

SILVANA PEREIRA BARROS

*este exemplar foi
dividido conforme solicitado
Piracicaba, 03 de julho de 1995
ecp/03/83*

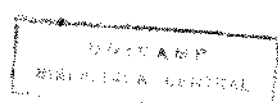
Estudo morfométrico ultraestrutural da matriz extracelular do ligamento periodontal do incisivo inferior de ratos, em diferentes regiões e zonas, nas condições de erupção impedida, desimpedida e retardada pela vimblastina.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração - Biologia e Patologia Buco-Dental.

Orientador: Prof. Dr. José Merzel - FOP-UNICAMP

PIRACICABA - S.P.
1995



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	UNICAMP
V.º	FR.
N.º	25055
PREÇO	433/95
C	<input type="checkbox"/>
B	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	26/07/95
N.º CPD	

CM-00073445-2

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
UNICAMP

Barros, Silvana Pereira

B278e Estudo morfométrico ultraestrutural da matriz extracelular do ligamento periodontal do incisivo inferior de ratos, em diferentes regiões e zonas, nas condições de erupção impedida, desimpedida e retardada pela vimblastina. - Piracicaba, São Paulo: [s.n.], 1995.

Orientador: José Merzel.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba

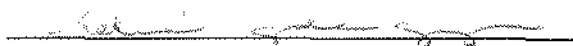
1. Microscopia eletrônica - periodontia I. Merzel, José. II. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Índice para o catálogo sistemático

1. electron microscopy 578,45

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 30/06/1.995, considerou a candidata aprovada.

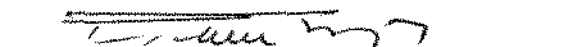
1. Elisa Aparecida Gregório



2. Jarbas Arruda Bauer



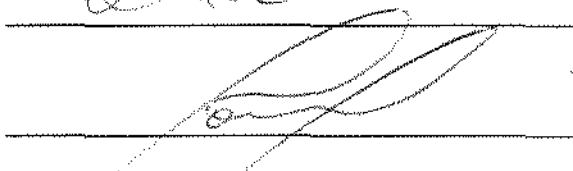
3. Flávio Fava de Moraes



4. Oslei Paes de Almeida



5. José Merzel



Aos meus pais,
Enizio P. Barros e Antonia A. Barros,
pela minha formação, atenção e amor ,
e ao meu irmão José Eduardo

Ao Roberto pelas atitudes de amor

Dedico este trabalho

Ao Professor Doutor José Merzel, Professor Titular do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, que com critério, interesse e disponibilidade orientou este trabalho e pela importante participação em nossa formação acadêmica.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Profa. Dra. Elisa Aparecida Gregório, pela amizade, extrema solicitude e competência com que sempre nos atendeu.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Pedro Duarte Novaes pela amizade e apoio durante a execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Fausto Bérzin, pelo incentivo e apoio sempre presentes.

Ao Prof. Dr. Mathias Vitti pelo estímulo no início da minha carreira.

Aos professores e funcionários do Departamento de Morfologia, pela consideração e estímulo.

Ao Engenheiro Agrônomo Marcelo Alves Corrêa - Diretoria de software e Apoio Científico do CIAGRI (Centro de Informática para a Agricultura)-ESALQ/USP, pela análise estatística e valioso auxílio na interpretação dos dados.

À Bióloga Silvana Furlan, estagiária do Departamento de Morfologia - área de Histologia, setor de Microscopia Eletrônica, pela dedicação e valiosa colaboração no processamento do material.

À Profa. Dra. Altair Del Bel Cury pelo empréstimo do instrumento utilizado na obtenção das medidas de diâmetro.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação do Curso de Biologia e Patologia Bucodental, pelo estímulo.

À Sra. Eliene Aparecida O. N. Romani, técnica do laboratório de Microscopia Eletrônica da FOP /UNICAMP, pelo auxílio no processamento do material da fase do Experimento Preliminar.

Aos técnicos Maria Helena Moreno e Nivalde Antonio Basso, do laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da UNESP, campus de Botucatu, pela obtenção de cortes ultrafinos de parte do material.

Aos funcionários, Marco Antonio Romano, Emilio Carlos Salles e Luis Henrique dos Santos, do Centro de Processamento de Dados da FOP/UNICAMP, pelo eficiente auxílio técnico em softwares, utilização do Scanner, e impressão final do texto.

Ao desenhista do Centro de Recursos para a Aprendizagem-FOP/UNICAMP, Eliseo Aparecido Bertti, pela esquematização das figuras utilizadas no texto.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP.

Ao Sr. Pedro Sergio Justino, do Setor de Fotografia do Centro de Recursos para a Aprendizagem -FOP/UNICAMP.

Este trabalho foi desenvolvido com o auxílio da FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO (FAPESP- proc. nº 3411-6) concedido ao Prof. Dr. José Merzel.

RESUMO

As áreas relativas de fibrilas colágenas e substância interfibrilar e o diâmetro das fibrilas colágenas foram quantificadas, a nível ultraestrutural, em diversas regiões e zonas do ligamento periodontal de incisivos de ratos com erupção impedida, desimpedida e retardada pela vimblastina.

Seis ratos machos tiveram seus incisivos inferiores esquerdos mantidos em erupção desimpedida, enquanto o contralateral erupcionou normalmente. Vinte e quatro horas antes do final do experimento, que durou sete dias, três animais receberam uma dose única de vimblastina (2mg/kg de peso) enquanto os três restantes receberam volume equivalente de salina.

Os dentes foram divididos e cortados transversalmente em cinco regiões, a partir da crista alveolar até o ápice, e processados para microscopia eletrônica de transmissão. De cada zona do ligamento periodontal (junto ao dente, intermediária e junto ao osso alveolar) das várias regiões, foram feitas três eletronicografias da face mesial, com aumento final de 73.700X contendo, em mais que 50% de sua área, fibrilas colágenas cortadas transversalmente. Em cada eletronicografia, usando um retículo de 400 pontos, foi determinada a densidade de área de fibrilas colágenas e substância interfibrilar e medido o diâmetro de trinta fibrilas colágenas.

Os dados foram submetidos à análise de variância uni e multivariada, comparações múltiplas através do teste de Tukey, análise de regressão de superfície de resposta e análise canônica de superfície de resposta.

Nos dois grupos e nas duas condições de erupção o diâmetro médio das fibrilas colágenas da zona alveolar foi maior que o da zona junto ao dente e intermediária. Os dentes desimpedidos do grupo controle apresentaram fibrilas com diâmetros significativamente menores que os impedidos, ocorrendo, em geral, o inverso no grupo tratado, o que caracterizou uma interação, entre os grupos e condições de erupção, com inversão de valores. A regressão de superfície de resposta demonstrou uma tendência de

comportamento onde os valores de diâmetro diminuíram a partir da região 3, que se relaciona com o primeiro molar inferior, em direção aos extremos incisal e apical e, a partir de uma faixa da zona junto ao dente, houve uma tendência de aumento em direção à zona junto ao osso alveolar, e o restante da zona junto ao dente. Este padrão foi diferente no caso de incisivos desimpedidos tratados com vimblastina, onde o diâmetro das fibrilas colágenas aumentou em direção incisal e apical, a partir da região 3.

Com relação à área relativa de fibrilas colágenas e substância interfibrilar os dados mostraram uma tendência da área de substância interfibrilar ser maior no ligamento periodontal de incisivos desimpedidos do grupo controle, ocorrendo o inverso no grupo tratado.

Estas diferenças parecem indicar que a escolha da região do ligamento periodontal a ser analisada, em relação aos efeitos de alterações do movimento eruptivo ou de forças que atuam no dente, pode interferir nos resultados de estudos em dentes de erupção contínua.

SUMMARY

The area density of collagen fibrils and interfibrillar ground substance as well as the collagen fibrils diameter were determined at the ultrastructural level in several regions and zones of the periodontal ligament of impeded and unimpeded rat incisors with eruption retarded by vimblastine.

Six male rats had their lower left incisor kept in an unimpeded eruption condition while the contralateral one erupted normally. Three of these animals received an intraperitoneal injection of vimblastine (2 mg/Kg body weight) 24 hours before the end of the experiment, one week later. The other three animals received an equivalent volume of saline solution.

The teeth were divided in 5 regions transversal to the longitudinal axis of the incisor and processed for transmission electron microscopy. For each zone of the periodontal ligament (tooth-related, bone-related and a middle one between the two), at the mesial face of the 5 regions 3 electronmicrographs were printed at a final magnification of X 73.700, each micrograph presented more than 50% of its area of collagen fibrils in cross section. A test lattice with 400 points was used to determinate the relative areas of collagen fibrils and interfibrillar ground substance and in each electronmicrograph the diameter of 30 collagen fibrils was measured.

Data were submitted to statistical analysis using: variance analysis, Tukey's test, response surface regression and canonical analysis.

In both groups, in either impeded or unimpeded eruption, the mean diameter of collagen fibrils in alveolar bone zone was larger than in the others two zones. The unimpeded teeth from the control group presented fibrils with a lower collagen fibril mean diameter than impeded ones. Generally the opposite was found in vimblastine-treated group, characterizing an interaction with reverse values. The response surface regression showed diameters values decreasing from region number 3 (related to lower first molar) toward the incisal and apical regions, while an increase of such values from a strip of the

dental zone towards the alveolar zone and the remaining of the dental related zone. That pattern was different only in unimpeded teeth of vinblastine-treated animals, where the mean collagen diameter increased in both, apical and incisal, directions from region 3.

The area occupied by interfibrillar ground substance was generally greater than the area of collagen fibrils in unimpeded teeth of the control group, while the contrary occurred in the vinblastine-treated group.

These differences seem to indicate that the choice of the region or zone of the periodontal ligament to be analysed, in relation to the effects of altered eruption or mechanical conditions of the incisors, may interfere on the results.

SUMÁRIO

Resumo.....	x
Summary.....	xii
Introdução.....	1
Experimento Preliminar.....	6
Material e Métodos.....	10
Resultados.....	16
Discussão.....	33
Referências Bibliográficas.....	43
Apêndice.....	49

INTRODUÇÃO

Dentes de crescimento contínuo, como os incisivos de roedores e lagomorfos, têm sido amplamente usados no estudo do processo de erupção dental. A ressecção da porção embrionária, que interrompe o desenvolvimento sem contudo prejudicar a erupção deste tipo de dente, levou Berkovitz e Thomas (1969) a postularem que o ligamento periodontal é a estrutura responsável pelo processo eruptivo, cujo mecanismo, principalmente relacionado à geração de força eruptiva, é assunto bastante controverso.

A erupção contínua e a localização destes dentes na arcada dental facilita a determinação de taxas de erupção em diferentes condições experimentais, bem como o efeito destas condições na estrutura ou fisiologia do ligamento periodontal.

Nos estudos envolvendo condições de erupção alterada, particularmente os de natureza bioquímica, o ligamento periodontal tem sido considerado como um todo homogêneo (e.g. Van Den Bos e Tonino, 1984), ou então apenas uma região é analisada, que, no caso de incisivos inferiores de roedores, geralmente corresponde ao 1º molar inferior (e.g. Shore et al, 1982).

O tecido periodontal dos incisivos de roedores apresenta duas partes distintas; 1) o ligamento periodontal, que é o tecido conjuntivo entre o cemento e o osso alveolar com fibrilas colágenas inserindo-se nestes dois tecidos como fibras de Sharpey e que abrange toda a face lingual e a maior parte das faces mesial e distal do dente; 2) o periodonto relacionado ao esmalte localizado entre o órgão do esmalte e o osso alveolar ocupando toda a face vestibular do dente, uma parte da face distal e uma porção bem menor na face mesial; as fibrilas colágenas deste tecido não se inserem em tecido dental (Matena, 1972; 1973).

Há várias indicações, esparsas na literatura, de que o ligamento periodontal não é homogêneo. Do ponto de vista morfológico as diferenças na espessura, ou seja, na direção cemento-osso alveolar, são bem evidentes, o mesmo não acontecendo na sua extensão, isto é, na direção da crista alveolar ao ápice do dente.

Na direção cimento-osso alveolar, duas zonas ou compartimentos de aproximadamente igual espessura, distinguem-se facilmente: 1) a zona junto ao osso alveolar, com menor quantidade de células e fibras e contendo vasos, nervos e terminações nervosas; 2) zona junto ao dente, com maior densidade de células e fibras, sem estruturas vasculares ou nervosas. A orientação dos fibroblastos e das fibras e fibrilas colágenas nestas duas zonas é descrita em vários trabalhos em microscopias de luz e eletrônica de transmissão e varredura (e.g. Matena, 1973; Beertsen et al, 1974; Berkovitz e Shore, 1978; Sloan, 1978).

Nesta mesma direção, uma terceira zona, intermediária às duas anteriores, tem sido considerada; denominada primeiramente de plexo intermediário (Sicher, 1942), onde as fibrilas e células teriam um arranjo diferente, propiciando um deslocamento do dente em direção oclusal sem perda de sustentação. Tal caracterização nunca pôde ser comprovada, mas uma zona que os autores denominam de zona de cisalhamento, onde a degradação do colágeno ocorreria em maior grau, e que não tem limites precisos, corresponderia aproximadamente à metade externa da zona junto ao dente (Beertsen, 1973, Beertsen e Everts, 1977). Em cortes sagitais medianos em relação ao dente é possível observar uma mudança na orientação das fibras colágenas e dos fibroblastos (Eccles, 1965), que poderia ser a indicação de seus limites interno ou externo; em cortes transversais do ligamento isto não é nítido. Quantitativamente, o número de vesículas intracitoplasmáticas de colágeno é 4 vezes maior nos fibroblastos dessa zona do que nos da zona junto ao dente e 9 vezes maior que as encontradas nos fibroblastos da zona junto ao osso alveolar, indicando uma maior remodelação do colágeno nesta zona intermediária (Beertsen e Everts, 1977).

A descrição das diferenças morfológicas no ligamento periodontal, ao longo de sua extensão, é particularmente escassa. Num resumo, Sloan (1981) descreveu em microscopia eletrônica de varredura que enquanto o terço oclusal do osso alveolar (junto à crista alveolar) é quase inteiramente recoberto por fibras de Sharpey, os dois terços basais apresentam apenas ilhas de fibras de Sharpey. Este dado sugere que a maior responsabilidade pela sustentação do incisivo é do terço oclusal do seu ligamento, o que foi comprovado pelos resultados de Chiba et al (1990), que mediram "in vitro" as forças

necessárias para deformar ou romper o ligamento periodontal, verificando que elas são bem maiores nos segmentos junto à crista alveolar, decrescendo acentuadamente em direção apical.

Ao se examinar cortes longitudinais de ligamento periodontal de ratos ou camundongos, corados com H.E. e que cubram praticamente toda sua extensão, é possível verificar que os vasos e nervos do terço oclusal da zona junto ao osso alveolar também diferem daqueles nos dois terços restantes, onde são muito mais abundantes. As áreas ocupadas por capilares em três segmentos do ligamento foram estudadas por Burn-Murdoch (1989) e cada tipo de vaso ao longo do periodonto foi determinado por Blaushild et al (1992). Os nervos e particularmente as terminações nervosas do ligamento periodontal, foram extensivamente estudados por Maeda e colaboradores (Maeda et al, 1989; 1990; 1993), e quanto à localização apenas indicam que a zona junto ao osso da face lingual dos incisivos apresenta uma grande concentração de corpúsculos de Ruffini.

As principais indicações de que o ligamento apresenta variações em sua extensão vêm de trabalhos relacionados à fisiologia ou ao comportamento de seus constituintes químicos. Beertsen e Everts (1977) mostraram que a incorporação de ^3H -prolina é mais alta na nos fibroblastos da região apical do dente, na zona junto ao dente, e menos pronunciada na zona junto ao osso alveolar. Tsé et al (1988), em estudo com ^3H -glicina, mostraram o mesmo quadro. Kirkham et al (1991) determinaram que a quantidade de colágeno extraído com solução salina é maior na região do ligamento junto à crista alveolar e diminui gradativamente em direção às regiões apicais. O conteúdo de proteínas não-colágenas parece ser maior na porção incisal do ligamento (Horibe et al, 1994). O compartimento progenitor dos fibroblastos do ligamento ocupa aproximadamente os 2,5 mm apicais do incisivo do camundongo e a migração das células em direção incisal é muito maior nas camadas próximas ao cimento, e praticamente nula no compartimento junto ao osso alveolar (Beertsen, 1973; Zajicek, 1974). Teng et al (1989) verificaram que a hidrocortisona, que acelera a taxa de erupção, não produziu este efeito em incisivos de ratos cuja porção apical foi removida.

Não havendo referências morfológicas que permitam diferenciar o ligamento periodontal de incisivos de roedores, particularmente de sua porção junto ao dente (incluindo a que se denominou zona intermediária) ao longo de seu comprimento incisivo-apical, pensou-se em uma avaliação quantitativa, através de métodos morfométricos e estereológicos de suas células e matriz extracelular, para verificar se a alteração de erupção produz ou não efeitos diferentes nos vários segmentos do ligamento.

No presente estudo foi examinado o diâmetro das fibrilas colágenas e o volume relativo destas fibrilas e da substância interfibrilar, esta composta principalmente de glicoproteínas e proteoglicanas (Pearson, 1982).

O diâmetro das fibrilas colágenas em vários tecidos tem se mostrado um indicador das forças que atuam neste tecido ou de seu metabolismo (Parry et al, 1978 a, b; Frank et al, 1989).

No ligamento periodontal de incisivos de ratos, o diâmetro de fibrilas foi medido por Berkovitz et al (1981), que encontraram uma distribuição unimodal destes diâmetros com o valor mais freqüente de 45 nm. Shore et al (1982) estudaram a variação destes diâmetros entre dentes impedidos e desimpedidos , não encontrando diferenças, mas assinalaram que a área ocupada pelas fibrilas no feixe aumentou nos dentes desimpedidos, indicando uma diminuição de volume de substância interfibrilar.

Shore et al (1984) mostraram que droga latirogênica produz um aumento do diâmetro das fibrilas colágenas no ligamento de incisivos desimpedidos e de molares quando comparados a controles, que receberam quantidade de alimentação pareada. Quando os animais foram alimentados "ad libitum", os tratados demonstraram uma considerável redução de diâmetro das fibrilas colágenas em relação ao observado nos animais controle. Os mesmos autores (1985) encontraram um quadro inverso ao desimpedimento no ligamento de incisivos após 18 dias de imobilização.

Svoboda et al (1983) correlacionaram os diâmetros das fibrilas colágenas de tecidos conjuntivos da pele, gengiva e ligamento periodontal de molares com a renovação do colágeno nestes tecidos, mostrando que o ligamento, com a maior taxa de renovação, apresenta as fibrilas de menor diâmetro.

Em relação à substância interfibrilar, além dos dados apresentados por Shore et al (1982, 1984) mostrando que seu volume se modifica em condições de erupção alterada, Kirkham et al (1993) quantificaram bioquimicamente as glicosaminoglicanas, mostrando que elas aumentam significativamente no ligamento de incisivos desimpedidos, cuja erupção está acelerada, ao passo que diminuem em dentes imobilizados. A vimblastina produziu uma diminuição na taxa de renovação de proteínas não-colágenas (Polacow e Merzel, 1993) e provavelmente a diminuição de sua quantidade (Horibe et al, 1994).

Como todos os trabalhos morfométricos acima mencionados, utilizando incisivos de ratos, determinaram o diâmetro de fibrilas colágenas e quantidade de colágeno em apenas uma região - ligamento junto ao dente, relacionado ao primeiro molar inferior - o objetivo do presente estudo foi o de analisar os mesmos parâmetros no ligamento dividido em cinco segmentos, no sentido do longo eixo do dente e, cada segmento, na espessura cemento- alveolar, através da divisão em três zonas: junto ao dente, junto ao osso alveolar e intermediária.

EXPERIMENTO PRELIMINAR

O objetivo inicial deste trabalho foi o de analisar quantitativamente a matriz extracelular do ligamento periodontal de incisivos de rato, a nível ultraestrutural, identificando as fibrilas e a substância amorfa, esta marcada pela evidência de glicosaminoglicanas através do vermelho de rutênio.

Num experimento preliminar, ratos Wistar, com peso médio de 120 gramas, foram perfundidos, por via intracardíaca, com solução de glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato 0,06M, pH 7,4 contendo 0,5% de sacarose e 500 ppm de vermelho de rutênio, durante 20 minutos. As mandíbulas foram removidas, dissecadas, separadas em hemimandíbulas e imersas no mesmo fixador por mais 4 horas. Esta técnica foi usada por Yamamoto (1986) no estudo do desenvolvimento, calcificação e ultraestrutura da camada interna do cemento em molares de rato.

O material foi descalcificado em EDTA 5% sob agitação constante a 4°C, com trocas diárias. A desmineralização completou-se após 15 dias sendo então as hemimandíbulas divididas em 5 regiões de acordo com esquema da figura 5a. As peças foram lavadas em tampão cacodilato 0,06M e pós-fixadas, por 1 hora, em tetróxido de ósmio em tampão cacodilato contendo 500 ppm de vermelho de rutênio. Na seqüência os segmentos foram lavados em tampão cacodilato 0,06M, pH 7,4, desidratados com acetona em concentrações crescentes e incluídos em Araldite.

Cortes ultrafinos dourados ou prateados da face mesial do ligamento, feitos com navalha de diamante, foram montados em grades de 200 mesh e corados com acetato de uranila e citrato de chumbo e observados em microscópio eletrônico de transmissão EM-10 Zeiss.

Os resultados não se mostraram satisfatórios pois a marcação pelo vermelho de rutênio se concentrou na parede dos vasos e a penetração no ligamento periodontal foi mínima na maior parte do material observado (fig.1).

A técnica de perfusão foi repetida usando-se o fixador preparado de acordo com Luft (1971) onde a concentração de vermelho de rutênio é maior, porém os resultados não foram diferentes. Resolveu-se então utilizar a técnica original proposta por Luft (1971), na qual a fixação e marcação pelo vermelho de rutênio são feitas por imersão, uma vez que, segundo o autor, sua penetração é limitada; assim, para melhor expor o ligamento periodontal ao fixador contendo vermelho de rutênio, os dentes incisivos foram extraídos. Mediante osteotomia da borda inferior da mandíbula (onde o ligamento periodontal do incisivo não está presente) e uso de movimento de alavanca, os incisivos inferiores dos ratos foram extraídos, ficando parte do ligamento aderida ao dente e parte ao osso (Horibe et al, 1994).

Os dentes e mandíbulas foram então fixados com solução contendo glutaraldeído 3,6%, tampão cacodilato 0,2 M, pH 7,3 e solução de estoque de vermelho de rutênio (1500 ppm em água destilada) pelo período de 1 hora e em seguida o material foi lavado com tampão cacodilato 0,15 M, pH 7,3, com três trocas a cada 10 minutos.

Descalcificação, divisão da mandíbula em regiões e pós-fixação com tetróxido de ósmio, seguiram o mesmo procedimento descrito anteriormente para os animais perfundidos com vermelho de rutênio. Como controles da técnica, foram usados fragmentos de diafragma, um dos tecidos usados por Luft (1971), e gengiva dos mesmos animais, sendo estes tecidos processados de maneira idêntica aos dentes e mandíbulas. A marcação das glicosaminoglicanas pelo vermelho de rutênio neste material foi satisfatória (figs. 2, 3 e 4), mas ainda assim, ela tendeu a se concentrar na periferia do tecido, o que não recomenda a utilização deste material para determinações morfométricas ou estereológicas.

Como a substância interfibrilar se mostrou positiva ao vermelho de rutênio e, portanto, rica em glicosaminoglicanas (figs. 2 e 4) e sendo este material delimitável quando observado entre fibras colágenas cortadas transversalmente, decidimos fazer a análise quantitativa de substância interfibrilar e das fibrilas colágenas em cortes ultrafinos, contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo.

