Escarpinati MC, Schiabel H. Avaliação da reprodutibilidade do valor de pixel no sistema Digora. *Brazilian Oral Research (Proceedings of the 23rd Annual SBPqO Meeting)* 2006;20:197.
100. Tyndall DA, Ludlow JB, Platin E, Nair M. A comparison of Kodak Ektaspeed Plus film and the Siemens Sidexis digital imaging system for caries detection using receiver operating characteristic analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85(1):113-8.
101. Vandre RH, Webber RL. Future trends in dental radiology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995;80(4):471-8.

102. Velders XL, Sanderink GC, van der Stelt PF. Dose reduction of two digital sensor systems measuring file lengths. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;81(5):607-12.
103. Versteeg CH, Sanderink GC, van der Stelt PF. Efficacy of digital intra-oral radiography in clinical dentistry. *J Dent* 1997;25(3-4):215-24.
104. Wang CY, Stashenko P. Characterization of bone-resorbing activity in human periapical lesions. *J Endod* 1993;19(3):107-11.
105. Watanabe PCA, Tanaka EE, Fenyo-Pereira M, Panella J. Estado atual da arte da imagem digital em Odontologia. *Revista da APCD* 1999;53(4):320-24.
106. Welander U, McDavid WD, Sanderink GC, Tronje G, Morner AC, Dove SB. Resolution as defined by line spread and modulation transfer functions for four digital intraoral radiographic systems. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;78(1):109-15.
107. Welander U, Nelvig P, Tronje G, McDavid WD, Dove SB, Morner AC, et al. Basic technical properties of a system for direct acquisition of digital intraoral radiographs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;75(4):506-16.
108. Wenzel A. Digital radiography and caries diagnosis. *Dentomaxillofac Radiol* 1998;27(1):3-11.
109. Wenzel A. Sensor noise in direct digital imaging (the RadioVisioGraphy, Sens-a-Ray, and Visualix/Vixa systems) evaluated by subtraction radiography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;77(1):70-4.
110. Wenzel A, Hintze H. Perception of image quality in direct digital radiography after application of various image treatment filters for detectability of dental disease. *Dentomaxillofac Radiol* 1993;22(3):131-4.

111. Westphalen VP, Gomes de Moraes I, Westphalen FH, Martins WD, Souza PH. Conventional and digital radiographic methods in the detection of simulated external root resorptions: a comparative study. *Dentomaxillofac Radiol* 2004;33(4):233-5.
112. White SC, Hollender L, Gratt BM. Comparison of xeroradiographs and film for detection of periapical lesions. *J Dent Res* 1984;63(6):910-3.
113. White SC, Sapp JP, Seto BG, Mankovich NJ. Absence of radiometric differentiation between periapical cysts and granulomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;78(5):650-4.
114. Woolhiser GA, Brand JW, Hoen MM, Geist JR, Pikula AA, Pink FE. Accuracy of film-based, digital, and enhanced digital images for endodontic length determination. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;99(4):499-504.
115. Yamasaki M, Kumazawa M, Kohsaka T, Nakamura H, Kameyama Y. Pulpal and periapical tissue reactions after experimental pulpal exposure in rats. *J Endod* 1994;20(1):13-7.
116. Yoshimura A, Hara Y, Kaneko T, Kato I. Secretion of IL-1 beta, TNF-alpha, IL-8 and IL-1ra by human polymorphonuclear leukocytes in response to lipopolysaccharides from periodontopathic bacteria. *J Periodontal Res* 1997;32(3):279-86.
117. Zárade-Pereira P, Oda M. Diagnóstico de cárie dentária: considerações comparativas entre métodos. *RPG* 2000;7(2):178-183.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE ESTOMATOLOGIA

FOB
USP

Abstract

Abstract

Radiographic and histopathologic evaluation of pulpal inflammation and periapical bone resorption induced in Wistar mice

The goal of this study was to assess periapical bone loss sites, experimentally created, radiographically, by measuring pixel values. In order to reach this goal, 27 Wistar mice were subjected to right first molar coronal opening. The left inferior molar was used as control and the right as experimental sides. The mice were sacrificed after operatory procedures and radiographs were taken within 2, 15 and 30 days (groups I, II, III, respectively), in order to observe pulpitis, lately, pulpal necrosis and periapical bone resorption. The 27 animals' hemimandible were radiographed using films size 2 and two photostimulable phosphor plates from Digora® system. Conventional radiographs were digitized using three scanners. The hemimandibles were decalcified by EDTA, and cut into 5µm slices for microscopic analysis of the tooth pulpal and periapical status. The mean pixel values in control and disease areas were measured by ImageJ® software. The statistical analysis (paired T test) showed meaningful difference between pixels values from test and control areas in all of the experimental groups for both plates, and between groups II and III for the scanners. The microscopic analysis revealed the disease evolution from pulpitis to bone resorption along the experimental groups (two way ANOVA). The same evolution was not showed by the radiographic analysis using pixel values. According to the results, pixel value analysis may be used to distinguish between test and control sides. This analysis was not able to show variations among the

experimental groups. Microscopic analysis showed periapical disease evolution from pulpal necrosis to periapical bone reabsorption.

Keywords: Image diagnosis. Digora. Periapical lesion