

### 3.7.1 Avaliação histopatológica

Com a finalidade de obtenção de dados histopatológicos para a avaliação de neoformação óssea, as amostragens para análise *postmortem* foram retiradas de um segmento contendo a sutura envolvida com as margens ósseas anteriores e posteriores. Foi feita uma osteotomia com broca de 1,8 mm de diâmetro e separada a calota craniana, mantendo sua continuidade com a dura-máter (Figura 40).

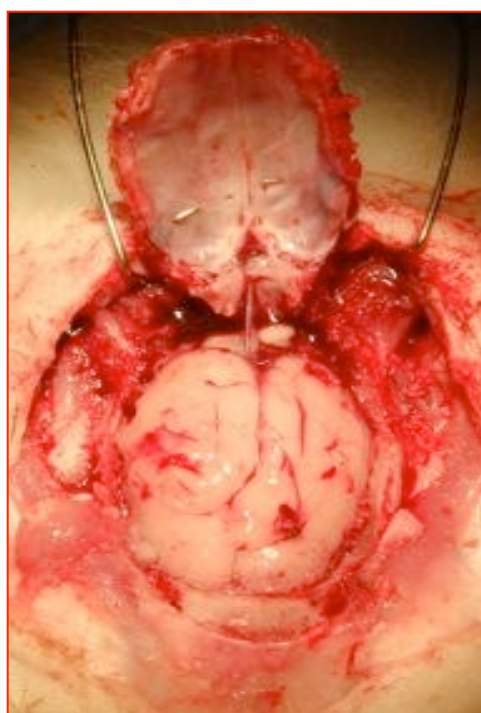


Figura 40. Imagem da retirada da calota craniana envolvendo a área de implantação dos amálgamas e da colocação da mola

#### 3.7.1.1 Preparo do material para avaliação histopatológica

Os fragmentos foram levados em solução de formol a 10 % à Disciplina de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da USP, onde foram fixados em solução de formol tamponado a 10 % e descalcificados com ácido fórmico a 5 %. O material foi desidratado em concentrações crescentes de etanol, diafanizado em xilol e incluído em parafina. Uma série de secções do tecido foi cortada perpendicularmente à linha de osteotomia com 5 µm. Foi composta de cortes com uma visão cranial e outra caudal da secção transversa da distância intermediária entre M2 e M3, coincidente com o apoio da mola. A análise histopatológica foi feita com o material corado pelo método de hematoxilina-eosina (HE).

### **3.7.1.2 Parâmetros analisados**

A avaliação histopatológica foi realizada em microscópio Zeiss®, modelo Axio Imager A1, com aumento de 100 X pela patologista, nas áreas de interesse. Optou-se pela avaliação dos seguintes parâmetros:

- Tecido de granulação
- Osteoblastos
- Osteoclastos
- Trabéculas ósseas

Os parâmetros foram avaliados com a seguinte graduação:

- (-) ausência

- (+) pouco/escasso
- (++) moderado
- (+++) abundante

Para o tecido de granulação e as trabéculas ósseas, a avaliação considerou:

- (+) até 25% do defeito
- (++) até 50% do defeito
- (+++) mais de 50% do defeito

### **3.7.2 Avaliação Craniométrica**

Para a obtenção de dados craniométricos e para a avaliação da variação do distanciamento entre os marcadores de amálgama, foram realizados exames radiográficos do crânio dos coelhos, nas instalações da Disciplina de Radiologia da Faculdade de Medicina Veterinária da USP. Os animais foram submetidos à anestesia, já descrita anteriormente, a fim de se obter o posicionamento adequado para a realização das projeções radiográficas, com distância padronizada em um metro (Figura 41). Assim, foram posicionados em decúbito ventral, para a obtenção da projeção ventro-dorsal e em decúbito lateral para a projeção lateral.