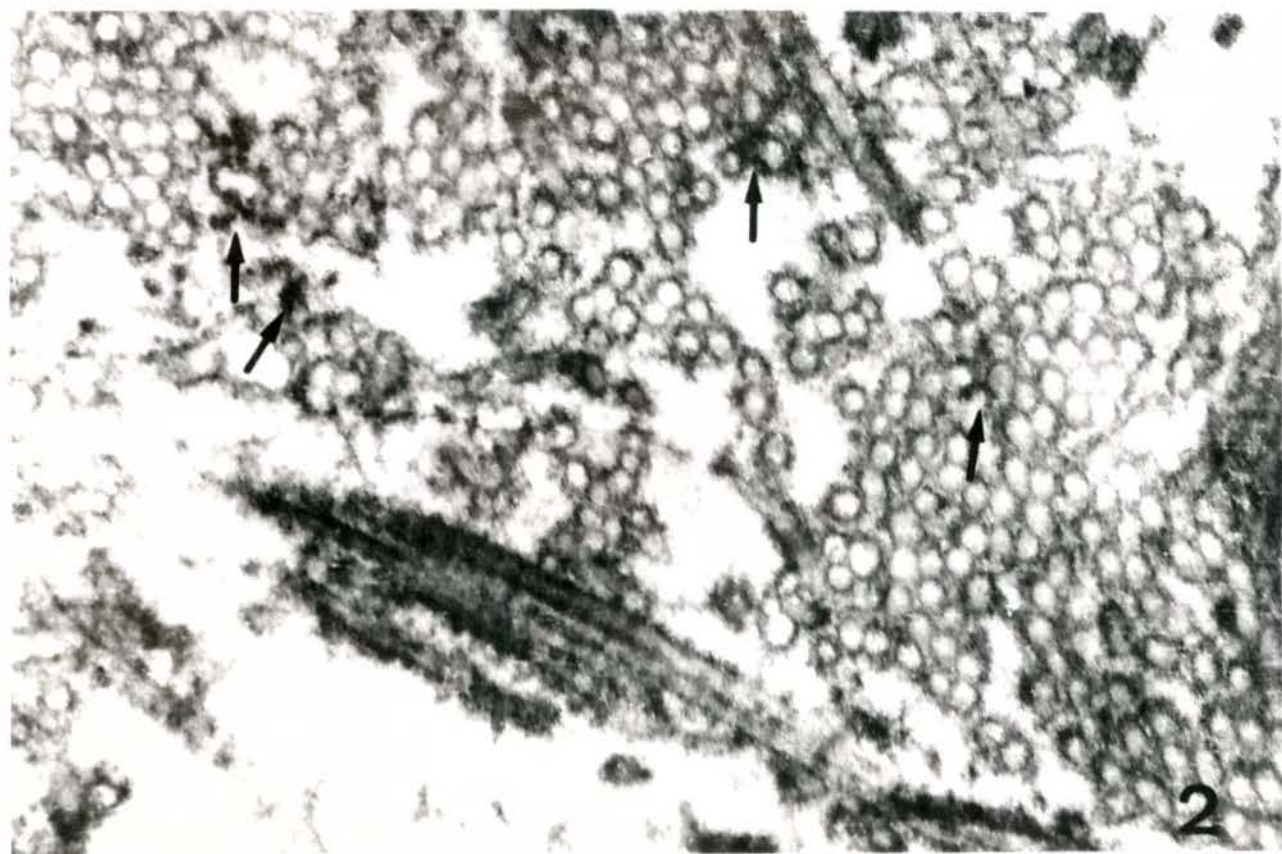
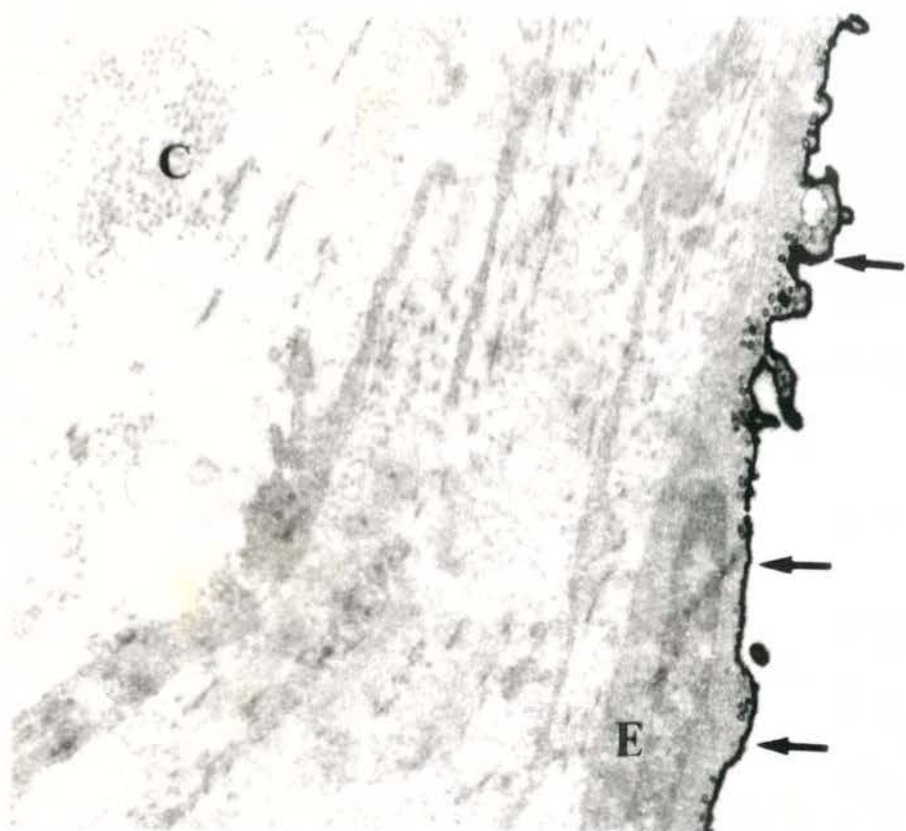
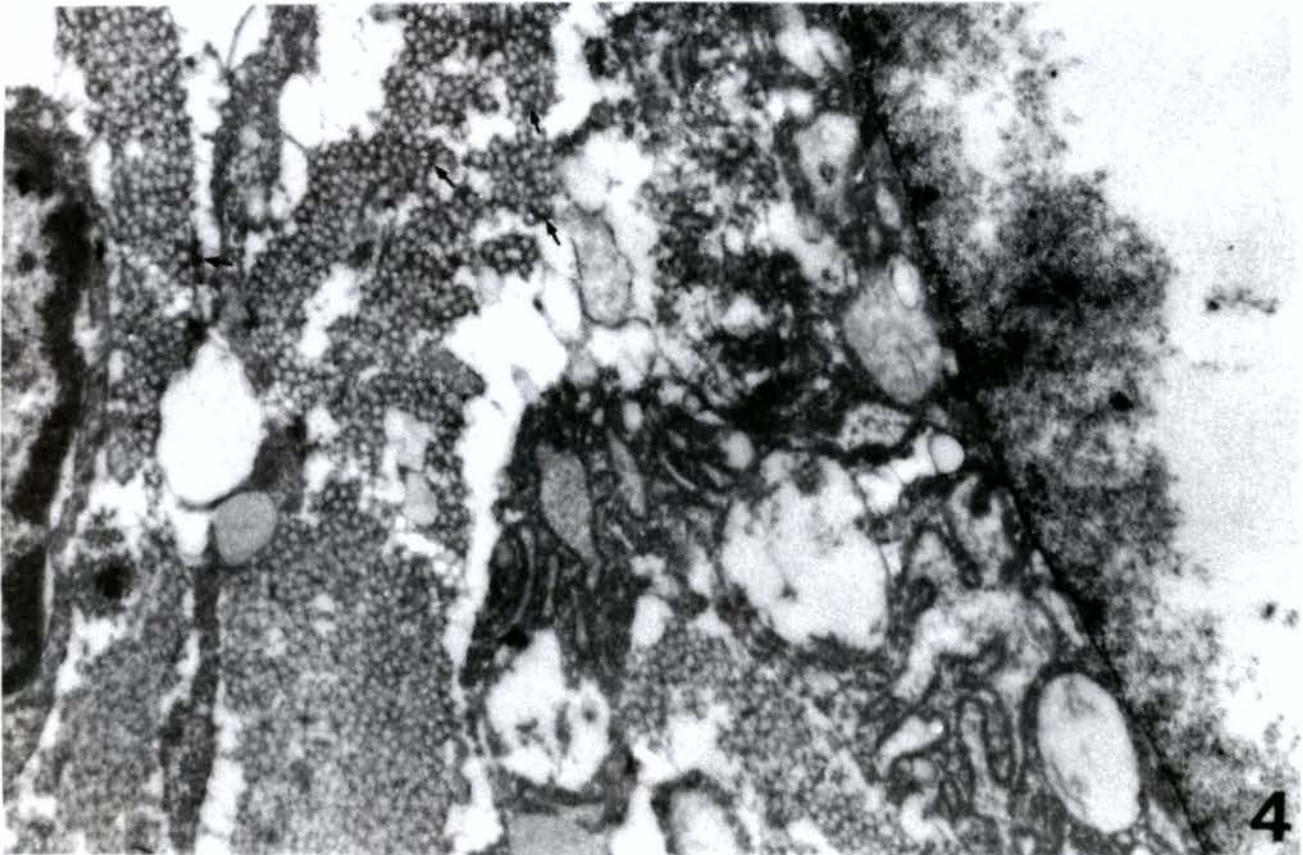
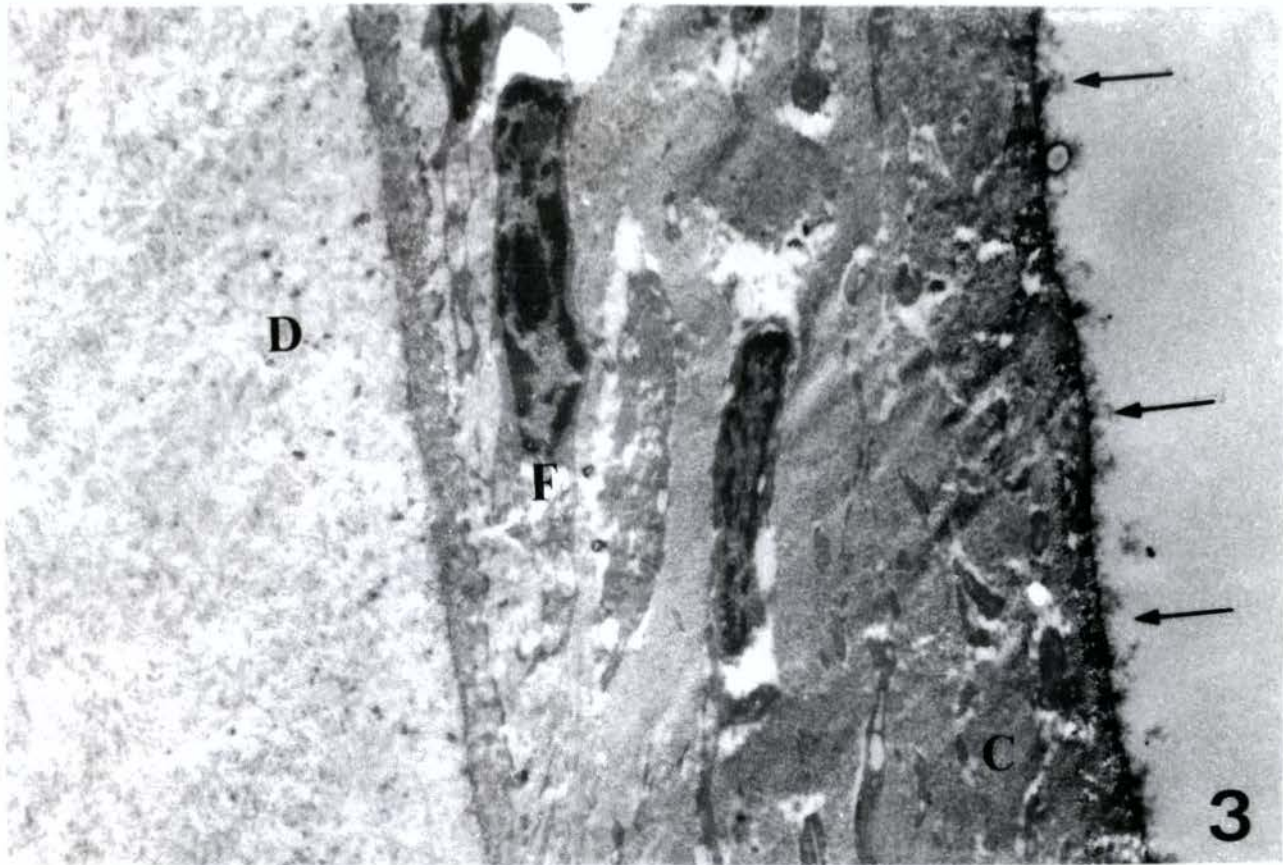


Figura 3- E.M. de ligamento periodontal associado ao dente incisivo de rato que sofreu extração, evidenciando a marcação pelo vermelho de rutênio concentrada na periferia do ligamento. A penetração do corante em direção ao dente limitou-se a uma estreita faixa na periferia do tecido (setas). Dentina (D), Fibroblasto (F), Colágeno (C). 8.142 X

Figura 4 - E.M. de ligamento periodontal de rato mostrando detalhe de área análoga à apontada por setas na figura 3. Nota-se a eletrondensidade característica da marcação pelo vermelho de rutênio em áreas interfibrilares onde as fibras colágenas aparecem em corte transversal (setas). As células junto ao limite de ruptura do ligamento apresentam-se alteradas. 26.950X



MATERIAL E MÉTODOS

Seis ratos Wistar machos, pesando no início do experimento em torno de 120g, recebendo água e alimentação sólida *ad libitum*, tiveram o incisivo inferior esquerdo seccionado à altura da papila interdental, a cada dois dias, permitindo ao dente erupcionar de modo desimpedido, enquanto os incisivos inferiores direitos permaneceram em oclusão, portanto em erupção impedida, no decorrer do experimento.

Após 6 dias, 3 ratos foram injetados intraperitonealmente com 2 mg/Kg de peso corporal de vimblastina diluída em soro fisiológico, (Velban, Lilly), e outros 3 com soro fisiológico. Todos os animais, controle e tratados com vimblastina, foram sacrificados após 24 horas.

Os animais foram anestesiados com hidrato de cloral (0,4ml/100g de peso) a 10% e perfundidos via intracardíaca com o fixador de Karnovsky (1965), durante 20 minutos. As mandíbulas foram dissecadas e divididas em hemimandíbulas que foram imersas no mesmo fixador por 3 horas.

As hemimandíbulas foram desmineralizadas em EDTA 5% (em tampão fosfato, pH 7,4), sob agitação constante, a 4°C, por 20 dias em média, com trocas diárias. A descalcificação foi avaliada por cortes na coroa do incisivo. Completada a descalcificação, as hemimandíbulas foram então divididas em 5 regiões conforme mostra a figura 5a, sendo a face apical, de cada um dos segmentos, marcada por uma chanfradura.

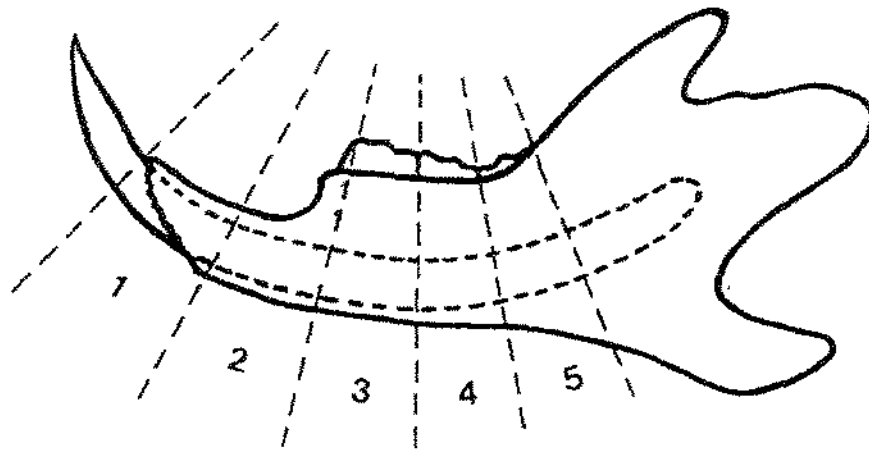


Figura 5a- Esquema mostrando hemimandíbula de rato indicando os limites das 5 regiões em que o dente e o ligamento periodontal foram divididos.

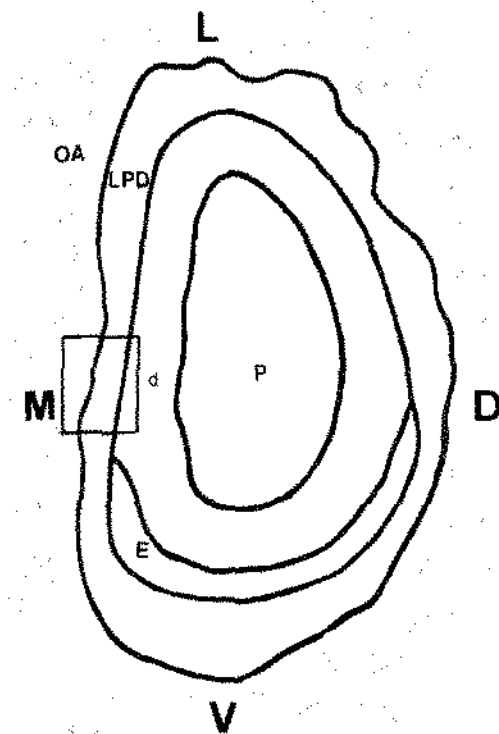


Figura 5 b - Esquema de corte transversal de incisivo de rato indicando as faces M-mesial, V-vestibular, L-lingual, D-distal.

LPD-ligamento periodontal, OA-osso alveolar, P-polpa dental, d-Dentina, PE-periodonto relacionado ao esmalte.

O quadrilátero na face mesial indica onde foram feitos os cortes ultrafinos.

Os segmentos, após serem lavados em tampão fosfato pH 7,3, foram pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% em tampão fosfato pH 7,3 durante 2 horas a 4°C, desidratados com acetona em concentrações crescentes e incluídos em Araldite, de modo a se obter cortes transversais do dente e do ligamento, a partir da face incisal de cada segmento. Cortes semifinos de 1 µm de espessura, corados com azul de metileno, serviram para análise prévia visando reaparar os blocos para obter cortes do ligamento periodontal, da face mesial do dente, conforme mostra a figura 5b. Esta face foi escolhida por ser a de maior extensão, uma vez que a crista alveolar situa-se mais para apical nas demais faces.

Cortes ultrafinos dourados (aproximadamente 100 nm de espessura) foram feitos com navalha de diamante, montados em grades de 200 mesh e contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo. Os cortes foram examinados com microscópio EM10 Zeiss.

Em cortes transversais, duas partes do ligamento periodontal são facilmente identificáveis e, nesta face mesial, são aproximadamente de igual espessura. A parte junto ao osso, que apresenta muitos vasos e elementos nervosos, foi considerada a zona OA ou compartimento junto ao osso alveolar. A porção próxima ao dente foi dividida em duas partes aproximadamente iguais, a metade junto ao dente foi considerada zona D e a outra metade entre as zonas OA e D correspondeu à zona intermediária-I (fig. 6). Estas três zonas são bastante utilizadas em trabalhos sobre o ligamento periodontal havendo na literatura, concordância em geral quanto à delimitação das zonas D e OA. A zona I, embora bastante considerada, é apresentada na literatura com pequenas diferenças referentes à sua delimitação, devido ao fato de não apresentar limites morfológicos. A divisão utilizada neste trabalho é semelhante à usada por Beertsen e Everts (1977).

De cada uma das 3 zonas do ligamento periodontal descritas anteriormente, foram feitas 5 micrografias eletrônicas em aumento de 9.500X (35mm). Dos 5 negativos, 3 foram sorteados e ampliados com um aumento final de 73.700X.

Como as estruturas alvo deste estudo foram as fibrilas colágenas e a substância interfibrilar, as eletronicografias foram feitas em áreas contendo mais de 50% dessas estruturas, e na maior parte, fibrilas colágenas cortadas transversalmente.

A análise compreendeu, em primeiro lugar, a determinação de área relativa entre fibrilas colágenas e substância interfibrilar, utilizando-se um retículo de 400 pontos (Weibel, 1969) (fig.7). Quantificou-se em três eletronicografias de cada zona e de cada região, a distribuição de pontos coincidentes com fibrilas colágenas em corte transversal e com substância interfibrilar, sendo os resultados expressos em porcentagem.

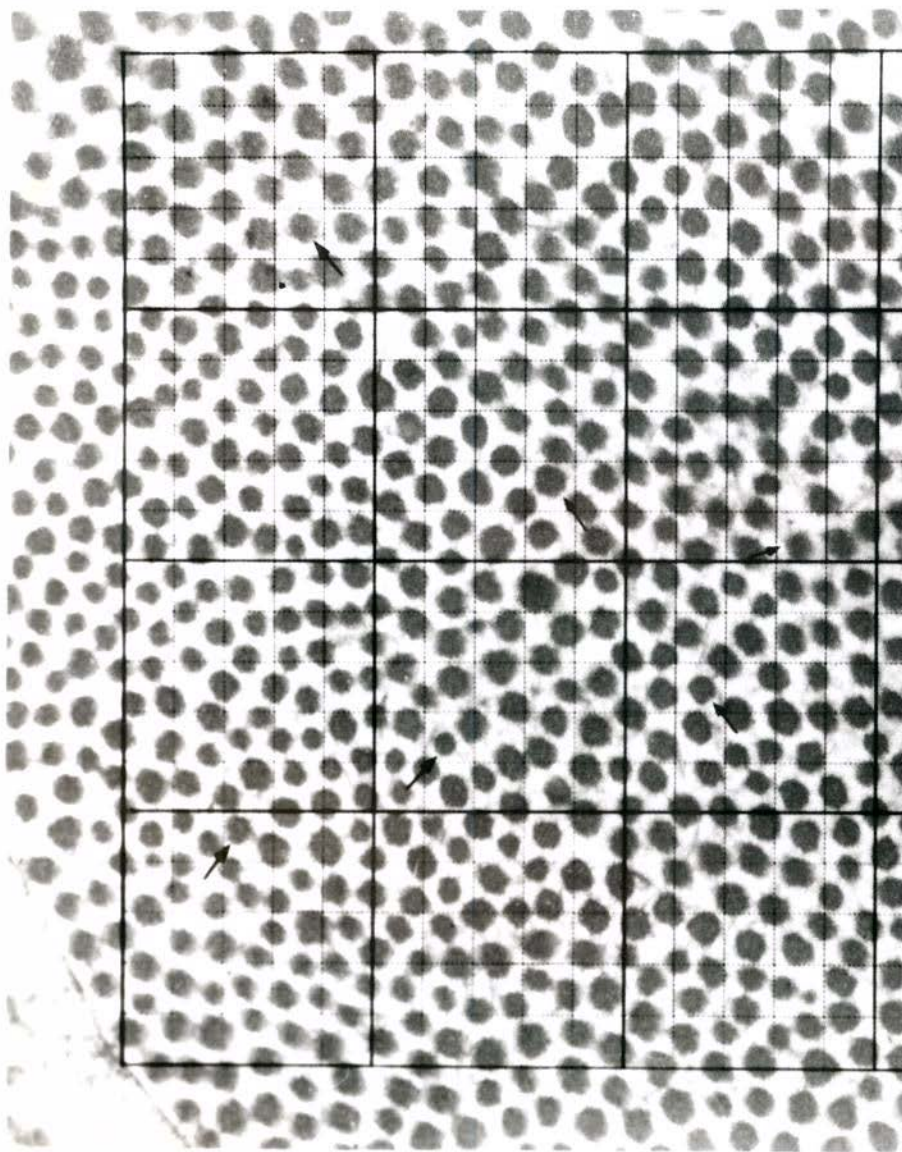
Em seguida, em cada eletronicografia, foi medido, utilizando-se de um paquímetro de leitura digital, o diâmetro de trinta fibrilas contidas por inteiro nos quadrados do retículo utilizado, percorrendo-o em suas diagonais (fig. 7). Eventualmente se a fibrila se apresentasse em corte ligeiramente oblíquo, era considerado seu menor diâmetro.