Figura 41. Imagem do posicionamento do animal para o exame de RX.A: decúbito ventral para a imagem ventro-dorsal e B: decúbito lateral direito

Um marcador de chumbo com marcação de um centímetro foi colocado ao lado do crânio, em cima do pescoço do animal, na mesma distância vertical do aparelho, para servir de calibragem no momento das medições das distâncias entre os amálgamas e padronizar os achados. (Figura 42)

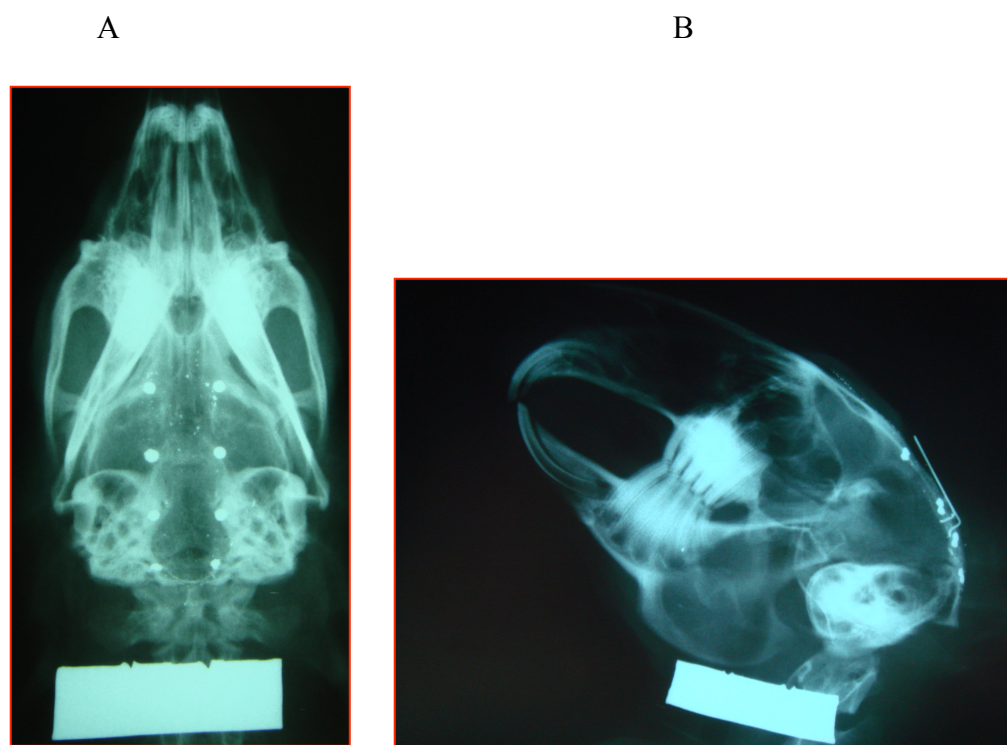


Figura 42. Imagens das incidências radiológicas. A: ventrodorsal e B: lateral

Para realização do exame radiográfico, foi utilizado aparelho de radiodiagnóstico, marca RAY-TEC®, de 500 mA e 125 kV, modelo RT 500/125, comando com sistema microprocessado, gerador retificado com silício em onda completa, mesa radiológica com grade antidifusora e Bucky tipo recipromatic, ampola de Raios-X<sup>1</sup> de anodo giratório. Os filmes radiográficos utilizados, TMS-1 e MXG/PLUS<sup>2</sup>, de tamanho 24 por 30 cm, foram colocados em chassi metálico portando telas intensificadoras CRONEX HI plus<sup>3</sup>. Os filmes foram revelados e fixados em

Processadora Automática RPX-OMAT Processor<sup>4</sup>, após identificação luminosa apropriada.

Todas as medições foram realizadas com a digitalização das imagens e calculadas pelo autor com o programa MIRROR<sup>®</sup> (Canfield Imaging Systems). Foi feita a calibragem métrica a partir do marcador de chumbo e efetuada a medição linear. Nas projeções ventro-dorsais, a medição do distanciamento entre os marcadores de amálgama foi feita utilizando-se como referência o centro dos mesmos nas posições M1, M2, M3 e M4. Na projeção lateral, a definição dos pontos a serem utilizados como referência para as medidas da base do crânio, o seguinte diagrama foi utilizado: (Figura 43 e 44).

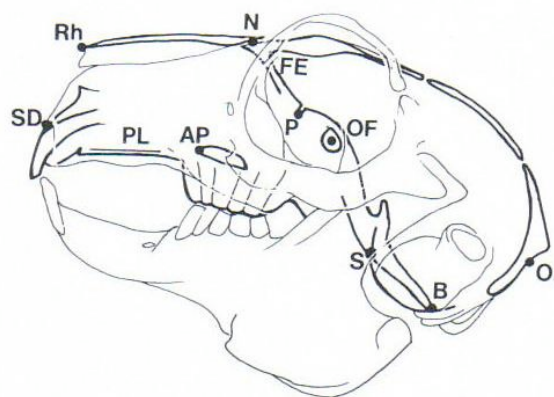


Figura 43. Diagrama esquemático para os pontos craniométricos utilizados na medição do comprimento da base craniana. Onde:

1. FE-P – Comprimento da placa cribiforme (Base craniana anterior);
2. P-S – Comprimento pré-esfenóide;
3. S-B – Comprimento posterior da base do crânio

<sup>1</sup> TOSHIBA

<sup>2</sup> KODAK BRAS. COM. E IND. Ltda.

<sup>3</sup> DU PONT NEMAVES E Co

<sup>4</sup> EASTMAN KODAK COMPANY

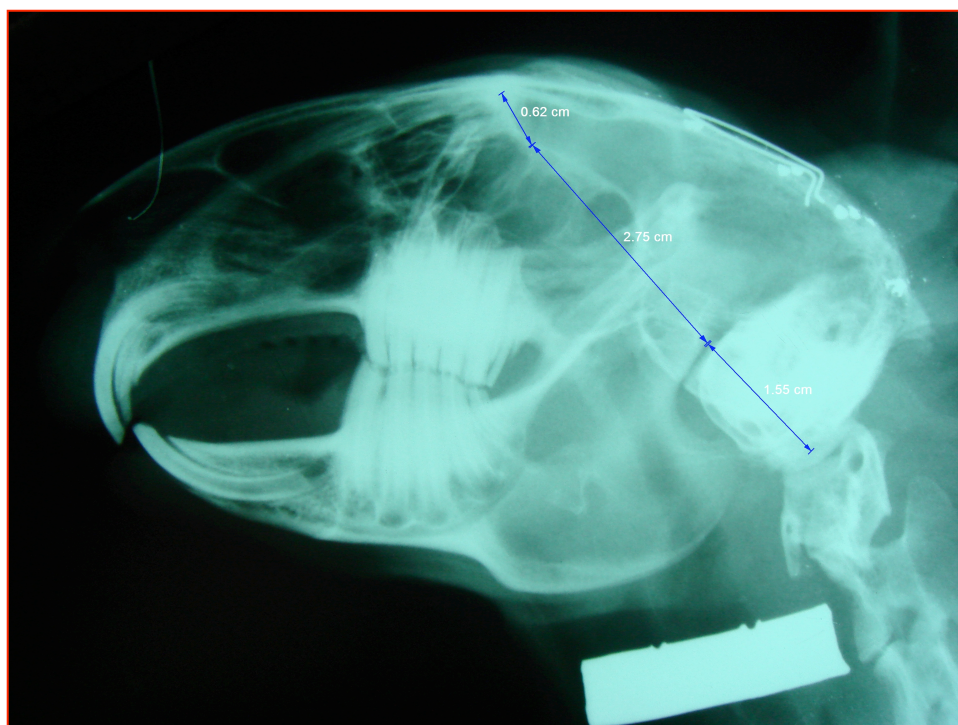


Figura 44. RX com exemplo da medição linear das medidas da base do crânio

Para as medições angulares, na projeção lateral, os seguintes pontos craniométricos foram utilizados (Figura 45 e 46):