Os dados foram submetidos às seguintes análises estatísticas:

- a) análise de variância multi e univariada com medidas repetidas com modelo de parcelas repetidas
- b) comparações múltiplas de médias através de teste de Tukey
- c) análise de variância com modelo de parcelas subdivididas univariadas em cada zona e região
- d) contrastes para comparações de regiões e zonas, duas a duas
- e) análise de regressão de superfície de resposta em cada condição de tratamento e impedimento, para avaliar efeito de região e zona
- f) análise canônica de superfície de resposta, que permite a determinação das coordenadas e valor dos pontos, crítico e estacionário, para estereogramas e isogramas.



Figura 6 - Esquema de corte de ligamento periodontal de incisivo de rato em que se pode identificar as três zonas estudadas . ZD - zona junto ao dente, ZI - zona intermediária, ZOA - zona junto ao osso alveolar, V- vaso sanguíneo, D - dente, OA - osso alveolar.



RESULTADOS

No material analisado as características do ligamento periodontal foram morfológicamente semelhantes, considerando-se as mesmas zonas, em todas as regiões estudadas. As zonas intermediária e junto ao dente apresentaram uma alta densidade de células, assim, em grande parte das eletronicografias dessas duas zonas, as fibrilas colágenas estão entremeados por processos celulares (figs. 8A, B). Na zona junto ao osso, as células, em menor densidade, apareceram entre vasos e elementos nervosos. Fibras oxitalânicas foram ocasionalmente registradas (fig.8C).

O ligamento periodontal diminui em espessura, da região 1, incisal, em direção à região 5, apical, sendo que nesta última, a delimitação entre as zonas junto ao dente e intermediária foi mais difícil.

Diâmetro de fibrilas colágenas

As médias dos diâmetros das fibrilas colágenas nas diversas regiões, zonas e tratamentos são apresentadas na tabela 1. Estas médias mostram que o ligamento periodontal tendeu a apresentar fibrilas com maior diâmetro na zona junto ao osso. Isto ocorreu no grupo tratado, em todas as regiões, na erupção impedida e desimpedida. No controle só não ocorreu na região 3 dos dentes impedidos e nas regiões 1 e 5 dos desimpedidos. Este quadro pode ser observado nas figuras 8 A, B, C, que representam eletronicografias típicas de cada zona.

A análise de variância indicou que no grupo tratado, houve efeito do desimpedimento em todas as regiões da zona junto ao osso, enquanto que nas zonas intermediária e junto ao dente esta diferença só foi significativa para as regiões 3 e 5.

No grupo controle, o desimpedimento do incisivo promoveu alteração nos diâmetros médios das fibrilas colágenas e a única diferença que não se mostrou estatisticamente significativa foi a da zona junto ao osso da região 4 (letra a, tabela 1). Estas diferenças, porém, nos dois grupos, não seguiram um padrão uniforme.

Figura 8 - Eletronmicrografias de ligamento periodontal de incisivo nas zonas junto ao dente (8A), intermediária (8B) e junto ao osso alveolar (8C); região 3, erupção impedida. Fibroblasto (F), Fibras oxitalânicas (OX), Fibrilas colágenas (C). 8.300X.

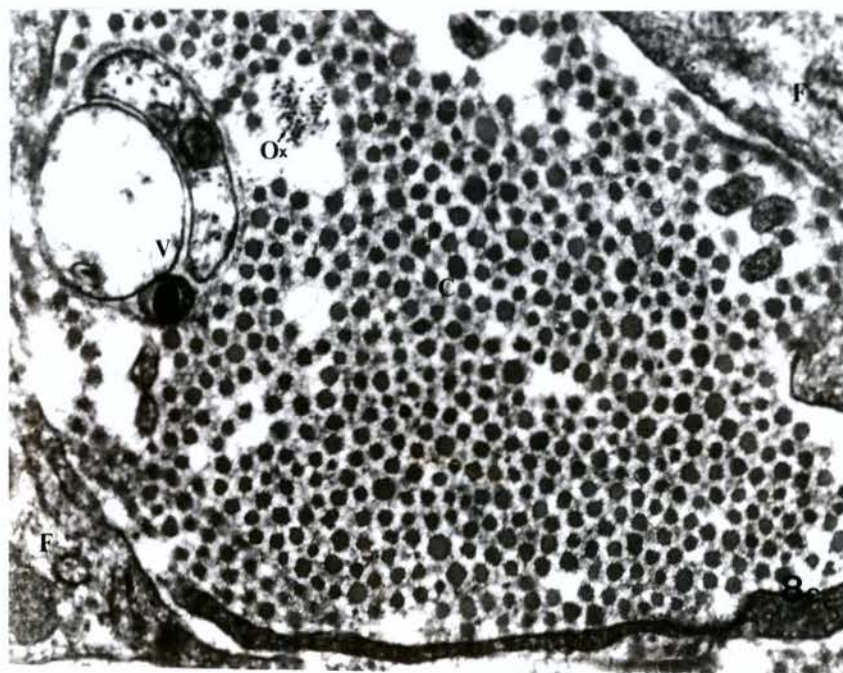
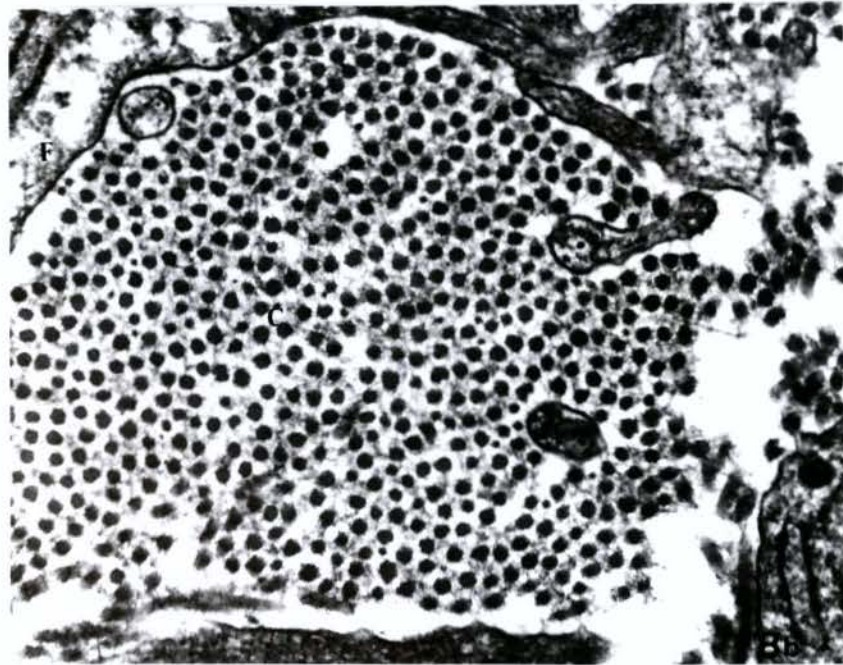
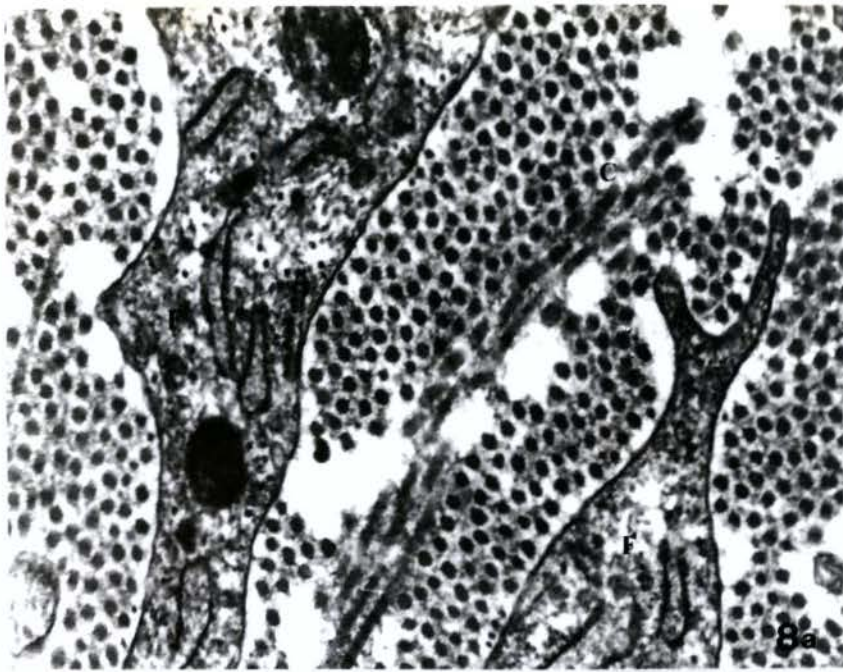


TABELA 1- Diâmetro(nm) de fibrilas colágenas em regiões e zonas do ligamento periodontal de incisivos de ratos tratados com vimblastina e em condições de erupção impedida e desimpedida.

ERUPÇÃO IMPEDIDA			CONTROLE			ERUPÇÃO DESIMPEDIDA		
REGIÕES	ZONAS			REGIÕES	ZONAS			
	JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO		JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO	
1	39,90 ±8,33b	40,11 ±7,53	40,27 ±7,87c	1	42,03 ±8,16bc	38,41 ±7,53c	36,81 ±7,09	
2	43,53 ±7,98	39,87 ±7,42bc	44,25 ±6,82	2	37,35 ±6,38	37,73 ±6,65bc	41,96 ±8,08	
3	42,97 ±8,47	43,61 ±8,72	43,46 ±9,38	3	37,07 ±5,98	39,50 ±9,06	40,98 ±9,19c	
4	38,26 ±7,21c	39,66 ±7,07c	42,05 ±9,24a	4	40,26 ±5,64	41,12 ±5,78	43,05 ±7,16ac	
5	42,42 ±5,51	41,05 ±5,51	43,49 ±9,25	5	37,54 ±5,19	37,52 ±5,87	36,84 ±5,68	

ERUPÇÃO IMPEDIDA			TRATADO			ERUPÇÃO DESIMPEDIDA		
REGIÕES	ZONAS			REGIÕES	ZONAS			
	JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO		JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO	
1	37,88 ±7,79ab	38,16 ±7,93a	39,51 ±9,84c	1	41,18 ±7,57abc	39,45 ±7,61ac	45,79 ±8,10	
2	39,13 ±7,40a	39,02 ±8,09abc	41,89 ±7,73	2	38,91 ±5,76a	38,43 ±5,98abc	44,80 ±8,17	
3	37,35 ±7,53	39,26 ±7,42	48,56 ±9,78	3	40,57 ±6,51	41,18 ±8,92	42,02 ±8,49c	
4	38,65 ±7,37ac	39,99 ±9,06ac	47,05 ±10,92	4	37,98 ±5,89a	39,62 ±5,61a	42,79 ±8,54c	
5	37,44 ±6,13	37,30 ±7,44	45,53 ±7,73	5	39,11 ±6,31	41,43 ±5,69	43,79 ±8,51	

Os valores são médias ± desvio padrão, de 90 medidas em cada zona de 3 animais por grupo

a b c indicam diferenças estatisticamente não significativas na comparação entre cada zona das diferentes regiões sendo:

a- entre dentes em erupção impedida e desimpedida do mesmo grupo

b- interação entre grupos controle (impedido e desimpedido) e tratado (impedido e desimpedido)

c- entre os grupos controle e tratado, na mesma condição de erupção

Nas mesmas comparações as zonas não assinaladas apresentam diferença significativa (p<0,05)

No grupo controle, em 11 entre 15 valores (tabela 1) o diâmetro médio das fibrilas foi menor nos dentes desimpedidos; nos 4 restantes ocorreu o inverso destes últimos (zona junto ao osso da região 4) não significante estatisticamente. Já no grupo tratado apenas 7 em 15 valores são menores no dente desimpedido, ocorrendo o inverso em 8 das médias e não houve significância em 6 desses valores (letra **a**, tabela 1).

A análise estatística mostrou ainda, haver interação entre os grupos controle (impedido x desimpedido) e tratado (impedido x desimpedido), com exceção dos valores marcados com **b** na tabela 1. De modo geral houve interação entre tratamento por vimblastina e condição de desimpedimento, com inversão dos valores, ou seja, o lado impedido do grupo controle mostrou diâmetro médio das fibrilas colágenas maior que o desimpedido, no tratado ocorreu o inverso. Analisando-se, por exemplo, a região 3 da zona junto ao dente, observamos que houve diferença significativa na comparação entre dentes impedidos e desimpedidos em ambos os grupos. No entanto, ocorreu uma interação, com inversão, entre tratamentos e condições de erupção, ou seja, nos animais tratados o dente desimpedido apresentou fibrilas de maior diâmetro, ao passo que nos animais controle a média de maior diâmetro foi observada no dente impedido. Interação significativa, com amplificação, entre os grupos tratado e controle e as condições de impedimento e desimpedimento, só ocorreu na zona junto ao osso das regiões 3 e 5; por exemplo na região 5, no grupo controle os valores médios de diâmetro das fibrilas colágenas para erupção impedida e desimpedida foram: 43,49 nm e 36,84 nm, e que no grupo tratado foram amplificados para 45,53 nm e 43,79 nm, respectivamente.

Ainda na tabela 1, a letra **c** indica em que zonas e regiões não houve diferença significativa entre os dentes impedidos e desimpedidos, em cada um dos dois grupos. Pôde-se observar que, na maior parte das regiões, os valores de diâmetro de fibrilas colágenas encontrados nos dentes impedidos tratados pela vimblastina, são significativamente menores que os do grupo controle, já nos dentes desimpedidos ocorreu o inverso, ou seja, os valores são significativamente maiores no grupo tratado .

A análise de variância multivariada dentro dos indivíduos testou o "efeito de zonas", e constatou que existe diferença entre elas, concluindo através de contrastes

(análise dentro de cada animal), que a zona 3 difere das zonas 1 e 2 que , por sua vez são iguais entre si , com alto nível de significância ($p < 0,01$). O estudo dessa diferença é auxiliado pela análise de regressão de superfície de resposta (Box, 1954; Box e Draper, 1982; Mead e Pike, 1985) que mostrou o comportamento das 5 regiões e das 3 zonas quanto à distribuição do diâmetro das fibrilas colágenas do ligamento periodontal do incisivo de ratos. Esta análise gerou dois tipos de gráfico para cada tratamento, o estereograma, que simula uma imagem tridimensional, obtida a partir da regressão da superfície de resposta, e o isograma, gráfico de contorno.

No gráfico de regressão de superfície de resposta do grupo controle dos dentes impedidos (fig. 9 a), o diâmetro das fibrilas colágenas mostrou tendência a diminuir a partir da região 3 em direção aos dois extremos regiões 1 e 5; com relação às zonas a tendência foi de aumento de diâmetro partindo da região junto ao dente e em direção da região junto ao osso.

O gráfico de contorno (isograma), que é a projeção de valores de mesmo diâmetro do gráfico de superfície de resposta para um plano, apresentados através de linhas interpoladas (curvas de mesmo diâmetro), (fig. 9 b), mostrou que o grupo controle tem os maiores valores de diâmetro situados na zona junto ao osso, indicando, ainda, a diminuição dos diâmetros das fibrilas a partir da região 3 em direção às regiões 1 e 5 .

A análise canônica (SAS, 1989), que corresponde a uma segunda etapa da análise de regressão de superfície de resposta, examina e fornece dados sobre a forma geral deste estereograma, sendo usada para responder, por exemplo, se a superfície tem a forma de um pico, de um vale, ou de sela; se existe uma combinação ótima do valor dos vetores e onde ela se encontra (ponto crítico / ponto estacionário) e por qual(is) fator(es) as respostas estimadas são mais sensíveis. O ponto crítico indica a partir de que coordenadas ocorrem as divergências de valores e o ponto estacionário fornece o valor (no caso em nm), ou seja, o diâmetro médio das fibrilas colágenas no ponto crítico.

A análise canônica da superfície de resposta do grupo controle impedido indicou o ponto crítico situado na região "3,2" e na zona "1,71" e o ponto estacionário como sendo um ponto de sela com valor de 41,42 nm, valor próximo ao diâmetro médio da região 3,

zona junto ao dente (tabela 1). Estes dados indicam as coordenadas a partir das quais ocorrem as variações, que neste caso são de diminuição do diâmetro das fibrilas colágenas à medida que nos dirigimos para o ligamento junto à região incisal ou junto à apical do incisivo ($R1 < R3 > R5$), e de aumento de diâmetro a partir de faixa entre as zonas junto ao dente e intermediária em direção à zona junto ao osso, sendo que esta apresenta os maiores valores.

A mesma análise mostrou que o comportamento das fibrilas colágenas, com relação ao seu diâmetro, no ligamento dos dentes desimpedidos (figs 10a, b), foi bastante semelhante ao mostrado nos dentes impedidos. Entre as zonas junto ao dente e intermediária não ficou demonstrada uma tendência acentuada de variação de comportamento dos diâmetros das fibrilas (fig. 10 b), assim podemos considerar que a zona junto ao osso apresenta maior diâmetro que as zonas intermediária e junto ao dente. O ponto estacionário ("ponto de sela") registra um valor de menor diâmetro (39,63 nm) que o do lado impedido (41,42 nm), o que já havia sido indicado pela tabela de médias.

No grupo tratado, os dentes impedidos apresentaram gráfico de superfície de resposta também com padrão semelhante ao do grupo controle. A análise canônica desta superfície aponta o ponto crítico na região "2,94" e zona "1,38", com ponto estacionário correspondendo a um "ponto de sela". Pelo gráfico de contorno (figura 11 b) visualizamos o comportamento onde as variações de diâmetro indicando uma tendência de aumento a partir de faixa da região junto ao dente. O comportamento das regiões seguiu o mesmo padrão apresentado nos dentes do grupo controle. Podemos, ainda, observar que nesta situação ocorreu uma maior variabilidade de diâmetros das fibrilas colágenas em relação aos dentes controle.

O ligamento dos dentes desimpedidos e tratados por vimblastina mostrou, através do gráfico de superfície de resposta (fig.12 a), e através da análise canônica desta superfície, um comportamento diferente dos demais. O ponto crítico, de valor 38,77 nm, neste caso apesar de também se situar na região "3,31" e zona "1,36", semelhante à medida observada na região 3 zona junto ao dente (tabela1), foi definido pela análise canônica como "ponto de mínimo" (fig.12 b), significando que para qualquer direção que se avalie, a

partir das coordenadas do ponto crítico, houve um aumento no valor do diâmetro. O ponto estacionário dos dentes desimpedidos foi praticamente igual ao dos impedidos, 38,77 nm e 38,90 nm, respectivamente.

Comparando-se os gráficos das figuras 9b, 10b, 11b, 12b, verificou-se que a variabilidade e diâmetros das fibrilas colágenas foi maior no grupo tratado que no controle.

A análise canônica da superfície de resposta ainda indicou que nos dois grupos, controle e tratado, houve um efeito maior de zona do que de região, ou em outras palavras, há um indicativo de que as variações nos diâmetros de fibrilas colágenas são mais influenciadas pelas zonas do que pelas regiões (figs. 9b, 10b, 11b, 12b).

Houve, ainda, diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$) entre os dentes com erupção impedida e desimpedida. As diferenças significativas entre as regiões das três zonas são mostradas na tabela 2, e de modo geral, são compatíveis com o que foi demonstrado na análise canônica.

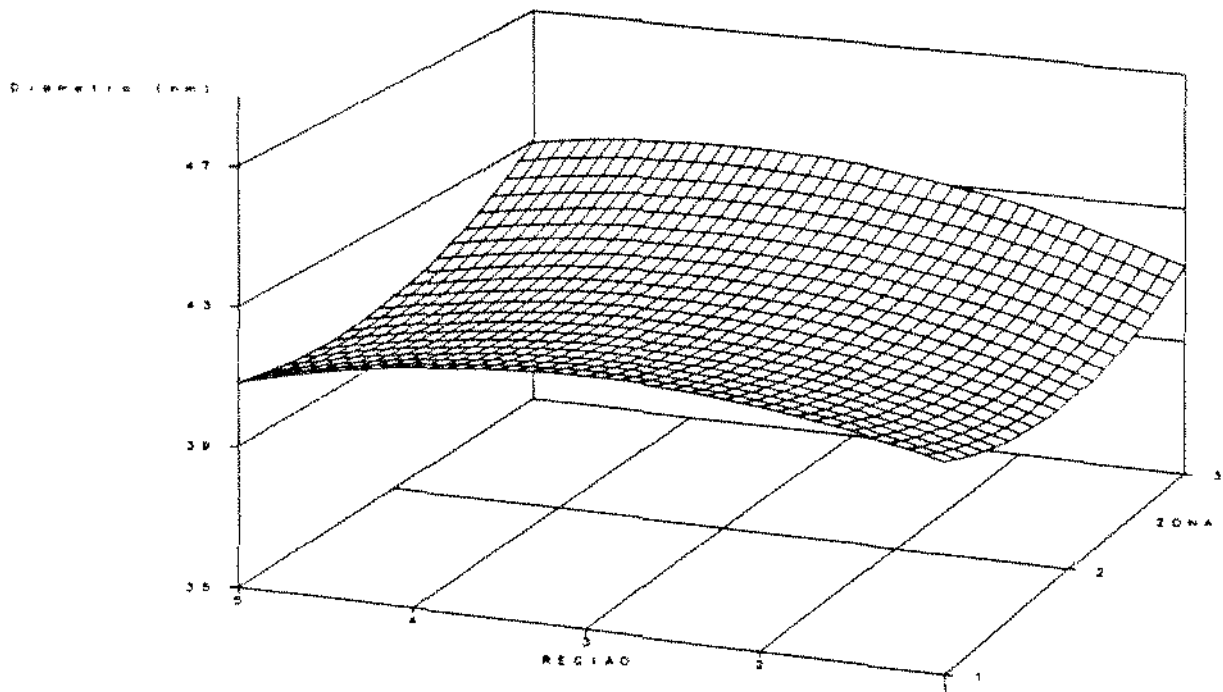
TABELA 2 - Significâncias das interações entre as regiões dos grupos tratado e controle, relativas ao diâmetro das fibrilas colágenas nas zonas do ligamento periodontal, em condições de erupção impedida e desimpedida dos incisivos inferiores do rato.

REGIÕES	ZONA JUNTO AO DENTE		ZONA INTERMEDIÁRIA		ZONA JUNTO AO OSSO	
	DESIMPEDIDO	IMPEDIDO	DESIMPEDIDO	IMPEDIDO	DESIMPEDIDO	IMPEDIDO
1-2	*	n.s.	**	**	**	**
1-3	**	**	**	**	n.s.	**
1-4	**	n.s.	**	n.s.	**	**
1-5	n.s.	n.s.	**	*	*	**
2-3	**	**	n.s.	*	**	**
2-4	**	n.s.	**	**	n.s.	**
2-5	**	n.s.	n.s.	**	**	**
3-4	n.s.	*	n.s.	**	**	*
3-5	n.s.	**	n.s.	n.s.	*	**
4-5	*	n.s.	*	**	**	n.s.