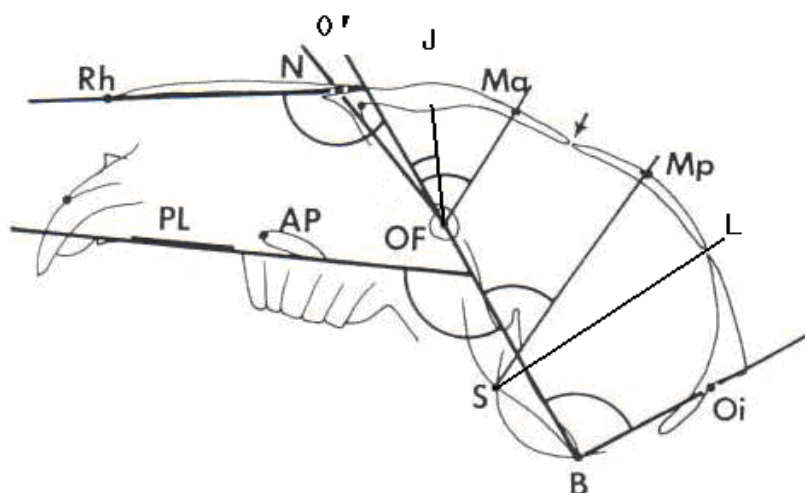


Figura 45. Diagrama esquemático do crânio de coelho, visão lateral, com os pontos cefalométricos e os ângulos. Onde:

- O ponto no centro do forâmen óptico  
 Oi ponto mais profundo no contorno externo do osso occipital entre o forâmen magnum e a protuberância occipital externa  
 Mp ponto mais posterior na marca anterior no osso parietal esquerdo  
 Ma ponto mais anterior na marca posterior no osso frontal esquerdo  
 J extremidade do sulco endocraniano onde o osso frontal separa as fossas anterior e média do crânio  
 S ponto mais profundo na sincondrose esfeno-occipital cartilaginosa  
 PL uma linha tangencial até a borda inferior do palato duro  
 BO' a extensão da linha através dos pontos B e O.

Os seguintes ângulos foram obtidos:

- BO'/PL (ângulo maxilo-basilar) ângulo formado entre e abaixo das linhas BO' e PL  
 BO'/RhN (ângulo rino-basilar) ângulo formado entre e acima das linhas BO' e RhN  
 BO'/NO (ângulo naso-basilar) ângulo formado entre e acima das linhas BO' e NO  
 BO'/JO (ângulo basilar-olfatório) ângulo formado entre e acima das linhas BO' e JO  
 BO'/MaO (ângulo marca anterior-basilar) ângulo formado entre e acima das linhas BO' e MaO  
 BO'/MpS (ângulo marca posterior-basilar) ângulo formado entre e acima das linhas BO' e MpS



BO'/LS (ângulo lambdóide-basilar) ângulo formado entre e acima das linhas BO' e LS  
BO'/BOi (ângulo foramino-basilar) ângulo formado entre e acima das linhas BO' e Boi