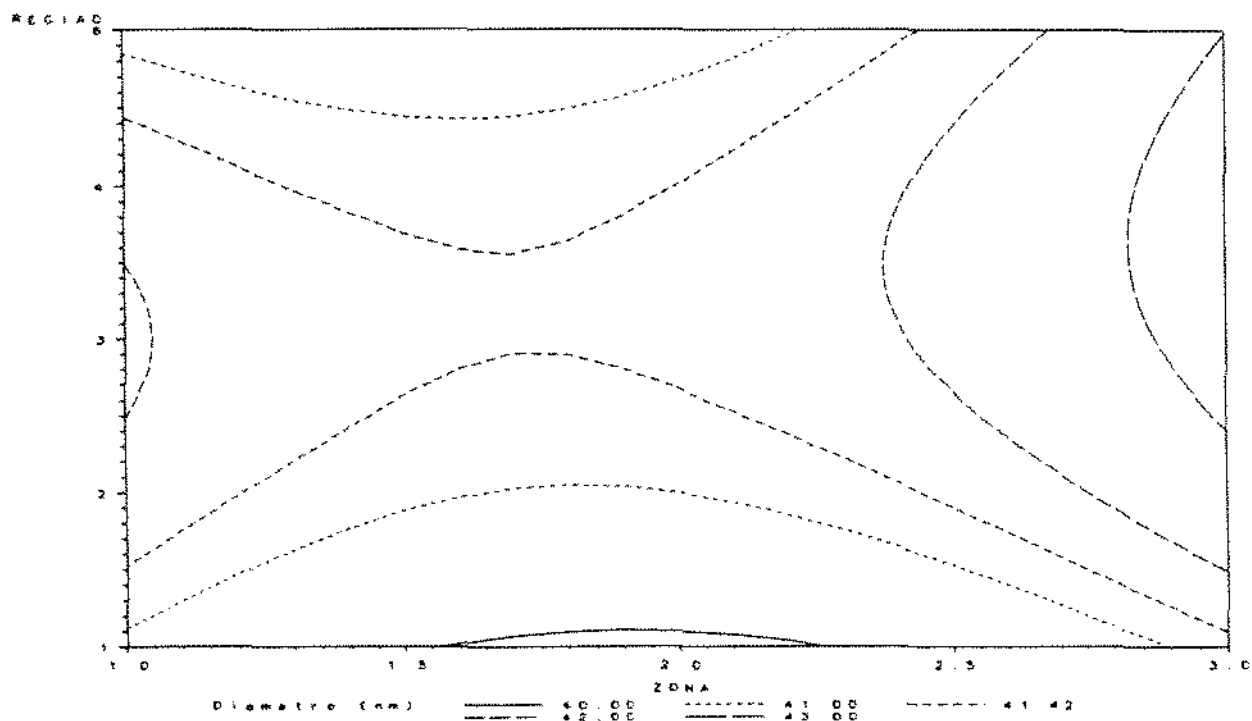
n.s. diferença estatisticamente não significativa

* p<0,05

** p<0,01



A



B

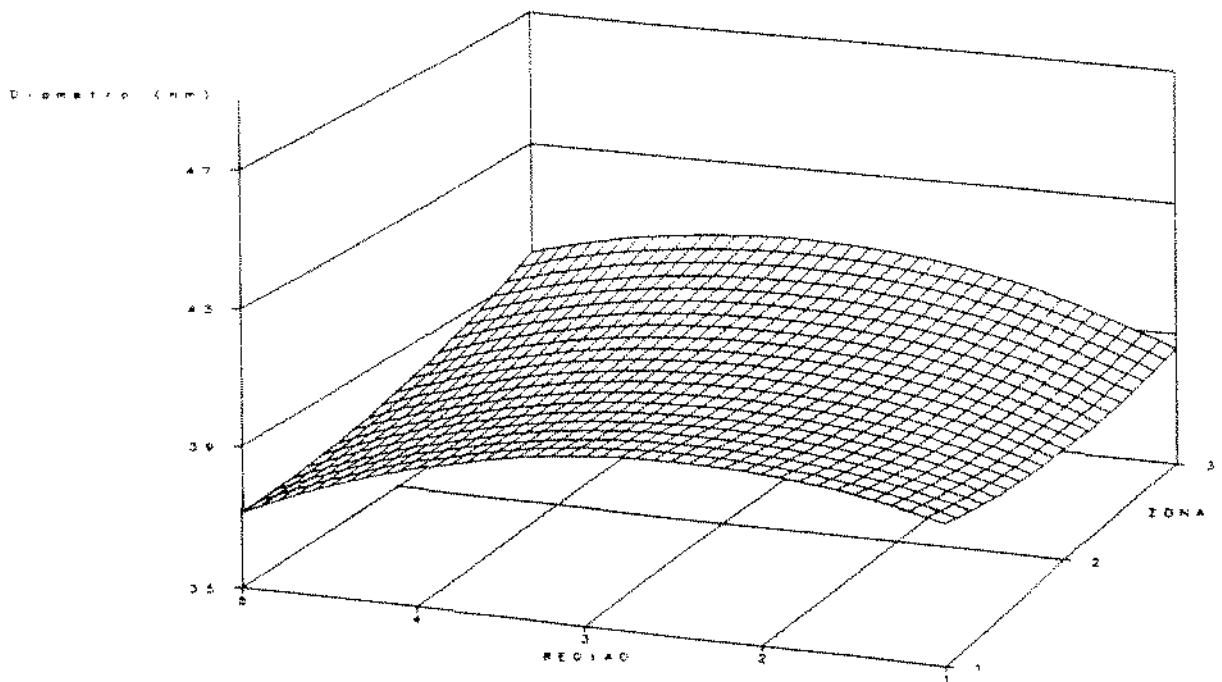
Figura 9 - Valores de diâmetro das fibrilas colágenas do ligamento periodontal de incisivo de rato do grupo controle, erupção impedida, em função das zonas e regiões.

A - Gráfico de regressão de superfície de resposta

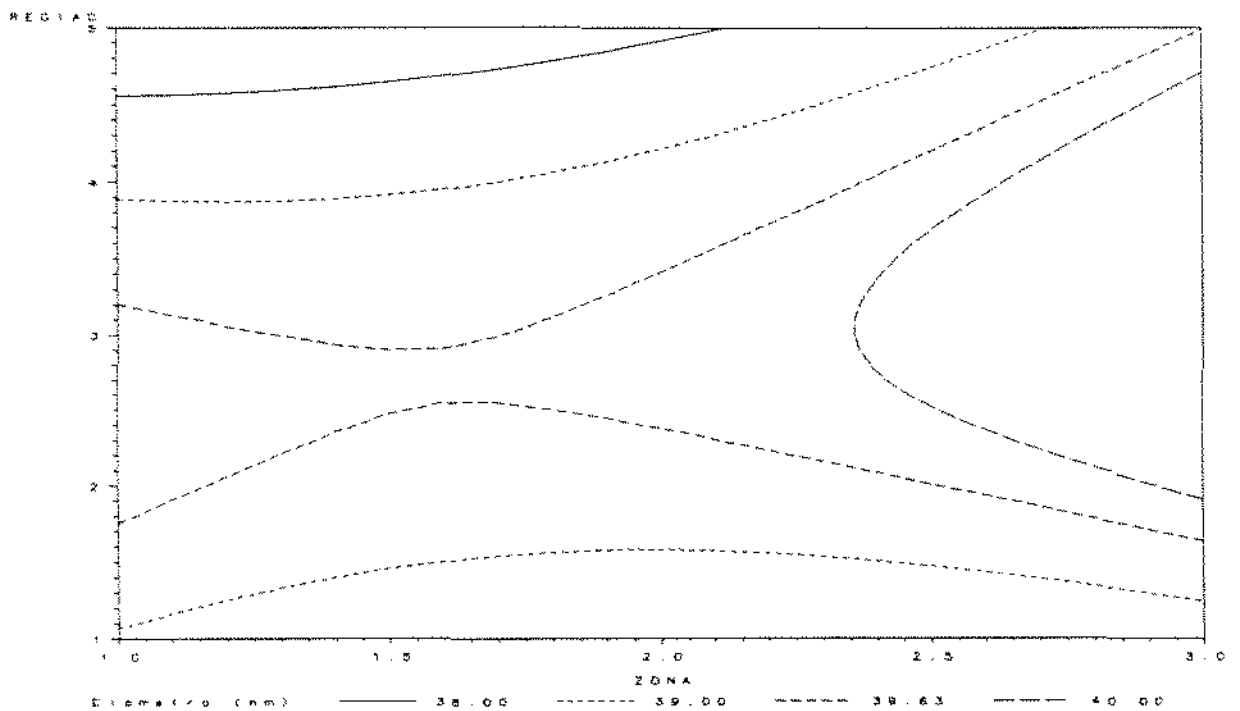
B - Gráfico de contorno (curvas de mesmo diâmetro)

Ponto crítico: Região= 3,2, Zona=1,71. Ponto estacionário = 41,42 nm

Z1 - Zona junto ao dente, Z2 - Zona intermediária, Z3 - Zona junto ao osso alveolar



A



B

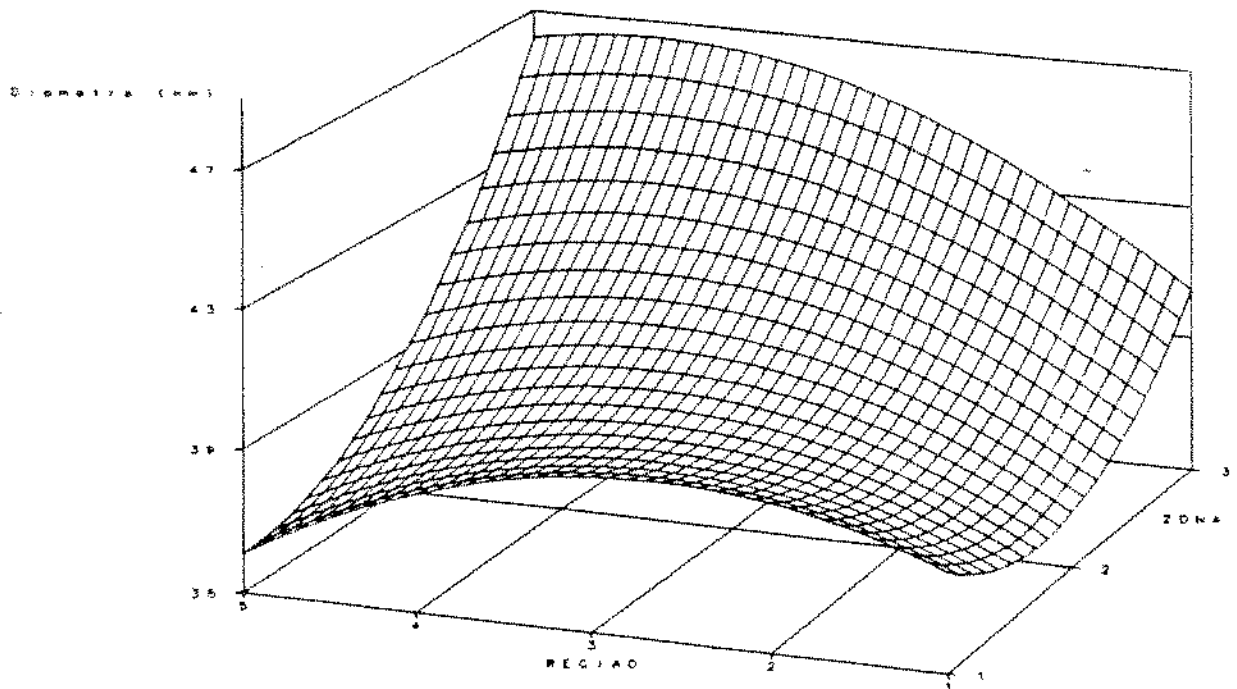
Figura10- Gráfico dos valores de diâmetro das fibrilas colágenas do ligamento periodontal de incisivo de rato do grupo controle, erupção desimpedida, em função das zonas e regiões.

A - Gráfico de regressão de superfície de resposta

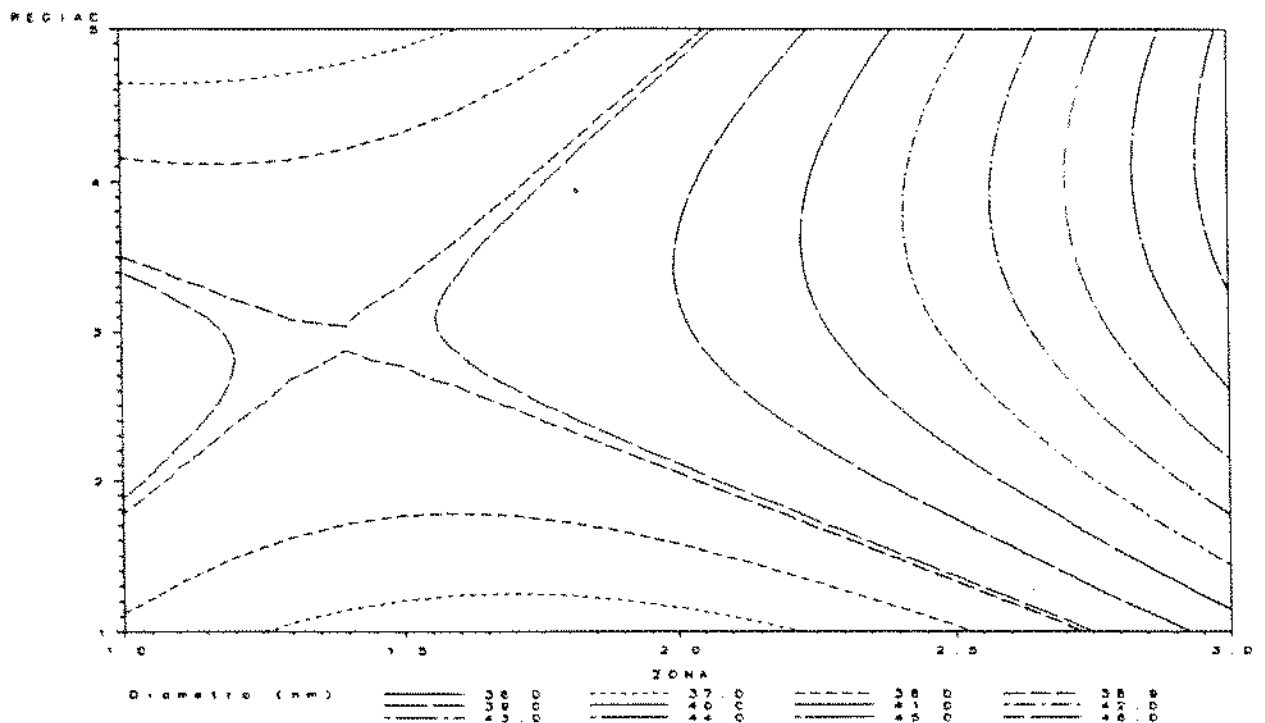
B - Gráfico de contorno

Ponto crítico: Região= 2,7, Zona=1,59. Ponto estacionário = 39,63 nm

Z1 - Zona junto ao dente, Z2 - Zona intermediária, Z3 - zona junto ao osso alveolar



A



B

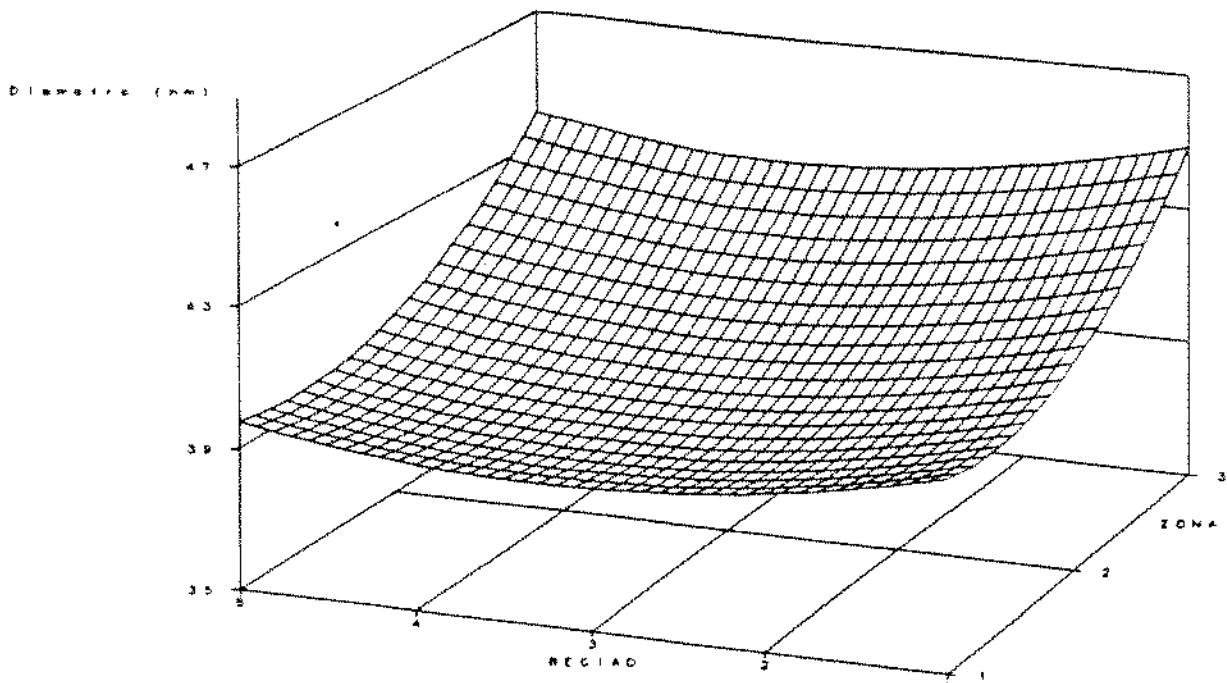
Figura 11- Gráfico dos valores de diâmetro das fibrilas colágenas do ligamento periodontal de incisivo de rato do grupo tratado, erupção impedida, em função das zonas e regiões.

A - Gráfico de regressão de superfície de resposta

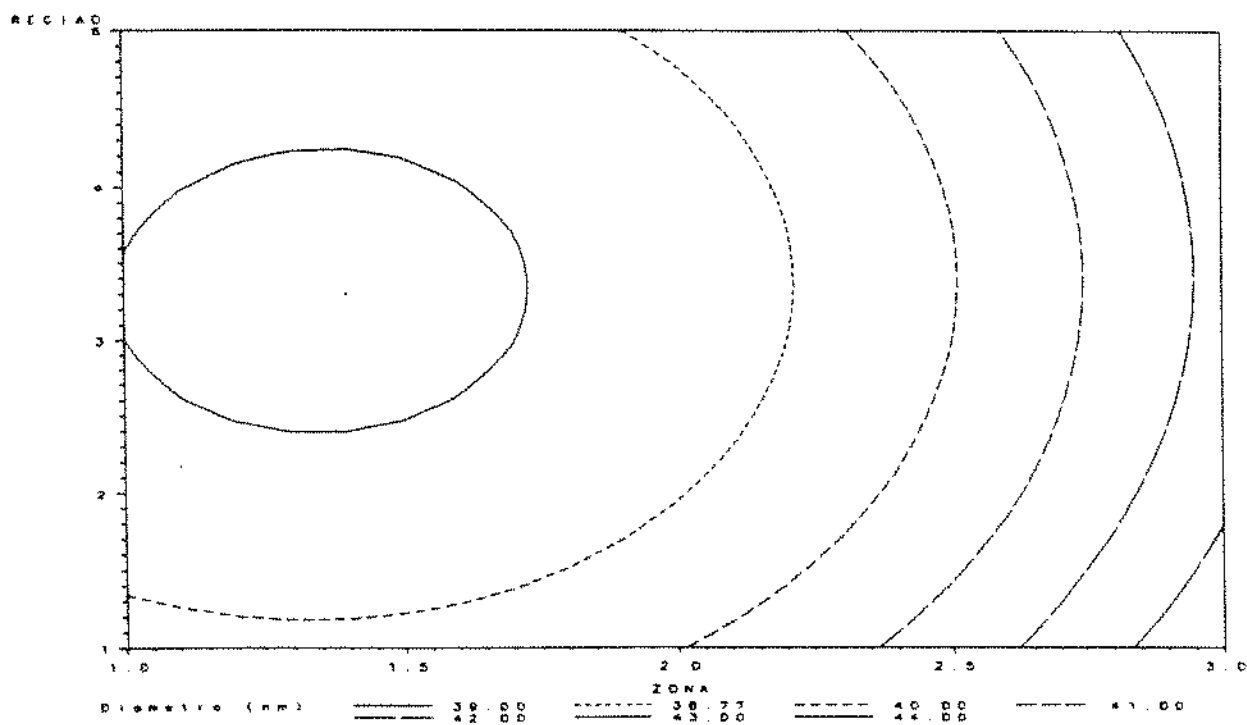
B - Gráfico de contorno

Ponto crítico: Região= 2,94, Zona=1,38. Ponto estacionário = 38,90 nm

Z1 - Zona junto ao dente, Z2 - Zona intermediária, Z3 - zona junto ao osso alveolar



A



B

Figura12- Gráfico dos valores de diâmetro das fibrilas colágenas do ligamento periodontal de incisivo de rato do grupo tratado, erupção desimpedida, em função das zonas e regiões.

A - Gráfico de regressão de superfície de resposta

B - Gráfico de contorno

Ponto crítico: Região = 3,31, Zona= 1,36 . Ponto estacionário = 38,77 nm

Z1 - Zona junto ao dente, Z2 - Zona intermediária, Z3 - zona junto ao osso alveolar

Área relativa de fibrilas colágenas e de substância interfibrilar

Com relação à área relativa de fibrilas colágenas e de substância interfibrilar no ligamento periodontal dos incisivos dos ratos estudados, a análise de variância mostrou que houve poucos casos de diferença estatisticamente significativa entre os dentes impedidos e desimpedidos, tanto no grupo controle como no tratado (tabelas 3 e 4).

A tendência no grupo controle foi a do ligamento dos dentes desimpedidos apresentarem área relativa de fibrilas colágenas menor que os impedidos, o que ocorreu em 9 dentre 15 médias das 5 regiões e 3 zonas, com apenas 4 diferenças significativas. O grupo tratado apresentou a tendência inversa, de 10 casos em 15, a área ocupada por fibrilas foi maior nos dentes desimpedidos, com 3 diferenças significativas.

Como a área de substância interfibrilar é complementar (para 100%) ocorreu o inverso, ou seja, os dentes desimpedidos apresentaram maior área relativa de substância interfibrilar, com as mesmas significâncias estatísticas.

A interação entre os grupos controle e tratado, comparando dentes com erupção impedida e desimpedida só foi significativa em poucos casos e em todos houve inversão, ou seja, onde no controle o valor dos impedidos foi maior que os desimpedidos, no grupo tratado, considerando mesma zona e região, ocorreu o inverso.

A estatística, através de análise de contrastes, demonstrou não haver efeito de zonas nas duas variáveis testadas, com um nível de significância de 5%, o que indica não haver diferença significativa na área relativa de fibrilas colágenas ou de substância interfibrilar entre as diferentes zonas. Por não haver diferenças entre as zonas não foi conveniente traçar o gráfico de superfície de resposta e nem fazer a análise subsequente, como a que foi feita na análise de diâmetro das fibrilas colágenas.

Os testes estatísticos para região e suas interações mostraram que a interação entre região e tratamento foi não significativa, assim como para região e impedimento.

Ainda no que se refere às regiões, através de análise de variância "dentro dos indivíduos", isto é, considerando-se zona e região dentro do mesmo animal, pôde-se concluir que, com relação à área relativa de fibrilas colágenas e substância interfibrilar, todas as regiões diferem da 5 e que a região 2 difere da 4, com diferenças significativas a

nível de 5% (tabela 5). Estas diferenças são válidas tanto para dentes impedidos como para desimpedidos, dos grupos controle e tratado, uma vez que as interações nestas diferentes situações não se mostraram significativas.

O desenvolvimento das análises estatísticas é apresentado no apêndice.