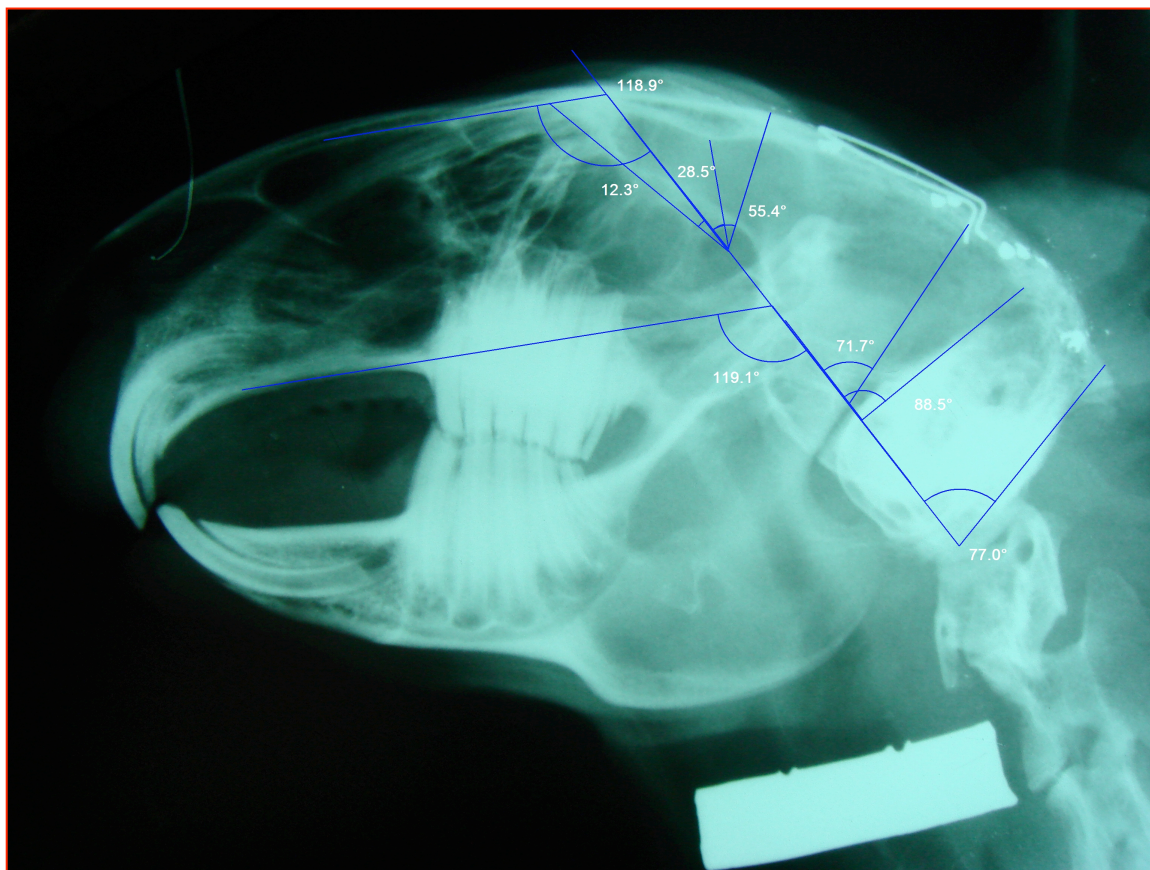


Figura 46. RX com exemplo das medições angulares feitas com o programa de computador MIRROR<sup>®</sup> no coelho G IV 12 semanas.

### **3.7.3 Método de avaliação dos dados**

O desenho de estudo foi observacional descritivo.

Nesse trabalho foram utilizadas também técnicas de Inteligência Artificial, aplicando-se os fundamentos da Lógica Paraconsistente Anotada, para parametrizar e contextualizar as variáveis craniométricas.

#### **3.7.3.1 Metodologia usada para determinação do grau de evidência de anormalidade de uma variável craniométrica**

Quando uma variável de um animal foi inserida em um dos campos, ela foi comparada com uma variável normal de um banco de dados com as médias das variáveis normais, que no presente trabalho, foi considerado as do coelho do grupo I.

A parametrização foi efetuada dentro do intervalo de trabalho da Lógica Paraconsistente, ou seja, foram atribuídos valores entre “0” e “1”. Todas as variáveis normais tiveram valor “1”, e, às variáveis dos animais, foram atribuídos valores proporcionais de acordo com o seguinte critério: se a variável do animal foi igual à variável normal, atribuiu-se um grau de evidência de anormalidade = 0 para esta variável. O grau de evidência de anormalidade, portanto, foi um indicador da discrepância entre a medida da variável do animal e uma variável normal.

O grau de evidência de anormalidade da variável do animal aproximou-se de 1 quando sua medida esteve próxima a três vezes o valor do desvio padrão estipulado para a variável no banco de dados utilizado.

Cada medida angular foi contextualizada com a medida da base do crânio, tendo sido feita, primeiro, a normalização das medidas com a fórmula (2):

$$x = 1 / (1 + (\text{referência} / \text{medida}))^{|\text{medida} - \text{referência}|} \quad (2)$$

Onde:

x – normalização

referência – variável normal

medida – variável medida

Na sequência, foi feita a aplicação da Equação Estrutural Básica da Lógica Paraconsistente (EEB) para contextualizar a medida com a fórmula (3):

$$\mu_r = ((\mu - \lambda) + 1) / 2 \quad (3)$$

Onde:

$\mu_r$  – grau de evidência resultante

$\mu$  - evidência favorável ( $\mu = x$ , será a medida da base craniana).

$\lambda$  - evidência contrária (neste caso  $\lambda = y$ , onde y é a medida normalizada).

### **3.8 Ética**

O projeto foi submetido à apreciação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 20.06.2007, e aprovado sob o protocolo n° 0418/07, apresentado pelo DEPARTAMENTO DE CIRURGIA ( ANEXO Z’’).