TABELA 3 - Área relativa (em porcentagem) ocupada pelas fibrilas colágenas em feixes de colágeno cortados transversalmente no ligamento periodontal de incisivos de ratos tratados com vimblastina em condições de erupção impedida e desimpedida

CONTROLE											
ERUPÇÃO IMPEDIDA						ERUPÇÃO DESIMPEDIDA					
REGIÕES	ZONAS			REGIÕES	ZONAS						
	JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO		JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO				
1	24,12 ±4,08	22,21 ±2,70	23,74 ±4,86	1	24,21 ±5,08	20,53 ±3,33	24,12 ±4,89				
2	23,97 ±5,48*	29,43 ±7,39**+a	24,53 ±3,77+a	2	29,37 ±6,05*a	22,00 ±3,23**	25,57 ±2,11+				
3	26,63 ±3,19+a	27,65 ±4,37	25,28 ±2,93	3	23,11 ±4,78+	24,89 ±6,91	26,69 ±9,14				
4	24,78 ±4,99	26,66 ±5,67**+a	25,01 ±5,05**	4	22,49 ±2,45	19,31 ±3,24**	19,69 ±2,08**+a				
5	24,65 ±4,89	22,98 ±3,82+	23,67 ±5,14*	5	21,11 ±5,90	23,19 ±5,31+a	18,73 ±3,24				

TRATADO											
ERUPÇÃO IMPEDIDA						ERUPÇÃO DESIMPEDIDA					
REGIÕES	ZONAS			REGIÕES	ZONAS						
	JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO		JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO				
1	24,21 ±4,68	23,98 ±5,94	27,58 ±6,75	1	26,26 ±7,13	23,84 ±4,82	25,16 ±7,88				
2	22,62 ±6,18	22,68 ±3,70+a	28,33 ±5,08**+a	2	24,47 ±4,63a	25,17 ±5,07+	24,48 ±6,65**				
3	20,75 ±4,71**+a	22,78 ±9,60	21,43 ±4,49	3	25,08 ±8,90**	25,59 ±9,44	25,93 ±6,12				
4	25,78 ±3,66	21,72 ±3,03+a	21,90 ±4,90+	4	25,89 ±5,73	22,77 ±5,12+	26,45 ±8,91+a				
5	22,92 ±2,67	22,02 ±3,10**	23,39 ±2,14	5	23,76 ±5,26	18,46 ±3,18**+a	21,37 ±4,00				

Os valores são percentuais médios ± desvio padrão de cada zona em 3 animais por grupo

* Diferença estatisticamente significativa na comparação entre erupção impedida e desimpedida no mesmo grupo e na mesma zona (p < 0,05)

+ Interação estatisticamente significativa na comparação entre os grupos tratado e controle, dentes impedidos e desimpedidos, na mesma zona e condição de erupção (p < 0,05)

a Diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e tratado na mesma condição de erupção

TABELA 4 - Área relativa (em porcentagem) ocupada pela matriz interfibrilar do ligamento periodontal de incisivos de ratos tratados com vimblastina em condições de erupção impedida e desimpedida

ERUPÇÃO IMPEDIDA			CONTROLE			ERUPÇÃO DESIMPEDIDA		
REGIÕES	ZONAS			REGIÕES	ZONAS			
	JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO		JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO	
1	75,88 ±4,08	77,79 ±2,70	76,26 ±4,86	1	75,79 ±5,08	79,47 ±3,33	74,43 ±4,89	
2	76,03 ±5,48*	70,57 ±7,40**a	75,47 ±3,77+a	2	70,63 ±6,06*a	77,80 ±3,23**	74,42 ±2,11+	
3	73,37 ±3,19+a	72,35 ±4,37	74,72 ±2,93	3	76,89 ±4,78+	75,11 ±6,91	73,31 ±9,14	
4	75,22 ±4,99	73,34 ±5,66**a	74,99 ±5,05**	4	77,51 ±2,45	80,69 ±3,24**	80,31 ±2,08**a	
5	75,35 ±4,90	77,02 ±3,82+	76,33 ±5,14*	5	78,89 ±5,91	76,81 ±5,31+a	81,27 ±3,24	

ERUPÇÃO IMPEDIDA			TRATADO			ERUPÇÃO DESIMPEDIDA		
REGIÕES	ZONAS			REGIÕES	ZONAS			
	JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO		JUNTO AO DENTE	INTERMEDIÁRIA	JUNTO AO OSSO	
1	75,79 ±5,08	76,02 ±5,94	72,42 ±6,75	1	73,74 ±7,13	76,16 ±4,82	74,84 ±7,88	
2	77,38 ±6,18	77,32 ±3,70+a	71,67 ±5,08**a	2	75,53 ±4,63a	74,83 ±5,08+	75,52 ±6,65**	
3	79,25 ±4,71**a	77,22 ±9,61	78,57 ±4,49	3	74,92 ±8,90**	74,41 ±9,44	74,07 ±6,13	
4	74,22 ±3,66	78,28 ±3,03+a	78,10 ±4,90+	4	74,11 ±5,73	77,23 ±5,12+	73,55 ±8,91+a	
5	77,08 ±2,67	77,98 ±3,11**	76,61 ±2,14	5	76,24 ±5,26	81,54 ±3,18**a	78,63 ±4,00	

Os valores são percentuais médios desvio ± padrão de cada zona em três animais por grupo.

* Diferença estatisticamente significativa na comparação entre erupção impedida e desimpedida do mesmo grupo e na mesma zona (p < 0,05)

+ Interação estatisticamente significativa na comparação entre os grupos tratado e controle, dentes impedidos e desimpedidos, na mesma zona e condição de erupção (p < 0,05)

a Diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e tratado na mesma condição de erupção

TABELA 5 - Tabela de contrastes para regiões referente às áreas relativas de fibrilas colágenas e substância interfibrilar

REGIÕES	1-2	1-3	1-4	1-5	2-3	2-4	2-5	3-4	3-5	4-5
Significância	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	n.s.	*	*

* $p < 0,05$

DISCUSSÃO

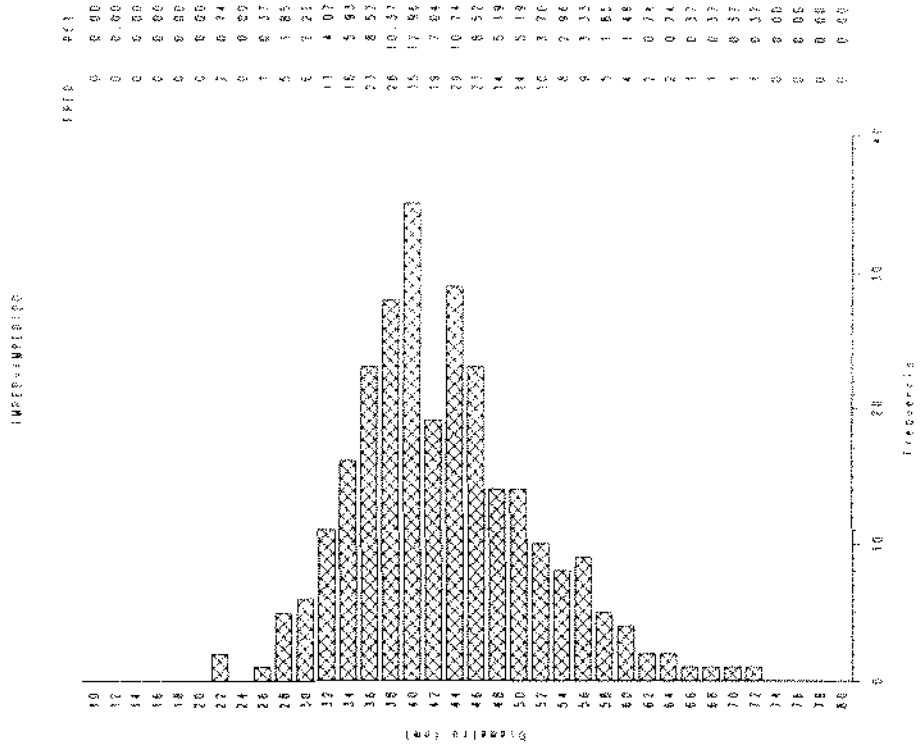
A metodologia utilizada neste trabalho é, até certo ponto, semelhante à apresentada por Shore et al. (1982) que estudaram quantitativamente a estrutura do ligamento periodontal de incisivos de ratos, em condições de erupção impedida e desimpedida, analisando particularmente o diâmetro de fibrilas colágenas e as áreas relativas destas fibrilas e de substância interfibrilar. Assim, em primeiro lugar, vamos comparar seus resultados com os apresentados neste trabalho, para em então, discuti-los.

Shore et al (1982) utilizaram para análise o ligamento periodontal do incisivo, na porção em que este se relaciona com o primeiro molar inferior, e que deve corresponder, aproximadamente, à região 3 de nosso material. Nessa região, estes autores mostraram, no ligamento junto ao dente, que o diâmetro das fibrilas colágenas nos dentes desimpedidos não é significativamente diferente dos impedidos (45,3 nm e 43 nm respectivamente).

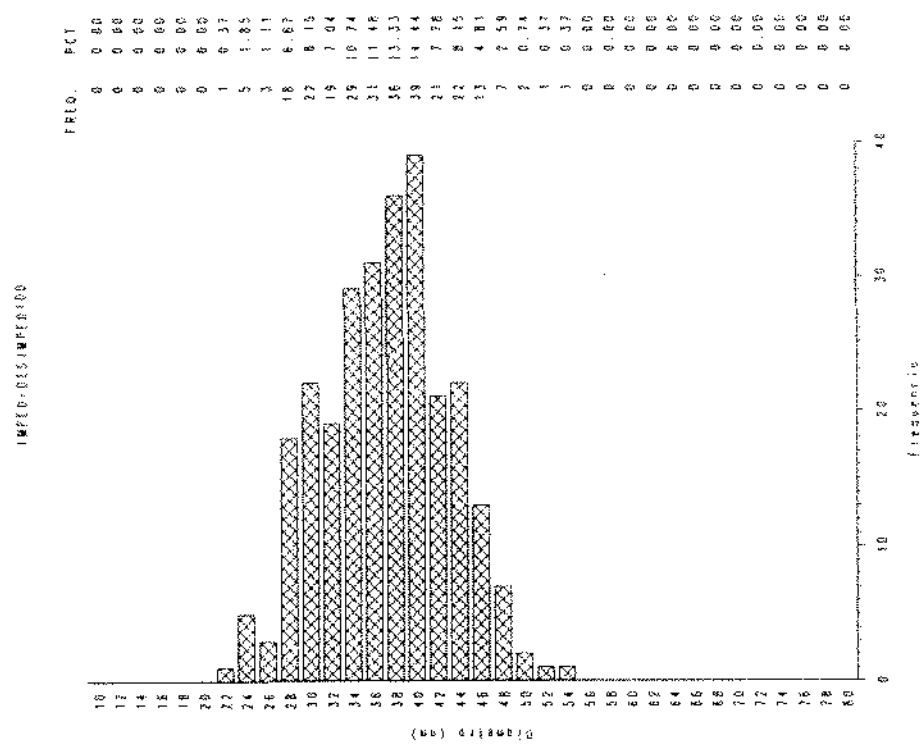
As médias de diâmetro que encontramos na região 3, para as zonas junto ao dente e intermediária (esta talvez tenha sido incluída na avaliação de Shore et al, 1982) foram respectivamente 42,97 nm e 43,61 nm no lado do incisivo impedido para 37,07nm e 39,50 nm do lado do incisivo desimpedido, sendo as diferenças estatisticamente significativas.

Quanto à distribuição dos diâmetros das fibrilas nesta região e zonas, obtivemos um padrão unimodal (figs.13 A, B) semelhante ao encontrado nos trabalhos de Shore, et al (1982) e Berkovitz, et al (1981), e os histogramas das demais regiões mostraram basicamente o mesmo padrão.

Na tentativa de explicar essas divergências entre os resultados aqui apresentados e os de Shore et al (1982) devemos, em primeiro lugar, considerar as diferenças entre os experimentos. Shore et al (1982) utilizaram ratos de 250 g, portanto comparativamente mais velhos; o desimpedimento dos incisivos foi de 18 dias ao invés de 7 dias como neste trabalho e os controles foram de incisivos em oclusão normal, enquanto que aqui foram usados os dentes contralaterais.



A



B

Figura 13 - Histograma da distribuição do diâmetro das fibrilas colágenas do ligamento periodontal de incisivo de rato na região 3, zona junto ao dente.

A- dente impedido

B- dente desimpedido

A diferença entre as idades dos animais explicaria, segundo Frank et al (1989), que estudaram o diâmetro das fibrilas colágenas no ligamento colateral medial da articulação do joelho de coelhos jovens e adultos, os diâmetros médios ligeiramente menores que obtivemos. Estes autores mostraram, ainda, que a variabilidade do diâmetro das fibrilas entre os ligamentos direito e esquerdo de um mesmo animal é muito maior nos animais jovens que nos adultos. Por outro lado, o dente contralateral impedido, usado como controle em muitos trabalhos (e.g. Chiba et al, 1980), é na realidade um dente com uma leve hiperfunção (Steigman et al, 1989) a qual poderia resultar em um aumento de diâmetro das fibrilas colágenas, de acordo com Parry et al (1978). Estes últimos autores referem uma correlação positiva direta entre força tensil de um tecido e diâmetro de fibrilas colágenas, considerando que um aumento no diâmetro das fibrilas colágenas aumentaria, paralelamente, a densidade potencial de ligações cruzadas covalentes intrafibrilares e, por conseqüência, fibrilas maiores teriam presumivelmente uma força tensil maior que as fibrilas menores.

O modo de selecionar as fibrilas a serem medidas talvez tenha também influenciado nos resultados; Shore et al (1982) mediram o diâmetro de todas as fibrilas numa área pré-selecionada de fibrilas cortadas transversalmente. No presente estudo, as fibrilas de uma área selecionada, cortadas transversalmente, foram medidas segundo um critério casual. Embora a distribuição de diâmetros aqui apresentada possa parecer semelhante à encontrada por Shore et al (1982), estes autores, que mediram um maior número de fibrilas, por zona e região, encontraram diâmetros menores. O critério de seleção de fibrilas a serem medidas pode ser importante pois, junto aos fibroblastos, é muito mais comum encontrar fibrilas colágenas de pequeno diâmetro, ao passo que em áreas mais afastadas da célula predominam fibrilas colágenas mais espessas, sendo que Frank et al (1989), no trabalho já referido, excluíram as medidas de fibrilas junto a fibroblastos, evitando, segundo eles, distorção dos resultados.

Além dos trabalhos citados (Shore et al, 1982 e Berkovitz et al, 1981), os únicos trabalhos que encontramos relacionados a diâmetro de fibrilas colágenas em ligamento de dente com erupção alterada são do mesmo grupo de pesquisadores. Estudando o efeito

do diâmetro das fibrilas e de sua área relativa e portanto um aumento de substância interfibrilar.

Em relação à proporção de fibrilas e de substância interfibrilar, Shore et al (1982) mostraram uma significativa redução da substância interfibrilar no ligamento dos dentes impedidos, enquanto que nossos resultados indicaram o inverso.

Alterações quantitativas da matriz extracelular do ligamento, em condições de hipo ou hiperfunção, relatadas na literatura, não são concordantes. A redução de área de substância interfibrilar deveria, em princípio, refletir uma diminuição na quantidade dos principais componentes da substância fundamental dos tecidos conjuntivos - glicoproteínas como a fibronectina, e de proteoglicanas. Porém, em trabalho mais recente em que Shore é colaborador, Kirkham et al (1993) evidenciaram, bioquimicamente, um grande aumento de proteoglicanas em ligamento de dentes desimpedidos e uma considerável redução destas substâncias em dentes em que a erupção foi paralisada; neste trabalho os autores argumentam, ainda, que Van den Bos e Tonino (1984) não encontraram diferença na quantidade de proteoglicanas no ligamento de dentes desimpedidos em relação aos impedidos, porque o desimpedimento foi de apenas 2 semanas e o efeito encontrado foi após 18 dias de erupção desimpedida.

A diminuição da densidade volumétrica do colágeno extracelular foi verificada por Beertsen e Everts (1977), em camundongos, no ligamento de incisivos desimpedidos, porém o aumento que foi usado ao microscópio eletrônico (15000 X) pode não ter sido suficiente para distinguir, com nitidez, fibrilas de substância interfibrilar. Já Deporter et al (1982), distinguindo fibrilas colágenas e substância interfibrilar, encontraram que a densidade volumétrica do colágeno em ligamento periodontal hipofuncional de molares de rato é menor que os contralaterais hiperfuncionais e, estes últimos, têm densidade um pouco menor que o ligamento de dentes normais. Michaeli et al (1986) mostraram que o desimpedimento de 18 dias causou uma diminuição de volume do ligamento de incisivos de ratos e diminuição do que eles denominaram "espaço vital" do fibroblasto (dividindo um determinado volume de ligamento pelo número de fibroblastos nele contido), que pode ter sido causado pela diminuição do volume das células ou da matriz extracelular. Porém,

Steigman et al (1989) mostraram que o volume total do ligamento aumenta ligeiramente após três meses de hipofunção. A diminuição da densidade volumétrica do colágeno extracelular e o concomitante aumento da densidade volumétrica de células e de matriz não colágena, foram mostradas por Beertsen (1987), em ligamento de molares hipofuncionais, em contraste com o controle contralateral em hiperfunção, alterações estas que se acentuaram do 1º ao 7º dia do experimento, resultados semelhantes aos que obtivemos em incisivos hipofuncionais.

Além da correlação positiva entre diâmetro de fibrilas colágenas e força tensil, Parry et al (1978b) mostraram que as ligações cruzadas entre as fibrilas colágenas, na forma de ligações eletrostáticas, e as ligações entre glicosaminoglicanas e fibrilas colágenas, via filamentos de conexão marcados com vermelho de rutênio, são potencialmente mais numerosas se as fibrilas colágenas forem menores. Nossos resultados referentes à área relativa de fibrilas colágenas e substância interfibrilar estão coerentes com este conceito, uma vez que, no grupo controle, o lado desimpedido apresentou fibras de menor diâmetro, e uma maior área de substância interfibrilar, que a marcação por vermelho de rutênio revelou ser rica em glicosaminoglicanas.

A diminuição de diâmetro das fibrilas colágenas do ligamento periodontal em estado de hipofunção do dente estaria também ligada à diminuição de resistência à extração dos dentes desimpedidos, como também foi evidenciado por Chiba et al (1981). A correlação inversa parece ocorrer com a substância fundamental amorfa, conforme os resultados de trabalhos bioquímicos, que demonstram, na erupção desimpedida, um aumento de proteínas não-colágenas (Van den Bos e Tonino, 1984) ou de glicosaminoglicanas (Kirkham et al, 1993).

Se estas alterações da substância fundamental dependem do tempo de hipofunção, como indicaram Shore et al (1982) para os incisivos de ratos, e foi evidenciada por Beertsen (1987) em molares de ratos, elas não parecem estar associadas com alteração de erupção que o desimpedimento provoca. Na verdade, após 24 horas do desimpedimento, a erupção já está acelerada, mas só atinge sua velocidade plena, que é aproximadamente o

dobro do normal, 48 horas após, e assim permanece desde que o dente seja periodicamente cortado ao nível da papila gengival (Chiba et al, 1976).

Outros autores relacionaram o diâmetro das fibrilas colágenas com a velocidade de renovação do colágeno, mostrando uma relação inversa desses fatores, onde o ligamento periodontal apresentou o menor diâmetro de fibrilas e a taxa de renovação mais rápida quando comparado à gengiva e à pele (Svoboda et al, 1983). O ligamento dos dentes desimpedidos foi mostrado ter o metabolismo de prolina, e portanto de colágeno, mais ativo que os dentes impedidos (Beertsen e Everts, 1977). Uma outra indicação neste sentido é o diâmetro das fibrilas colágenas no compartimento junto ao osso alveolar que, segundo nossos resultados, foi significativamente maior que nas demais zonas, enquanto que a meia vida de aminoácidos incorporados pelos fibroblastos deste compartimento foi mais longa do que a observada nas zonas junto ao dente e intermediária (Beertsen e Everts, 1977; Tsé et al, 1988; Polacow e Merzel, 1994).

Com relação aos animais tratados pela vimblastina, nossos resultados referentes ao diâmetro de fibrilas colágenas, mostraram que na maioria das zonas e regiões houve interação, com inversão, na comparação entre os grupos tratado (impedido x desimpedido) e controle (impedido x desimpedido) ou seja, como no grupo controle o ligamento do incisivo desimpedido apresentou, em relação ao impedido, diâmetros menores nas diversas regiões e zonas, no grupo tratado ocorreu, em geral, o inverso.

Os isogramas evidenciaram que no grupo tratado houve uma maior variabilidade de diâmetros das fibrilas colágenas em comparação com o controle e, este resultado é ainda mais evidente no ligamento periodontal do dente impedido. Estes gráficos também demonstraram que o padrão de comportamento foi o mesmo para os dentes impedidos e desimpedidos do grupo controle e para o impedido do grupo tratado. Somente o dente desimpedido tratado pela vimblastina mostrou uma tendência de comportamento diferente das demais.

O mecanismo pelo qual a vimblastina e outras drogas antimicrotubulares agem sobre a erupção dental é desconhecido, o mesmo valendo para outras drogas citotóxicas, latirogênicas e hormônios que alteram a velocidade do movimento. A vimblastina parece se

ligar especificamente à tubulina inibindo sua polimerização, essencial para a formação de microtúbulos e, portanto, as funções das células nas quais os microtúbulos são envolvidos seriam interrompidas (Borisy e Taylor, 1967; Wilson et al. 1974).

O papel dos microtúbulos na força motriz do movimento eruptivo tem sido motivo de controvérsia, Beertsen et al (1974) os consideraram responsáveis pela motilidade dos fibroblastos do ligamento, e esta motilidade explicaria, em parte, o processo de erupção. Esta hipótese foi contradita por Berkovitz et al (1978), que mostraram que o fibroblasto do tecido periodontal relacionado ao esmalte do incisivo de rato, que não se constitui em ligamento, tem quantidade bem superior de microtúbulos que os fibroblastos do ligamento periodontal do incisivo.

A vimblastina retarda a erupção, contudo, o efeito desta droga no processo eruptivo só foi determinado em dentes com erupção desimpedida (Chiba et al, 1980; Tosello, 1990). Não encontramos nenhuma referência na literatura de sua ação na erupção normal de dentes ou em contralaterais impedidos de dentes desimpedidos.

A ação da vimblastina sobre a erupção de dentes normo ou hiperfuncionais merece ser avaliada, a fim de se verificar se a droga tem efeito diferente do obtido sobre dentes hipofuncionais, como sugerem os nossos resultados em relação à variação de diâmetros das fibrilas colágenas.

Outras drogas que também alteram a taxa eruptiva têm mostrado que sua ação é diferente em se tratando de incisivos impedidos ou desimpedidos, ou seja, seu efeito parece depender das forças que atuam nos dentes. Assim, por exemplo, os latirogênicos, que inibem as ligações cruzadas no colágeno, só retardam a erupção de dentes normais ou impedidos (Berkovitz et al, 1982; Tsuruta et al, 1974). A ciclofosfamida, um citostático, provoca um retardo na erupção que só se manifesta em condições de desimpedimento ou hipofunção, mesmo quando a droga é administrada antes do dente entrar neste estado, isto é, quando ainda está em função normal (Burn-Murdoch, 1990).

Com relação à área relativa ocupada pela substância interfibrilar e pelas fibrilas colágenas, os animais tratados com vimblastina mostraram, em nossos resultados, que o ligamento periodontal do incisivo desimpedido teve como tendência, embora sem

significância estatística, apresentar uma área de substância interfibrilar menor que a do respectivo grupo controle.

A vimblastina, por sua ação antimicrotubular, causa atraso na exocitose de secreções celulares, embora nem sempre altere a capacidade biossintética das células, como parece ser o caso do ligamento periodontal (Tosello, 1990; Polacow e Merzel, 1994). A secreção mais afetada pela vimblastina é a das proteínas não-colágenas, que têm sua meia-vida prolongada (Polacow & Merzel, 1994). Em estudo bioquímico, ainda em fase inicial, a vimblastina provocou, em ligamento periodontal de incisivos normofuncionais de ratos, uma degradação das proteínas não-colágenas, entre as quais devem estar incluídas as proteoglicanas (Horibe et al, 1994). Segundo Parry et al (1978b) e Bartold (1987), as proteoglicanas podem ser um fator de modulação do diâmetro das fibrilas colágenas.

Os trabalhos referidos no parágrafo anterior indicam que o metabolismo do colágeno, relativo à sua biossíntese e meia-vida, pareceu não ter sido alterado pela vimblastina, o mesmo ocorrendo em relação à sua quantidade. Contudo, a degradação do colágeno, que seria um dos moduladores importantes deste metabolismo, poderia estar afetada, interferindo assim na duração e maturação das fibrilas colágenas, e portanto em seu diâmetro (Svoboda et al, 1983). Segundo Shore et al (1991), entre outros autores, a degradação do colágeno poderia se dar por uma via rápida, anterior à sua transformação em fibrilas e outra mais lenta, representada pela fagocitose de fibrilas funcionais formando as chamadas vesículas de colágeno. Beertsen et al (1974), em estudo sobre microtúbulos em fibroblastos do ligamento periodontal, apresentaram em seus resultados uma correlação negativa entre a dose de droga antimicrotubular usada, colchicina, e densidade de volume de vesículas intracelulares contendo colágeno, indicando assim, que a fagocitose do colágeno é microtúbulo-independente.

As diferenças entre regiões e zonas em que dividimos o ligamento periodontal do incisivo neste estudo, parecem ter ficado demonstradas em relação ao diâmetro das fibrilas colágenas. Os estereogramas e isogramas, que são o resultado de uma análise que ajusta uma curva a partir de dados brutos, mostrou um modelo matemático de comportamento dos citados diâmetros. Neste modelo a região 3 do ligamento, que está relacionada ao primeiro

molar inferior, é a que funcionou como referência, onde se situou o "ponto crítico". A partir das coordenadas desse "ponto" as fibrilas tendem a diminuir de diâmetro em direção aos extremos incisal e apical, nos dentes controle e nos impedidos tratados com vimblastina, ou a aumentar nos tratados desimpedidos. Mostrou ainda, que em todas as situações, a região do ligamento junto ao osso alveolar, além de diferenças estruturais, que são evidentes mesmo em microscopia de luz, devido a presença de vasos e nervos, também difere das zonas junto ao dente e intermediária pelo maior diâmetro de suas fibrilas colágenas. O ponto de referência onde se situou o ponto crítico na espessura das fibrilas do ligamento, ficou em faixa entre as zonas junto ao dente e intermediária, que pode ser coincidente com a área em que os vários autores já citados (e.g. Berkovitz et al, 1980) referiram estar situada a zona de cisalhamento. Para precisar sua localização deveria ser feita uma "varredura", ou seja a determinação dos diâmetros em faixas sucessivas cobrindo a espessura do ligamento, o que permitiria ajustar melhor o modelo.

Tais tendências de comportamento, excetuando-se aquela referente à zona junto ao osso, não podem ser apreendidas analisando-se simplesmente as tabelas de médias dos diâmetros de cada zona em cada região, pois mesmo quando dois compartimentos apresentam diferenças estatísticas significativas, o sentido desta diferença nem sempre aparece como a do modelo descrito. Esta situação talvez possa ser explicada pela análise, já citada, feita por Frank et al (1989), no ligamento colateral medial da articulação do joelho de coelhos. A variabilidade significativa de 20%, em média, entre os diâmetros das fibrilas colágenas do ligamento direito e esquerdo do mesmo animal, é considerada normal, principalmente em animais jovens. Quando se comparam pares de ligamentos (o que os autores chamam de controle interno), usando-se três animais, seria necessário, segundo os cálculos dos referidos autores, medir 700 fibrilas por ligamento (no nosso caso em cada zona das cinco regiões) para que diferenças menores que 5% do diâmetro médio das fibrilas fossem estatisticamente significantes. Como encontramos diferenças significativas com 90 medidas em cada compartimento, é possível que se aumentarmos esse número possamos compensar aquela variabilidade normal e obter, mesmo com as médias, um quadro que se assemelhe ao modelo derivado da análise de regressão de superfície de resposta.

Com relação aos resultados de área relativa de fibrilas colágenas e substância interfibrilar, onde as diferenças entre os grupos nas zonas e regiões estudadas foram, na maioria, não significativas (tabela 5), eles poderão se tornar mais relevantes quando transformados em densidade volumétrica e relacionados aos demais componentes do ligamento periodontal, objeto de outros trabalhos em andamento. É possível que assim, pequenas diferenças de área venham a se tornar estatisticamente significativas, se corresponderem a volumes bastante diferentes.

Os dois parâmetros analisados neste trabalho, podem não ser os ideais para caracterizar as diferentes regiões na extensão do ligamento periodontal, pois assim como é possível distinguir a zona do ligamento junto ao osso alveolar em cortes ao microscópio de luz, também não há dificuldade em se distinguir cortes da região incisal transversais da região 1, daqueles feitos nas regiões de 3 a 5, sendo que a região 2 e 4 se apresentam como de transição.

Por outro lado, pode-se concluir que, no que se refere ao diâmetro das fibrilas colágenas, as diferenças encontradas em relação aos ligamentos dos dentes tratados com vimblastina, impedidos e desimpedidos, foram mais acentuadas na região 3 do que nas regiões 1 e 5 (figs. 11b e 12b). É possível pois, que, em estudos envolvendo alterações do movimento eruptivo ou de forças que atuam sobre o dente e seus efeitos sobre o ligamento periodontal, a escolha da região do ligamento a ser analisada possa interferir na interpretação dos resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTOLD, P.M. (1987) Proteoglycans of the periodontium: Structure, role and function. **J. Period. Res.** **22**: 431-44.
- BEERTSEN, W. (1973) Tissue dynamics in the periodontal ligament of the mandibular incisor of the mouse: a preliminar report. **Archs. oral Biol.** **18**: 61-6.
- BEERTSEN, W. (1987) Collagen phagocytosis by fibroblasts in the periodontal ligament of the mouse molar during the inicial phase of hypofunction. **J. Dent. Res.** **66**: 1708-12.
- BEERTSEN, W.; EVERTS, V.; VAN DEN HOOF, A. (1974) Fine structure of fibroblasts in the periodontal ligament of the rat incisor and their possible role in eruption. **Archs. oral Biol.** **19**: 1087-98.
- BEERTSEN, W.; EVERTS, V. (1977) The site of remodeling of collagen in the periodontal ligament of the mouse incisor. **Anat. Rec.** **189**: 479-98.
- BERKOVITZ, B.K.B.; THOMAS, N.R. (1969) Unimpeded eruption in the root resected lower incisor of the rat with a preliominary note on root transection. **Archs. oral Biol.** **14**: 771-80.
- BERKOVITZ, B.K.B.; SHORE, R.C. (1978) The ultrastructure of the enamel aspect of the rat incisor periodontium in normal and root resected teeth. **Archs. oral Biol.** **23**: 681-89.
- BERKOVITZ, B.K.B.; SHORE, R.C.; SLOAN, P. (1980) Histology of the periodontal ligament of rat mandibular incisor following root resection, with special reference to the shear zone. **Archs. oral Biol.** **25**: 235-44.
- BERKOVITZ, B.K.B.; WEAVER, M.E.; SHORE, R.C.; MOXHAM, B.J. (1981) Fibril diameters in the extracellular matrix of the periodontal connective tissues of the rat. **Connect. Tissue Res.** **8**: 127-32.
- BERKOVITZ, B.K.B.; MIGDALSKI, A.; SOLOMON, M. (1982) The effect of the lathyrict agent aminoacetonitrile on the unimpeded eruption rate in normal and root resected rat lower incisors. **Archs. oral Biol.** **17**: 1755-63.

- BLAUSHILD, N.; MICHAELI, Y; STEIGMAN, S. (1992) Histomorphometric study of the periodontal vasculature of the rat incisor. **J. Dent. Res.** **71**:1908-12.
- BORISY, G.G.; TAYLOR, E.W. (1967) The mechanism of action of colchicine. Binding of colchicine ^3H to cellular protein. **J. Cell. Biol.** **34**: 525-33.
- BOX, G.E.P. (1954) The exploration and exploitation of responses surfaces: some general considerations. **Biometrics** pp 10-16.
- BOX, G.E.P.; DRAPER, N.R. (1982) Measures of lack of fit for response surface designs and predictor variable transformations. **Technometrics** **24**: 1-8.
- BURN-MURDOCH, R.A. (1989) Does interstitial pressure have a role in tooth eruption? In: **Biological mechanisms of tooth eruption** (Edited by Davidovitch, Z.) pp. 225-32, EBSCO Media, Alabama.
- BURN-MURDOCH, R.A. (1990) The effect of cyclophosphamide on the eruption of impeded and resected incisors in rats. **Archs oral Biol.** **35**: 801-6.
- CHIBA, M.; TASHIRO, T.; TSURUTA, M.; ETO, K. (1976) Acceleration and circadian rhythm of eruption rates in the rat incisor. **Archs. oral Biol.** **21**: 269-71.
- CHIBA, M., TAKIZAWA, K.; OSHIMA, S. (1980) Dose-response effects of colchicine and vinblastine on unimpeded eruption rates of the rat mandibular incisor. **Archs. oral Biol.** **25**: 115-19.
- CHIBA, M.; KURIODA, T.; OSHIMA, S. (1981) Effects of adrenocorticoids on impeded and unimpeded eruption rates and on the mechanical properties of the periodontium in the rat mandibular incisor. **Archs. oral Biol.** **26**: 577-83.
- CHIBA, M.; YAMANE, A.; OSHIMA, S.; KOMATSU, K. (1990) In vitro measurement of regional differences in the mechanicals properties of the periodontal ligament in the rat mandibular incisor. **Archs. oral Biol.** **35**: 153-61.
- DEPORTER, D.A.; SVOBODA, L.A.; MOTRUK, W.; HOWLEY, T.P. (1982) A stereologic analysis of collagen phagocytosis by periodontal ligament fibroblasts during occlusal hypofunction in the rat. **Archs. oral Biol.** **27**: 1021-25.

- ECCLES, J.D. (1965) The effects of reducing function and stopping eruption on the periodontium of the rat incisor. **J. Dent. Res.** **44**: 860-68.
- FRANK, C.; BRAY, D.; RADEMAKER, A.; CHRUSCH, C.; SABISTON, P.; BODIE, D.; RANGAYYAN, R. (1989) Electron microscopic quantification of collagen fibril diameters in the rabbit medial collateral ligament : a baseline for comparison. **Connect. Tiss. Res.** **19**: 11-25.
- HORIBE, I Y.; BERALDO, L.F.; SILVA, D.M.; MERZEL, J. (1994) Efeito da vimblastina no conteúdo proteico do ligamento periodontal de incisivos de ratos. Anais da XI Reunião Anual da SBPqO, pp 84.
- KARNOVSKY, M.J. (1965) A Formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electronmicroscopy. **J. Cell Biol.** **27**:137-138.
- KIRKHAM, J; ROBINSON, C.; SHORE, R.C. (1991) Rates of protein turnover at specific sites of the rat incisor periodontal ligament. **J. Biol. Buccale** **19**: 61-7.
- KIRKHAM, J.; ROBINSON, C.; PHULL, J.K.; SHORE, R.C.; MOXHAM, B.J.; BERKOVITZ, B.K.B. (1993) The effect of rate of eruption on periodontal ligament glycosylaminoglycans content and enamel formation in the rat incisor. **Cell Tissue Res.** **274**: 413-19.
- LUFT, J.H. (1971) Ruthenium red and violet II. Fine structural localization in animal tissues. **Anat. Rec.** **171**: 369-416.
- MAEDA, T.; SATO, O.; KOBAYASHI, S.; IWANAGA, T; FUJITA, T. (1989) The ultrastructure of Ruffini endings in the periodontal ligaments of rat incisor with special reference to the terminal Schawnn cells. **Anat. Rec.** **223**: 95-103.
- MAEDA, T.; KANNARI, K.; SATO, O.; KOBAYASHI, S.; IWANAGA, T; FUJITA, T. (1990) Cholinesterase activity in terminal Schawnn cells associated with Ruffini endings in the periodontal ligament of the rat incisors. **Anat. Rec.** **228** : 339-44.
- MAEDA, T.; SATO, O.; KAWAHARA, I; TAKANO, Y. (1993) Histochemical demonstrstion of acid phosphatase activity in terminal Schawnn cells associated with Ruffini endings in the periodontal ligament of rat incisors. **Archs oral Biol.** **38**: 611-17.

- MATENA, V. (1972) The periodontium of the enamel aspect of the rat incisor. **J. Periodontol.** **43**:311-15.
- MATENA, V.(1973) Periodontal ligament of a rat incisor tooth. **J. Periodontol.** **44**: 629-35.
- MEAD, R.; PIKE, D.J. (1985) A review of response surface methodology from a biometric point of view. **Biometrics** **31**: 803.
- MICHAELI, Y.; STEIGMAN, S.; YITSCHAKY, M.; WEINREB Jr., M. (1986) The response of the fibroblast population in the periodontal ligament of the rat incisors to altered eruption rates. **J. Period. Res.** **21**: 86-94.
- PARRY, D.A.D.; CRAIG, A.S.; BARNES, G.R.G. (1978 a) Tendon and ligament from the horse: an ultrastructural study of collagen fibrils and elastic fibres as a function of age. **Proc. R. Soc. Lond. B.** **203**: 293-303.
- PARRY, D.A.D.; BARNES, GRG, CRAIG, A.S. (1978 b) A comparison of the size distribution of collagen fibrils in connective tissues as a function of age and a possible relation between fibril size distribution and mechanical properties. **Proc. R. Soc. Lond.B.** **203**: 305-21.
- PEARSON, C.H. (1982) The ground substance of the periodontal ligament. In: **The Periodontal Ligament in Health and Disease** (Edited by Berkovitz, B.K.B., Moxham, B.J. and Newmann, H.N.) pp.119-49. Pergamon Press, Oxford.
- POLACOW, M. L. O.; MERZEL, J. (1994) The effects of vinblastine on the incorporation of ³H-glycine into proteins of the periodontal ligament of impeded and unimpeded mouse incisors. **Archs. oral Biol.** **39**: 223-30.
- SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT. (1989) User's guide, version 6, fourth edition, vols 1 e 2: pp 846.
- SHORE, R.C.; MOXHAM, B.J.; BERKOVITZ, B.K.B. (1982) A quantitative comparison of the ultrastructure of the periodontal ligaments of impeded and unimpeded rat incisors. **Archs. Oral Biol.** **27**: 423-30.

- SHORE, R.C.; MOXHAM, B.J.; BERKOVITZ, B.K.B. (1984) Changes in collagen fibril diameters in a lathyrotic connective tissue. **Connect. Tissue Res.** **12** : 249-55.
- SHORE, R.C.; BERKOVITZ, B.K.B.; MOXHAM, B.J. (1985) The effects of preventing movement of the rat incisor on the structure of its periodontal ligament. **Archs. oral Biol.** **30**: 221-28.
- SHORE, R.C.; KIRKHAM, J.; ROBINSON, C.; MOXHAM, B.J. BERKOVITZ, B.K.B. (1991) An assessment ultrastructural analysis of fibroblasts of the periodontal ligament in rats. **J. Biol. Buccale** **19**: 68-73.
- SICHER, H. (1942) Tooth eruption: the axial movement of continuously growing teeth. **J. Dent. Res.** **21**: 201.
- SLOAN, P. (1978) Scanning electron microscopy of the collagen fibre architecture of the rabbit incisor periodontium. **Archs oral Biol.** **23**:567-72.
- SLOAN, P. (1981) Some observations on the distribution and form of alveolar Sharpey fibres in the rat, rabbit, macaque and man. **J. Dent. Res.** **60**: 1193.
- STEIGMAN, S.; MICHAELI, Y.; WEINREB, M. (1989) A three-dimensional evaluation of the effects of functional occlusal forces on the morphology of dental and periodontal tissues of the rat incisor. **J. Dent. Res.** **68**: 1269-74.
- SVOBODA, E.L.A.; HOWLEY, T.P.; DEPORTER, D.A. (1983) Collagen fibril diameter and its relation to collagen turnover in three soft connective tissues in the rat. **Connect. Tissue Res.** **12**: 43-8.
- TENG, CHI-MIN ; SOBWOSKI, F.J.; JONHSTON JR., L.E. (1989) The effect of cortisone on the eruption rate of root-resected incisors in the rat. **Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.** **95**: 67-71.
- TOSELLO, D.O. (1990) Biossíntese de proteínas do ligamento periodontal de incisivos de camundongos em erupção desimpedida e retardada pela vimblastina. Estudo radioautográfico através da incorporação de ³H-glicina. Tese de mestrado, FOP-UNICAMP- Piracicaba.

- TSÉ, M.C.P.; BOAVENTURA, M.C.; FERNANDES, G.D.; MERZEL, J. (1988) The effects of cerebral hemidecortication on the eruption rate and uptake of ³H-glycine by the periodontal ligament of the rat incisor. **Archs. oral Biol.** **33**: 605-11.
- TSURUTA, M.; ETO, K.; CHIBA, M. (1974) Effect of daily or 4-hourly administrations of lathyrogens on the eruption rates of impeded and unimpeded mandibular incisors of rats. **Archs oral Biol.** **19**: 1221-26.
- VAN DEN BOS; TONINO, G.J.M. (1984) Composition and metabolism of the extracellular matrix in the periodontal ligament of impeded and unimpeded rat incisors. **Archs. oral Biol.** **39**: 893-97.
- WEIBEL, E.R. (1969) Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. **Int. Rev. Cytol.** **26**: 235-302.
- WILSON, L.; BAMBURG, J.R.; MIZEL, S.B.; GRISHAM, L.M.; CRESWELL, K.M. (1974) Interaction of drugs with microtubule proteins. **Fedn Proc. Fedn Am. Socs exp Biol.** **33**: 158-66.
- YAMAMOTO, T. (1986) The innermost layer of cementum in rat molars: its ultrastructure, development, and calcification. **Arch. hist. Jap.****49**: 459-81.
- ZAJICEK, G. (1974) Fibroblasts cell kinetics in the periodontal ligament of the mouse. **Cell Tiss. Kinet.** **7**: 479-92.

Apêndice

RELATÓRIO DAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS

ZONA 1= ZONA INTERMEDIÁRIA

ZONA 2 = ZONA JUNTO AO DENTE

ZONA 3 = ZONA JUNTO AO OSSO ALVEOLAR.

Relatório de Processamento de Dados

1. Objetivos.

O presente relatório objetiva apoiar a interpretação do resultado do processamento dos dados obtidos em pesquisa científica.

Esse relatório se refere à análise de variância da variável **DIÂMETRO** referente ao diâmetro das fibras colágeno observadas.

2. Metodologia.

Partiu-se de uma análise de variância seguindo o modelo de "parcelas subdivididas", no qual o tratamento definiu a parcela principal e o impedimento definiu a sub-parcela. Podemos encarar essa estrutura de uma outra forma: cada animal receberia, ou não, o tratamento.

Dessa forma definiu-se que os animais formam as parcelas. Cada animal, entretanto, recebeu um segundo tipo de tratamento: o impedimento que foi aplicado em apenas um lado de sua boca, dessa forma, caracterizou-se uma sub-divisão na parcela.

Seguindo esse modelo, a análise de variância permitiria tomar decisões em relação aos dois fatores tratados no experimento: **Impedimento** e **Tratamento**.

O fator **Impedimento** apresenta dois níveis: Impedido e Não Impedido e o fator **Tratamento**, também apresenta dois níveis: Tratado e Controle.

A análise de variância convencional auxiliaria a tomada de decisão relacionada a esses dois fatores. As duas hipóteses testadas seriam as seguintes: H_0 : Impedido = Não impedido

Em caso da rejeição da hipótese de nulidade enunciada anteriormente, aceitaria-se a hipótese alternativa: H_a : Impedido \neq Não impedido.

Por se tratar da subparcela, o quadro de análise de variância utilizou o último resíduo do quadro de análise de variância.

Para testar o efeito de tratamento, testou-se a seguinte hipótese de nulidade: H_0 : Tratado = Controle

Em caso da rejeição da hipótese de nulidade enunciada anteriormente, aceitaria-se a hipótese alternativa: H_a : Tratado \neq Controle

O teste utilizou a interação TRAT x REPET como resíduo para o teste de tratamentos. O quadro de análise de variância para esses fatores ficaria da seguinte forma:

Causa de Variação	G.L.
TRAT	1
RESÍDUO (A)	538
PARCELA	5
IMPEDIMENTO	1
TRATAMENTO*IMPEDIMENTO	1
RESÍDUO (B)	538
TOTAL	1079

Até aqui pudemos tratar as informações observadas em cada um dos animais (parcelas) e em cada lado da boca de cada animal (subparcela), o que ainda não trata de toda a informação gerada nesse experimento. Ocorre que cada dente exposto a uma das quatro combinações possíveis sofreu diversas mensurações, no caso, em cinco regiões e três zonas.

Por se tratarem de diversas medidas observadas em um mesmo dente de um mesmo animal, optou-se pela aplicação da técnica de medidas repetidas. Através dessa metodologia de análise multivariada de dados, pode-se comparar, além do efeito de TRATAMENTO e IMPEDIMENTO, as zonas e as regiões, cuja identificação se dá através de diversas variáveis.

3.1. Estrutura dos arquivos.

Cada variável observada foi codificada de forma que as duas primeiras letras indicam o tipo de valor observado (NM:DIAMETRO EM NANÔMETROS) e os dois números que completam o nome da variável indicam a região e a zona observada.

Para facilitar a interpretação dos resultados, cada variável recebeu um rótulo que explicita a variável analisada e a região e zona de leitura. Esse rótulo é mostrado a frente do nome da variável, na listagem da estrutura do arquivo.

Essa codificação bem como as informações relacionadas ao arquivo que foi criado para o armazenamento dos dados é listado a seguir no resultado do processamento do procedimento CONTENTS.

Estrutura do arquivo de dados

CONTENTS PROCEDURE

```
Data Set Name: C.DIAMETRO          Type:
Observations: 1080                Record Len: 156
Variables: 19
Label:
```

-----Alphabetic List of Variables and Attributes-----

#	Variable	Type	Len	Pos	Format	Label
2	IMPED	Num	8	12	IMPED.	
5	NM11	Num	8	36		Diametro na Regiao 1, Zona 1
6	NM12	Num	8	44		Diametro na Regiao 1, Zona 2
7	NM13	Num	8	52		Diametro na Regiao 1, Zona 3
8	NM21	Num	8	60		Diametro na Regiao 2, Zona 1
9	NM22	Num	8	68		Diametro na Regiao 2, Zona 2
10	NM23	Num	8	76		Diametro na Regiao 2, Zona 3
11	NM31	Num	8	84		Diametro na Regiao 3, Zona 1
12	NM32	Num	8	92		Diametro na Regiao 3, Zona 2
13	NM33	Num	8	100		Diametro na Regiao 3, Zona 3
14	NM41	Num	8	108		Diametro na Regiao 4, Zona 1
15	NM42	Num	8	116		Diametro na Regiao 4, Zona 2
16	NM43	Num	8	124		Diametro na Regiao 4, Zona 3
17	NM51	Num	8	132		Diametro na Regiao 5, Zona 1
18	NM52	Num	8	140		Diametro na Regiao 5, Zona 2
19	NM53	Num	8	148		Diametro na Regiao 5, Zona 3
3	REGIAO	Num	8	20		
4	REPET	Num	8	28		
1	TRAT	Num	8	4	TRAT.	

3.2. Análise de Variância UNIVARIADA.

Inicialmente serão executadas as análises de variância univariadas que permitirão tirar conclusões a respeito dos diâmetros observados separadamente em cada região e zona. Essa primeira análise ainda não permitirá a tomada de decisões relacionadas às diferenças observadas entre as zonas e as regiões.

Serão apresentados os resultados do quadro de análise de variância (ANOVA) e em seguida o teste de comparações múltiplas de médias de TUKEY. Quando necessário poderá ser incluído um quadro de médias para estudo de interações significativas.

3.2.1. Diâmetro na Região 1 e Zona 1.

Dependent Variable: NM11 Diam. na Região 1, Zona 1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	31094.74928070	57.47643120	0.95	0.7328
Error	538	32622.04674029	60.63577461		
Corrected Total	1079	63716.79602099			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM11 Mean
0.488015	19.94870	7.78689762	39.03460759

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	56.22994105	56.22994105	0.99	0.3191
TRAT*REPET	538	30423.62698629	56.54949254	0.93	0.7907
IMPED	1	10.85779712	10.85779712	0.18	0.6723
TRAT*IMPED	1	604.03455625	604.03455625	9.96	0.0017

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM11
 Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 56.54949
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.899
 Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	39.2628	540	CONTROLE
A	38.8064	540	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM11
 Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 60.63577
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.9309
 Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	39.1349	540	IMPEDIDO
A	38.9343	540	DESIMPEDIDO

É aceita a hipótese de nulidade para TRATAMENTOS e IMPEDIMENTOS. Pode ser observada, ainda, a rejeição da hipótese de nulidade para a interação TRATAMENTO x IMPEDIMENTO o seguinte quadro de médias e teste de Tukey permitirá outras conclusões.

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	39.4540211	7.6171923	a
	IMPEDIDO	270	38.1588400	7.9302362	a
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	38.4146596	7.5301673	b
	IMPEDIDO	270	40.1109096	7.5337142	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,3165
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

Conclui-se que o grupo controle há diferença estatística significativa causada pelo impedimento no grupo controle, mas não nos animais tratados.

3.2.2. Diâmetro na Região 2 e Zona 1.

Dependent Variable: NM21 Diametro na Regiao 2, Zona 1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	29929.96670064	55.32341349	1.21	0.0150
Error	538	24687.52051248	45.88758460		
Corrected Total	1079	54617.48721312			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM21 Mean
0.547992	17.47498	6.77403754	38.76421278

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	1.43394316	1.43394316	0.03	0.8711
TRAT*REPET	538	29260.57113978	54.38767870	1.19	0.0245
IMPED	1	503.47186692	503.47186692	10.97	0.0010
TRAT*IMPED	1	164.48975079	164.48975079	3.58	0.0589

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM21

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 54.38768
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.8816

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	39.8007	540	CONTROLE
A	38.7278	540	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM21

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 45.88758
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.8098

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	39.4470	540	IMPEDIDO
B	38.0814	540	DESIMPEDIDO

A análise de variância mostrou que na nessa região e zona, o diâmetro das fibras sofre influência do impedimento mas não dos tratamentos. A interação também não é significativa. Isso mostra que o efeito do impedimento no aumento do diâmetro das fibras ocorre caso haja ou não a aplicação do tratamento.

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	38.4352659	5.9805879	a
	IMPEDIDO	270	39.0202837	8.0918741	a
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	37.7276156	6.6526495	b
	IMPEDIDO	270	39.8736859	7.4193614	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,1452
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

Conclui-se haver diferença estatística entre os animais impedidos e desimpedidos do grupo controle mas não há efeito estatisticamente significativo do impedimento nos animais tratados.

3.2.3. Diâmetro na Região 3 e Zona 1.

Dependent Variable: NM31 Diametro na Regiao 3, Zona 1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	43813.61351667	80.98634661	1.14	0.0630
Error	538	38187.27915963	70.98007279		
Corrected Total	1079	82000.89267630			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM31 Mean
0.534307	20.60503	8.42496723	40.88791776

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	483.29470102	483.29470102	6.41	0.0116
TRAT*REPET	538	40548.32245817	75.36862910	1.06	0.2434
IMPED	1	322.63721021	322.63721021	4.55	0.0335
TRAT*IMPED	1	2459.35914727	2459.35914727	34.65	0.0001

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM31

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 75.36863
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 1.0379

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	41.5569	540	CONTROLE
B	40.2190	540	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM31

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 70.98007
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 1.0072

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	41.4345	540	IMPEDIDO
B	40.3413	540	DESIMPEDIDO

A análise mostra haver efeito significativo do tratamento e do impedimento no diâmetro das fibras dessa região. De forma geral, o teste de tukey mostra haver uma diminuição no diâmetro das fibras causado pela aplicação do tratamento e um aumento do diâmetro causado pelo impedimento. Ocorre, no entanto, haver um efeito significativo da interação TRATAMENTO x IMPEDIMENTO o que exige uma análise mais detalhada. Essa análise principia com o seguinte quadro de médias:

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	41.1814319	8.9242677	a
	IMPEDIDO	270	39.2565022	7.4167158	b
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	39.5012648	9.0573416	b
	IMPEDIDO	270	43.6124722	8.7184712	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,4243
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

É possível notar que nos animais tratados, o lado desimpedido apresentou fibras de maior diâmetro que o lado impedido ao passo que nos animais controle, foi observado um menor diâmetro de fibras no dente desimpedido que no impedido. Essa inversão no comportamento do tratamento resulta da interação entre os dois fatores em estudo.

3.2.4. Diâmetro na Região 4 e Zona 1.

Dependent Variable: NM41 Diametro na Regiao 4, Zona 1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	26919.44406700	49.75867665	1.01	0.4533
Error	538	26500.51019099	49.25745369		
Corrected Total	1079	53419.95425800			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM41 Mean
0.503921	17.50310	7.01836547	40.09784222

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	91.61420201	91.61420201	1.86	0.1734
TRAT*REPET	538	26521.92501523	49.29725839	1.00	0.4963
IMPED	1	79.99315838	79.99315838	1.62	0.2031
TRAT*IMPED	1	225.91169139	225.91169139	4.59	0.0327

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM41

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 49.29726
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.8394

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	40.3891	540	CONTROLE
A	39.8066	540	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM41

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 49.25745
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.839

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	40.3700	540	DESIMPEDIDO
A	39.8257	540	IMPEDIDO

O quadro de análise de variância bem como os testes de Tukey mostram não haver diferença estatística significativa entre os tratamentos e o impedimento no diâmetro das fibras da região 4 e zona 1. O quadro mostra, entretanto, efeito estatístico significativo da interação TRATAMENTO x IMPEDIMENTO o que leva à análise do seguinte quadro:

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	39.6213844	5.6110950	a
	IMPEDIDO	270	39.9917952	9.0645838	a
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	41.1186078	5.7843982	a
	IMPEDIDO	270	39.6595815	7.0710038	b

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,1865
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

O quadro mostra haver efeito estatístico significativo do impedimento no grupo de animais controle, mas não no grupo de animais tratados.

3.2.5. Diâmetro na Região 5 e Zona 1.

Dependent Variable: NM51 Diametro na Regiao 5, Zona 1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	21409.26633504	39.57350524	0.90	0.8881
Error	538	23643.51332078	43.94705078		
Corrected Total	1079	45052.77965582			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM51 Mean
0.475204	16.85682	6.62925718	39.32686519

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	1.65975937	1.65975937	0.05	0.8210
TRAT*REPET	538	17422.79250905	32.38437269	0.74	0.9998
IMPED	1	24.71661050	24.71661050	0.56	0.4536
TRAT*IMPED	1	3960.09745613	3960.09745613	90.11	0.0001

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM51

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 32.38437
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.6803

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	39.3661	540	TRATADO
A			
A	39.2877	540	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM51

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 43.94705
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.7925

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	39.4781	540	DESIMPEDIDO
A			
A	39.1756	540	IMPEDIDO

O quadro de análise de variância, bem como os testes de Tukey que foram executados mostram não haver diferença estatística significativa entre controle e tratados ou impedidos e desimpedidos.

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	41.4322256	5.6963182	a
	IMPEDIDO	270	37.2999093	7.4390323	b
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	37.5240656	5.8697834	b
	IMPEDIDO	270	41.0512604	5.5155459	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,1208
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

O quadro mostra uma inversão do efeito do impedimento. Em animais tratados observa-se maiores diâmetros de fibra em dentes desimpedidos. Em animais controle observa-se um maior diâmetro de fibras em dentes impedidos.

3.2.6. Diâmetro na Região 1 e Zona 2.

Dependent Variable: NM12 Diametro na Regiao 1, Zona 2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	40469.90137661	74.80388425	1.32	0.0007
Error	538	30501.41408876	56.69407823		
Corrected Total	1079	70970.31546538			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM12 Mean
0.570223	18.70654	7.52954701	40.25088167

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	550.47601208	550.47601208	7.83	0.0053
TRAT*REPET	538	37840.77642938	70.33601567	1.24	0.0063
IMPED	1	1985.08372705	1985.08372705	35.01	0.0001
TRAT*IMPED	1	92.56520811	92.56520811	1.63	0.2019

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM12

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 70.33602
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 1.0025

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	40.9648	540	CONTROLE
B	39.5369	540	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM12

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 56.69408
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.9001

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	41.6066	540	DESIMPEDIDO
B	38.8951	540	IMPEDIDO

Pode ser verificada a existência de diferença estatística significativa para médias dos tratamentos e dos dois tipos de impedimento. Como a interação não é significativa, a análise do quadro de médias abaixo mostrará que o efeito geral observado acima prevalece, mesmo na análise feita dentro de cada um dos tratamentos.

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	41.1854526	7.5738513	a
	IMPEDIDO	270	37.8884452	7.7860944	b
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	42.0277978	8.1649604	a
	IMPEDIDO	270	39.9018311	8.3310936	b

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,2730
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

3.2.7. Diâmetro na Região 2 e Zona 2.

Dependent Variable: NM22 Diametro na Regiao 2, Zona 2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	32064.27308289	59.26852696	1.26	0.0048
Error	538	25361.56112945	47.14044819		
Corrected Total	1079	57425.83421132			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM22 Mean
0.558360	17.28167	6.86589020	39.72931620

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	542.17580007	542.17580007	11.07	0.0009
TRAT*REPET	538	26357.26779489	48.99120408	1.04	0.3277
IMPED	1	2766.11503633	2766.11503633	58.68	0.0001
TRAT*IMPED	1	2398.71445159	2398.71445159	50.88	0.0001

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM22

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 48.9912
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.8368

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	40.4378	540	CONTROLE
B	39.0208	540	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM22

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 47.14045
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.8208

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	41.3297	540	IMPEDIDO
B	38.1289	540	DESIMPEDIDO

Nessa região/zona também é notado o efeito significativo da interação TRATAMENTO x IMPEDIMENTO. O quadro de médias:

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	38.9107185	5.7602700	a
	IMPEDIDO	270	39.1308541	7.3969420	a
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	37.3471530	6.3820476	b
	IMPEDIDO	270	43.5285393	7.9772998	a

Taste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,1608
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

Pode-se observar no quadro de médias que no grupo de animais tratados não há efeito significativo do impedimento mas nos animais controle pode ser observada diferença estatística significativa entre os animais impedidos e desimpedidos de forma que os animais impedidos apresentam maior diâmetro de fibra.

3.2.8. Diâmetro na Região 3 e Zona 2.

Dependent Variable: NM32 Diametro na Regiao 3, Zona 2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	30115.56566334	55.66647997	0.94	0.7642
Error	538	31864.36427116	59.22744288		
Corrected Total	1079	61979.92993450			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM32 Mean
0.485892	19.48822	7.69593678	39.49020778

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	301.62996002	301.62996002	6.84	0.0091
TRAT*REPET	538	23708.59756245	44.06802521	0.74	0.9997
IMPED	1	487.29712452	487.29712452	8.23	0.0043
TRAT*IMPED	1	5618.04101635	5618.04101635	94.86	0.0001

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM32

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 44.06803
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.7936

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	40.0187	540	CONTROLE
B	38.9617	540	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM32

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 59.22744
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.92

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	40.1619	540	IMPEDIDO
B	38.8185	540	DESIMPEDIDO

Pelo quadro de análise de variância, observa-se a rejeição da hipótese de nulidade (Ho) para TRATAMENTOS, IMPEDIMENTO e para a interação entre esses dois fatores. Em função da interação significativa, estudaremos o quadro de média abaixo:

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	40.5707819	6.5121959	a
	IMPEDIDO	270	37.3526915	7.5272523	b
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	37.0662037	5.9763126	b
	IMPEDIDO	270	42.9711641	8.4738658	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,3011
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

Pode-se observar uma inversão quando se combina os tratamentos com os impedimentos. Enquanto que os animais tratados apresentaram lados desimpedidos com maior diâmetro de fibra que o lado impedido, os animais controle apresentaram lados impedidos com maior diâmetro de fibra.

3.2.9. Diâmetro na Região 4 e Zona 2.

Dependent Variable: NM42 Diametro na Regiao 4, Zona 2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	26210.69462675	48.44860375	1.23	0.0075
Error	538	21135.97361526	39.28619631		
Corrected Total	1079	47346.66824201			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM42 Mean
0.553591	16.16042	6.26787016	38.78532167

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	240.79612366	240.79612366	5.11	0.0242
TRAT*REPET	538	25368.13752254	47.15267197	1.20	0.0172
IMPED	1	119.91761415	119.91761415	3.05	0.0812
TRAT*IMPED	1	481.84336640	481.84336640	12.26	0.0005

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM42

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 47.15267
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.8209

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	39.2575	540	CONTROLE
B	38.3131	540	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM42

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 39.2862
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.7493

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	39.1165	540	DESIMPEDIDO
A	38.4521	540	IMPEDIDO

Observa-se nessa variável o efeito do tratamento e da interação tratamento x impedimento. O teste de Tukey confirma a diferença entre as médias de TRATADO e CONTROLE de forma que as fibras dos animais controle são significativamente maiores que as observadas nos animais tratados. O estudo do quadro de médias:

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	37.9784093	5.8947872	a
	IMPEDIDO	270	38.6478626	7.3710680	a
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	40.2586719	5.6428196	a
	IMPEDIDO	270	38.2563430	7.2079930	b

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,0597
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

Mostra que a diferença entre os animais causada pelo efeito do impedimento só pode ser observada nos animais controle mas não nos animais tratados. Nos animais controle o lado desimpedido apresentou maiores diâmetros de fibra que o lado impedido.

3.2.10. Diâmetro na Região 5 e Zona 2.

Dependent Variable: NM52 Diametro na Regiao 5, Zona 2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	22957.25119536	42.43484509	1.29	0.0015
Error	538	17681.52840397	32.86529443		
Corrected Total	1079	40638.77959933			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM52 Mean
0.564910	14.65110	5.73282604	39.12896935

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	781.70261975	781.70261975	22.64	0.0001
TRAT*REPEX	538	18574.96290260	34.52595335	1.05	0.2839
IMPED	1	697.29578093	697.29578093	21.22	0.0001
TRAT*IMPED	1	2903.28989208	2903.28989208	88.34	0.0001

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM52

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 34.52595
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.7025

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	39.9797	540	CONTROLE
B	38.2782	540	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM52

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 32.86529
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.6854

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	39.9325	540	IMPEDIDO
B	38.3254	540	DESIMPEDIDO

A existência de interação entre os fatores tratamento e impedimento pode ser observada no quadro de análise de variância. A análise deve ser feita a partir do seguinte quadro de médias:

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	39.1142685	6.3112004	a
	IMPEDIDO	270	37.4421430	6.1311978	b
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	37.5366304	5.1928333	b
	IMPEDIDO	270	42.4228356	5.5130881	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 0,9692
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

No quadro de médias pode ser observada a inversão do efeito do impedimento em animais tratados e controle. Enquanto que nos animais tratados há um maior diâmetro de fibras no animais desimpedidos, nos animais controle há um maior diâmetro de fibras nos animais impedidos.

3.2.11. Diâmetro na Região 1 e Zona 3.

Dependent Variable: NM13 Diametro na Regiao 1, Zona 3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	52716.33801310	97.44239928	1.60	0.0001
Error	538	32804.70187082	60.97528229		
Corrected Total	1079	85521.03988401			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM13 Mean
0.616414	19.23500	7.80866713	40.59613769

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	4575.94052885	4575.94052885	59.75	0.0001
TRAT*REPET	538	41199.24879068	76.57852935	1.26	0.0042
IMPED	1	535.81045555	535.81045555	8.79	0.0032
TRAT*IMPED	1	6405.33823802	6405.33823802	105.05	0.0001

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM13

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 76.57853
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 1.0462

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	42.6545	540	TRATADO
B	38.5377	540	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM13

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 60.97528
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.9335

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	41.3005	540	DESIMPEDIDO
B	39.8918	540	IMPEDIDO

Observa-se o efeito significativo de tratamentos, impedimento e da interação entre esses dois fatores. A análise do seguinte quadro de médias se mostra mais interessante que as análises anteriormente feitas pelo teste de tukey.

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	45.7942267	8.1047664	a
	IMPEDIDO	270	39.5148348	9.8471896	b
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	36.8067656	7.0994341	b
	IMPEDIDO	270	40.2687237	7.8772633	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,3202
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

A análise do quadro de médias anterior permite verificar a inversão no efeito do impedimento em animais submetidos aos diferentes tratamentos. Pode ser observado que nos animais tratados há um maior diâmetro de fibras no lado desimpedido ao passo que nos animais controle há um maior diâmetro de fibras nos animais impedidos.

3.2.12. Diâmetro na Região 2 e Zona 3.

Dependent Variable: NM23 Diametro na Regiao 2, Zona 3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	32168.78772636	59.46171484	0.95	0.7422
Error	538	33833.32144038	62.88721457		
Corrected Total	1079	66002.10916674			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM23 Mean
0.487390	18.34488	7.93014594	43.22811454

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	15.81206220	15.81206220	0.28	0.5964
TRAT*REPET	538	30290.94073066	56.30286381	0.90	0.9000
IMPED	1	26.00577825	26.00577825	0.41	0.5205
TRAT*IMPED	1	1836.02915523	1836.02915523	29.20	0.0001

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM23

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 56.30286
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.897

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	43.3491	540	TRATADO
A	43.1071	540	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM23

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 62.88721
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.948

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	43.3833	540	DESIMPEDIDO
A	43.0729	540	IMPEDIDO

O diâmetro das fibras dessa Região/Zona não mostrou-se estatisticamente diferente, seja por efeito impedimento ou do tratamento. O efeito significativo da interação, entretanto, exige que estudemos as médias das combinações.

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	44.8081400	8.1674322	a
	IMPEDIDO	270	41.8900874	7.7359358	b
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	41.9584400	8.0801163	b
	IMPEDIDO	270	44.2557907	6.8220397	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,3407
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

A análise mostra haver uma inversão estatisticamente significativa. Nos animais tratados observa-se um maior diâmetro no lado desimpedido que no lado impedido. Por outro lado, nos animais CONTROLE o diâmetro maior é observado nos animais impedidos.

3.2.13. Diâmetro na Região 3 e Zona 3.

Dependent Variable: NM33 Diametro na Regiao 3, Zona 3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	54935.32582889	101.54404035	1.20	0.0193
Error	538	45709.31600323	84.96155391		
Corrected Total	1079	100644.64183212			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM33 Mean
0.545835	21.06530	9.21745919	43.75659065

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	2548.20096255	2548.20096255	29.93	0.0001
TRAT*REPET	538	45797.60434373	85.12565863	1.00	0.4911
IMPED	1	5477.18423447	5477.18423447	64.47	0.0001
TRAT*IMPED	1	1112.33628814	1112.33628814	13.09	0.0003

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM33

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 85.12566
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 1.103

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	45.2926	540	TRATADO
B	42.2205	540	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM33

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 84.96155
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 1.1019

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	46.0086	540	IMPEDIDO
B	41.5046	540	DESIMPEDIDO

Observa-se a existência de diferença estatística significativa entre tratamentos e impedimento, diferenças essas que são confirmadas pelo teste de Tukey. Ocorre, ainda, efeito significativo da interação entre os dois tratamentos. Com isso, passaremos a analisar os resultados observados no quadro de médias a seguir:

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	42.0257874	8.4848727	b
	IMPEDIDO	270	48.5594911	9.7828126	a
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	40.9834104	9.1946546	b
	IMPEDIDO	270	43.4576737	9.3774339	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,5583
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

O quadro permite a observação de uma potencialização do efeito do impedimento quando os animais são tratados. O valor médio observado nos animais tratados e impedidos é muito maior que o observado nos animais controle desimpedidos.

3.2.13. Diâmetro na Região 4 e Zona 3.

Dependent Variable: NM43 Diametro na Regiao 4, Zona 3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	50223.05925308	92.83375093	1.18	0.0286
Error	538	42391.66467235	78.79491575		
Corrected Total	1079	92614.72392543			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM43 Mean
0.542279	20.29511	8.87665003	43.73786907

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	1512.99588003	1512.99588003	17.65	0.0001
TRAT*REPET	538	46121.48197444	85.72766166	1.09	0.1642
IMPED	1	719.49531820	719.49531820	9.13	0.0026
TRAT*IMPED	1	1869.08608041	1869.08608041	23.72	0.0001

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM43

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 85.72766
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 1.1069

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	44.9215	540	TRATADO
B	42.5543	540	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM43

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 78.79492
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 1.0612

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	44.5541	540	IMPEDIDO
B	42.9217	540	DESIMPEDIDO

O quadro de análise de variância mostra a existência de efeito significativo do tratamento e do impedimento, mostra ainda haver uma interação entre os dois fatores em estudo. A análise efetuada através do seguinte quadro de médias permite melhores conclusões.

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	42.7897281	8.5421721	b
	IMPEDIDO	270	47.0532211	10.9255610	a
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	43.0535893	7.1600489	a
	IMPEDIDO	270	42.0549378	9.2434986	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,5007
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

Nos animais tratados pode ser verificado um maior diâmetro de fibras do lado desimpedido, ao passo que nos animais controle não existe diferença estatística significativa entre os diâmetros de fibra dos lados impedido e desimpedido.

3.2.13. Diâmetro na Região 5 e Zona 3.

Dependent Variable: NM53 Diametro na Regiao 5, Zona 3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	541	39761.35516983	73.49603543	1.00	0.4775
Error	538	39348.67084776	73.13879340		
Corrected Total	1079	79110.02601759			

R-Square	C.V.	Root MSE	NM53 Mean
0.502608	20.16360	8.55212216	42.41366324

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	1	5447.88637167	5447.88637167	104.93	0.0001
TRAT*REPET	538	27933.37217820	51.92076613	0.71	1.0000
IMPED	1	4756.90964234	4756.90964234	65.04	0.0001
TRAT*IMPED	1	1623.18697761	1623.18697761	22.19	0.0001

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM53

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 51.92077
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 0.8614

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRAT
A	44.6596	540	TRATADO
B	40.1677	540	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: NM53

Alpha= 0.05 df= 538 MSE= 73.13879
 Critical Value of Studentized Range= 2.778
 Minimum Significant Difference= 1.0224

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPED
A	44.5124	540	IMPEDIDO
B	40.3150	540	DESIMPEDIDO

Observa-se no quadro de análise de variância a existência de diferença estatística significativa no diâmetro das fibras dessa zona/região. Ocorre, também, um efeito estatisticamente significativo da interação o que exige a análise do quadro de médias:

TRAT	IMPED	N Obs	Mean	Std Dev	Grupos de Tukey
TRATADO	DESIMPEDIDO	270	43.7868719	8.5132253	b
	IMPEDIDO	270	45.5323759	7.7261959	a
CONTROLE	DESIMPEDIDO	270	36.8430526	5.6853629	b
	IMPEDIDO	270	43.4923526	9.2534674	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 1,4459
 Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

O quadro permite a verificação de uma potencialização do efeito do fator impedimento. Pode ser observado que a média do lado desimpedido dos animais controle é muito inferior à observada no lado desimpedido dos animais tratados.

3.3. Informações preliminares da análise de variância.

A análise de variância será explicada a seguir. Os resultados desses dados são obtidos a partir da aplicação do procedimento GLM para análise de variância de experimentos. A utilização desse procedimento ao invés do procedimento ANOVA decorre da possibilidade de definição de contrastes.

3.3.1. Informações a respeito das variáveis classificatórias.

Inicialmente, como resultado do procedimento GLM são mostradas as variáveis classificatórias e os valores atribuídos a cada uma delas. Pode-se observar, que foram utilizadas na análise do experimento, três variáveis classificatórias: TRAT, REPET e IMPED e que elas apresentaram, respectivamente 2, 270 e 2 valores. Codificou-se, então que os animais que receberam tratamento foram associados ao valor 0 na variável TRAT e os animais CONTROLE, ao valor 1. A variável IMPED (impedimento) foi codificada de forma que os ratos impedidos receberam o valor 1 na variável e os desimpedidos, valor 0. Esses valores numéricos receberam, depois, rótulos que permitem uma melhor compreensão de seu significado de forma que os termos CONTROLE, TRATADO, IMPEDIDO e DESIMPEDIDO aparecerão nos relatórios de análise de dados.

Pode-se observar, também que o arquivo contém 1080 observações.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	2	CONTROLE TRATADO
REPET	270	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270
IMPED	2	DESIMPEDIDO IMPEDIDO

Number of observations in data set = 1080

3.3.2. Níveis de Informação para Medidas Repetidas.

A seguir o SAS informa a codificação de região e zona referente a cada uma das variáveis dependentes utilizadas no modelo.

Conforma-se através dessa tabela que a variável NM11, por exemplo corresponde à observação de um valor na zona 1 e na região 1 e que a variável NM41 corresponde à uma observação na zona 1 e região 4.

A exatidão dessa informação garantirá que os testes de comparação das zonas e das regiões estão sendo feitos corretamente.

A lista de variáveis e associações com os níveis de zona e região são listados a seguir:

General Linear Models Procedure
Repeated Measures Analysis of Variance
Repeated Measures Level Information

Dependent Variable	NM11	NM21	NM31	NM41	NM51	NM12	NM22	NM32	NM42	NM52	NM13	NM23
Level of ZONA	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	3	3
Level of REGIAO	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2

Dependent Variable	NM33	NM43	NM53
Level of ZONA	3	3	3
Level of REGIAO	3	4	5

3.4. Análise de variância multivariada dentro dos indivíduos.

Inicialmente serão mostrados os resultados da análise de variância multivariada. Optou-se por desconsiderar a análise univariada do experimento em parcelas sub-divididas uma vez que tornariam os resultados muito longos e sendo desnecessários.

3.4.1. Teste para o efeito de ZONAS.

Inicialmente testar-se-á o efeito das zonas. A hipótese testada, de forma multivariada é a seguinte:

$$H_0: \text{Zona 1} = \text{Zona 2} = \text{Zona 3}$$

A rejeição dessa hipótese num nível α de significância pré-estabelecido de 5% conduzirá à rejeição da hipótese alternativa:

$$H_a: \text{Zona } i \neq \text{Zona } j$$

O resultado dessa análise estatística é listado a seguir.

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for the Hypothesis of no **ZONA Effect**
H = Type III SS&CP Matrix for ZONA E = Error SS&CP Matrix

Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.41684045	375.6313	2	537	0.0001
Pillai's Trace	0.58315955	375.6313	2	537	0.0001
Hotelling-Lawley Trace	1.39899943	375.6313	2	537	0.0001
Roy's Greatest Root	1.39899943	375.6313	2	537	0.0001

Verifica-se através desses testes multivariados que existe efeito de zona que, pelo menos duas zonas tem diferentes diâmetros de fibras. A observação das diferenças será possível, a frente, através do do quadro obtido através dos contrastes para zonas. O quadro é mostrado a seguir:

ZONAS	F
1 2	1.20 n.s.
1 3	554.55 **
2 3	582.15 **

Os contrastes estatisticamente diferentes recebem a indicação ** para o nível α de significância de 1 %

Conclui-se através dos contrastes sintetizados no quadro anterior que existe diferença estatística significativa entre a zona 3 e as zonas 1 e 2 que, por sua vez, são iguais entre si.

3.4.2. Efeitos das interações com ZONA.

Um tipo de efeito que pode ser observado na análise de variância é o efeito da interação, ou seja, atuação conjunta de determinados níveis dos fatores que conduzem a valores diferentes dos valores gerais. Por exemplo, ocorreria uma interação de ZONA com TRATAMENTO, se nos animais tratados fossem observadas diferenças entre as zonas e nos animais controle, não fossem observadas diferenças. Parte dos dados contrariariam o resultado geral observado no item 3.4.1.

A hipótese de nulidade testada é a seguinte:

Ho: Inexistência de efeito da interação ZONA x TRATAMENTOS

A rejeição dessa hipótese num nível α de significância pré-estabelecido de 5% conduzirá à rejeição da hipótese alternativa:

Ha: Há interação entre ZONAS e TRATAMENTOS

Note que outras interações podem ser testadas, por exemplo: ZONA x IMPED, ZONA x TRAT x IMPED, ...

A abordagem é sempre a mesma mostrada no parágrafo anterior, alterando-se apenas as hipóteses de nulidade de forma que o enunciado de Ho e Ha fiquem compatíveis com os fatores cujas interações estão sendo testadas.

O resultado dessas análises estatísticas são listados a seguir.

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for the Hypothesis of no **ZONA*TRAT Effect**
H = Type III SS&CP Matrix for ZONA*TRAT E = Error SS&CP Matrix

	S=1	M=0	N=267.5			
Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F	
Wilks' Lambda	0.66881301	132.9575	2	537	0.0001	
Pillai's Trace	0.33118699	132.9575	2	537	0.0001	
Hotelling-Lawley Trace	0.49518622	132.9575	2	537	0.0001	
Roy's Greatest Root	0.49518622	132.9575	2	537	0.0001	

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for the Hypothesis of no **ZONA*IMPED Effect**
H = Type III SS&CP Matrix for ZONA*IMPED E = Error SS&CP Matrix

	S=1	M=0	N=267.5			
Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F	
Wilks' Lambda	0.94690779	15.0545	2	537	0.0001	
Pillai's Trace	0.05309221	15.0545	2	537	0.0001	
Hotelling-Lawley Trace	0.05606904	15.0545	2	537	0.0001	
Roy's Greatest Root	0.05606904	15.0545	2	537	0.0001	

Os quadro anteriores permitem concluir que existe interação entre as zonas e o impedimento e os tratamentos. Tornam-se importantes, então, os resultados da análise univariada listada anteriormete pois o mesmo poderá contribuir com a compreensão desses efeitos de interação.

3.4.3. Teste para o efeito de REGIÕES.

Inicialmente testar-se-á o efeito das zonas. A hipótese testada, de forma multivariada é a seguinte:

Ho: Região 1 = Região 2 = Região 3 = Região 4 = Região 5

A rejeição dessa hipótese num nível α de significância pré-estabelecido de 5% conduzirá à rejeição da hipótese alternativa:

Ha: Região $i \neq$ Região j

O resultado dessa análise estatística é listado a seguir:

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for the Hypothesis of no REGIAO Effect
H = Type III SS&CP Matrix for REGIAO E = Error SS&CP Matrix

Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.86910348	20.1442	4	535	0.0001
Pillai's Trace	0.13089652	20.1442	4	535	0.0001
Hotelling-Lawley Trace	0.15061097	20.1442	4	535	0.0001
Roy's Greatest Root	0.15061097	20.1442	4	535	0.0001

O resultado nos leva à rejeição da hipótese de nulidade, concluindo que, pelo menos duas regiões diferem entre si. A fim de verificar quais são as regiões diferentes, contrastes foram calculados e a síntese dos resultados é listada na tabela a seguir:

REGIÕES		F
1	2	10.85 **
1	3	45.56 **
1	4	30.40 **
1	5	2.52 ns
2	3	16.31 **
2	4	2.70 ns
2	5	2.32 ns
3	4	6.06 *
3	5	40.93 **
4	5	9.54 **

Os contrastes estatisticamente diferentes recebem a indicação ** para o nível α de significância de 1 % e * para o nível α de significância de 5 %.

3.4.4. Efeitos das interações com REGIÃO.

Um tipo de efeito que pode ser observado na análise de variância é o efeito da interação, ou seja, atuação conjunta de determinados níveis dos fatores que conduzem a valores diferentes dos valores gerais. Por exemplo, ocorreria uma interação de REGIÃO com TRATAMENTO, se nos animais tratados fossem observadas diferenças entre as regiões e nos animais controle, não fossem observadas diferenças. Parte dos dados contrariariam o resultado geral observado no item 3.4.3.

A hipótese de nulidade testada é a seguinte:

H_0 : Inexistência de efeito da interação REGIÃO x TRATAMENTOS

A rejeição dessa hipótese num nível α de significância pré-estabelecido de 5% conduzirá à rejeição da hipótese alternativa:

H_a : Há interação entre REGIÕES e TRATAMENTOS

Note que outras interações podem ser testadas, por exemplo: REGIÃO x IMPED, REGIÃO x TRAT x IMPED, ...

A abordagem é sempre a mesma mostrada da mostrada anteriormente, alterando-se apenas as hipóteses de nulidade de forma que o enunciado de H_0 e H_a fiquem compatíveis com os fatores cujas interações estão sendo testadas.

O resultado dessas análises estatísticas são listados a seguir.

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for the Hypothesis of no **REGIAO*TRAT Effect**
 H = Type III SS&CP Matrix for REGIAO*TRAT E = Error SS&CP Matrix

S=1 M=1 N=266.5						
Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F	
Wilks' Lambda	0.96536441	4.7987	4	535	0.0008	
Pillai's Trace	0.03463559	4.7987	4	535	0.0008	
Hotelling-Lawley Trace	0.03587826	4.7987	4	535	0.0008	
Roy's Greatest Root	0.03587826	4.7987	4	535	0.0008	

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for the Hypothesis of no **REGIAO*IMPED Effect**
 H = Type III SS&CP Matrix for REGIAO*IMPED E = Error SS&CP Matrix

S=1 M=1 N=266.5						
Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F	
Wilks' Lambda	0.85868356	22.0117	4	535	0.0001	
Pillai's Trace	0.14131644	22.0117	4	535	0.0001	
Hotelling-Lawley Trace	0.16457337	22.0117	4	535	0.0001	
Roy's Greatest Root	0.16457337	22.0117	4	535	0.0001	

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for the Hypothesis of no **REGIAO*TRAT*IMPED Effect**
 H = Type III SS&CP Matrix for REGIAO*TRAT*IMPED E = Error SS&CP Matrix

S=1 M=1 N=266.5						
Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F	
Wilks' Lambda	0.69411622	58.9411	4	535	0.0001	
Pillai's Trace	0.30588378	58.9411	4	535	0.0001	
Hotelling-Lawley Trace	0.44068094	58.9411	4	535	0.0001	
Roy's Greatest Root	0.44068094	58.9411	4	535	0.0001	

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for the Hypothesis of no **ZONA*REGIAO Effect**
 H = Type III SS&CP Matrix for ZONA*REGIAO E = Error SS&CP Matrix

S=1 M=3 N=264.5						
Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F	
Wilks' Lambda	0.75735893	21.2651	8	531	0.0001	
Pillai's Trace	0.24264107	21.2651	8	531	0.0001	
Hotelling-Lawley Trace	0.32037791	21.2651	8	531	0.0001	
Roy's Greatest Root	0.32037791	21.2651	8	531	0.0001	

Observa-se que todas as interações com regiões são significativas o que traz de volta a importância das análises univariadas executadas anteriormente, através delas é possível estudar, para cada região, o comportamento diferencial observado em relação aos fatores TRATAMENTO e IMPEDIMENTO.

Coding Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
REGI	3.000000	2.000000
ZON	2.000000	1.000000

Response Surface for Variable COL1

Response Mean	41.661207
Root MSE	7.981232
R-Square	0.0157
Coef. of Variation	19.1575

	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Regression					
Linear	2	1413.487004	0.0054	11.095	0.0000
Quadratic	2	2417.560350	0.0092	18.976	0.0000
Crossproduct	1	270.538352	0.0010	4.247	0.0394
Total Regress	5	4101.585706	0.0157	12.878	0.0000

Residual	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square
Total Error	4044	257603	63.700064

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T
INTERCEPT	1	42.941662	1.291205	33.257	0.0000
REGI	1	1.629721	0.507220	3.213	0.0013
ZON	1	-4.824361	1.123479	-4.294	0.0000
REGI*REGI	1	-0.314659	0.074949	-4.198	0.0000
ZON*REGI	1	0.223830	0.108611	2.061	0.0394
ZON*ZON	1	1.199437	0.266041	4.508	0.0000

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
REGI	3	1683.963437	561.321146	8.812	0.0000
ZON	3	2688.160621	896.053540	14.067	0.0000

Canonical Analysis of Response Surface
(based on coded data)

Factor	Critical Value	
	Coded	Uncoded
REGI	0.099397	3.198794
ZON	-0.287373	1.712627

Predicted value at stationary point 41.417068

Eigenvalues	Eigenvectors	
	REGI	ZON
1.219653	0.089950	0.995946
-1.278851	0.995946	-0.089950

Stationary point is a saddle point.

Coding Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
REGI	3.000000	2.000000
ZON	2.000000	1.000000

Response Surface for Variable COL1

Response Mean	39.211195
Root MSE	7.240901
R-Square	0.0185
Coef. of Variation	18.4664

Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	887.500239	0.0041	8.464	0.0002
Quadratic	2	2397.134670	0.0111	22.860	0.0000
Crossproduct	1	707.352083	0.0033	13.491	0.0002
Total Regress	5	3991.986992	0.0185	15.228	0.0000

Residual	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square
Total Error	4044	212030	52.430652

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T
INTERCEPT	1	39.356773	1.171435	33.597	0.0000
REGI	1	1.774926	0.460171	3.857	0.0001
ZON	1	-2.668616	1.019266	-2.618	0.0089
REGI*REGI	1	-0.434759	0.067996	-6.394	0.0000
ZON*REGI	1	0.361927	0.098536	3.673	0.0002
ZON*ZON	1	0.530929	0.241363	2.200	0.0279

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
REGI	3	2948.401666	982.800555	18.745	0.0000
ZON	3	1750.937409	583.645803	11.132	0.0000

Canonical Analysis of Response Surface
(based on coded data)

Factor	Critical Value	
	Coded	Uncoded
REGI	-0.148121	2.703759
ZON	-0.408400	1.591600

Predicted value at stationary point 39.632574

Eigenvalues	Eigenvectors	
	REGI	ZON
0.587238	0.153733	0.988112
-1.795347	0.988112	-0.153733

Stationary point is a saddle point.

TRATADO IMPEDIDO

Coding Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
REGI	3.000000	2.000000
ZON	2.000000	1.000000

Response Surface for Variable COL1
 Response Mean 40.449288
 Root MSE 8.317062
 R-Square 0.1365
 Coef. of Variation 20.5617

Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	29846	0.0921	215.7	0.0000
Quadratic	2	9705	0.0300	70.153	0.0000
Crossproduct	1	4657.317571	0.0144	67.328	0.0000
Total Regress	5	44209	0.1365	127.8	0.0000

Residual	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square
Total Error	4044	279738	69.173527

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T
INTERCEPT	1	42.548919	1.345536	31.622	0.0000
REGI	1	2.130641	0.528562	4.031	0.0001
ZON	1	-9.800204	1.170752	-8.371	0.0000
REGI*REGI	1	-0.580913	0.078102	-7.438	0.0000
ZON*REGI	1	0.928691	0.113181	8.205	0.0000
ZON*ZON	1	2.555734	0.277235	9.219	0.0000

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
REGI	3	10530	3509.920608	50.741	0.0000
ZON	3	38336	12779	184.7	0.0000

Canonical Analysis of Response Surface
 (based on coded data)

Factor	Critical Value	
	Coded	Uncoded
REGI	-0.030234	2.939531
ZON	-0.616779	1.383221

Predicted value at stationary point 38.902538

Eigenvalues	Eigenvectors	
	REGI	ZON
2.726513	0.180860	0.983509
-2.494433	0.983509	-0.180860

Stationary point is a saddle point.

Coding Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
REGI	3.000000	2.000000
ZON	2.000000	1.000000

Response Surface for Variable COL1
 Response Mean 41.139248
 Root MSE 7.352608
 R-Square 0.0686
 Coef. of Variation 17.8725

Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	12737	0.0543	117.8	0.0000
Quadratic	2	3355.258941	0.0143	31.032	0.0000
Crossproduct	1	12.401303	0.0001	0.229	0.6320
Total Regress	5	16105	0.0686	59.581	0.0000

Residual	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square
Total Error	4044	218622	54.060844

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T
INTERCEPT	1	44.636873	1.189507	37.526	0.0000
REGI	1	-1.736496	0.467270	-3.716	0.0002
ZON	1	-4.398012	1.034991	-4.249	0.0000
REGI*REGI	1	0.272250	0.069045	3.943	0.0001
ZON*REGI	1	-0.047922	0.100056	-0.479	0.6320
ZON*ZON	1	1.671573	0.245087	6.820	0.0000

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
REGI	3	1173.180645	391.060215	7.234	0.0001
ZON	3	14944	4981.420192	92.145	0.0000

Canonical Analysis of Response Surface
 (based on coded data)

Factor	Critical Value	
	Coded	Uncoded
REGI	0.154559	3.309118
ZON	-0.637034	1.362966

Predicted value at stationary point 38.766570

Eigenvalues	Eigenvectors	
	REGI	ZON
1.675488	-0.081439	0.996678
1.085083	0.996678	0.081439

Stationary point is a minimum.

Relatório de Processamento de Dados

1. Objetivos.

O presente relatório objetiva apoiar a interpretação do resultado do processamento dos dados obtidos em pesquisa científica.

2. Metodologia.

Partiu-se de uma análise de variância seguindo o modelo de "parcelas subdivididas", no qual o tratamento definiu a parcela principal e o impedimento definiu a sub-parcela. Podemos encarar essa estrutura de uma outra forma: cada animal receberia, ou não, o tratamento.

Dessa forma definiu-se que os animais formam as parcelas. Cada animal, entretanto, recebeu um segundo tipo de tratamento: o impedimento que foi aplicado em apenas um lado de sua boca, dessa forma, caracterizou-se uma sub-divisão na parcela.

Seguindo esse modelo, a análise de variância permitiria tomar decisões em relação aos dois fatores tratados no experimento: **Impedimento** e **Tratamento**.

O fator **Impedimento** apresenta dois níveis: Impedido e Não Impedido e o fator **Tratamento**, também apresenta dois níveis: Tratado e Controle.

A análise de variância convencional auxiliaria a tomada de decisão relacionada a esses dois fatores. As duas hipóteses testadas seriam as seguintes:

$$H_0: \text{Impedido} = \text{Não impedido}$$

Em caso da rejeição da hipótese da nulidade enunciada anteriormente, aceitaria-se a hipótese alternativa $H_a: \text{Impedido} \neq \text{Não impedido}$. Por se tratar da subparcela, o quadro de análise de variância utilizou o último resíduo do quadro de análise de variância.

Para testar o efeito de tratamento, testou-se a seguinte hipótese de nulidade:

$$H_0: \text{Tratado} = \text{Controle}$$

Em caso da rejeição da hipótese da nulidade enunciada anteriormente, aceitaria-se a hipótese alternativa $H_a: \text{Tratado} \neq \text{Controle}$. O teste utilizou a interação TRAT x REPETIÇÃO como resíduo para o teste de tratamentos. O quadro de análise de variância para esses fatores ficaria da seguinte forma:

Causa de Variação	G.L.
TRAT	1
RESÍDUO (A)	16
PARCELA	17
IMPEDIMENTO	1
TRATAMENTO*IMPEDIMENTO	1
RESÍDUO (B)	16
TOTAL	35

Até aqui pudemos tratar as informações observadas em cada um dos animais (parcelas) e em cada lado da boca de cada animal (subparcela), o que ainda não trata de toda a informação gerada nesse

experimento. Ocorre que cada dente exposto a uma das quatro combinações possíveis sofreu diversas mensurações, no caso, em cinco regiões e três zonas.

Por se tratarem de diversas medidas observadas em um mesmo dente de um mesmo animal, optou-se pela aplicação da técnica de medidas repetidas. Através dessa metodologia de análise multivariada de dados, pode-se comparar, além do efeito de TRATAMENTO e IMPEDIMENTO, as zonas e as regiões, cuja identificação se dá através de diversas variáveis.

Seguindo essa metodologia, as duas variáveis básicas Substância Interfibrilar e Fibras colágenas foram separadas, de acordo com a região e com a zona na qual foram observadas.

Observou-se, através de uma análise de correlação que existe dependência linear entre as duas variáveis, dessa forma, caso se resolvesse executar as análises para as duas variáveis, chegaria-se às mesmas conclusões. A matriz de correlação é mostrada a seguir e pode-se observar que os dados de SI (linha) são inversamente correlacionados com os dados de FC (colunas) nas mesmas zonas e regiões.

A fim de reduzir os relatórios, emitir-se-á apenas um relatório e comentar-se-á os resultados relacionados às duas variáveis.

Análise de Correlação Linear de Pearson
Pearson Correlation Coefficients / Prob > |R| under Ho: Rho=0 / N = 12

	SI11	SI21	SI31	SI41	SI51
FC11	-1.00000 0.0	-0.63952 0.0251	-0.75004 0.0050	-0.66212 0.0190	0.30582 0.3337
FC21	-0.63952 0.0251	-1.00000 0.0	-0.37634 0.2279	-0.88222 0.0001	0.17199 0.5930
FC31	-0.75004 0.0050	-0.37634 0.2279	-1.00000 0.0	-0.46431 0.1283	0.02826 0.9305
FC41	-0.66212 0.0190	-0.88222 0.0001	-0.46431 0.1283	-1.00000 0.0	-0.06720 0.8356
FC51	0.30582 0.3337	0.17199 0.5930	0.02826 0.9305	-0.06720 0.8356	-1.00000 0.0

3. Resultados.

Os resultados serão divididos e comentados a seguir. A divisão dos comentários visa facilitar a compreensão das análises estatísticas executadas.

3.1. Estrutura dos arquivos.

Cada variável observada foi codificada de forma que as duas primeiras letras indicam o tipo de valor observado (FC=Fibra Colágena) e os dois números que completam o nome da variável indicam a região e a zona observada.

Para facilitar a interpretação dos resultados, cada variável recebeu um rótulo que explicita a variável analisada e a região e zona de leitura. Esse rótulo é mostrado a frente do nome da variável, na listagem da estrutura do arquivo.

Essa codificação bem como as informações relacionadas ao arquivo que foi criado para o armazenamento dos dados é listado a seguir no resultado do processamento do procedimento CONTENTS.

Estrutura do arquivo

CONTENTS PROCEDURE

Data Set Name: C.FCTUDO Type:
Observations: 36 Record Len: 167
Variables: 20
Label:

-----Alphabetic List of Variables and Attributes-----

#	Variable	Type	Len	Pos	Label
4	FC11	Num	8	28	
9	FC12	Num	8	68	
14	FC13	Num	8	108	
5	FC21	Num	8	36	
10	FC22	Num	8	76	
15	FC23	Num	8	116	
6	FC31	Num	8	44	
11	FC32	Num	8	84	
16	FC33	Num	8	124	
7	FC41	Num	8	52	
12	FC42	Num	8	92	
17	FC43	Num	8	132	
8	FC51	Num	8	60	
13	FC52	Num	8	100	
18	FC53	Num	8	140	
3	IMPED	Num	8	20	
20	IMPEDI	Char	11	156	
2	REPET	Num	8	12	
1	TRAT	Num	8	4	
19	TRATAM	Char	8	148	

3.2. Listagem dos dados.

Com o objetivo de permitir a conferência dos dados listados, é mostrado a seguir o resultado da PROC PRINT que lista os valores de cada variável em cada uma das doze observações do arquivo.

Listagem dos dados para conferencia

OBS	TRAT	REPET	IMPED	FC11	FC21	FC31	FC41	FC51	FC12	FC22	FC32
1	1	1	1	30.34	29.19	30.92	20.79	18.55	25.00	30.11	30.41
2	1	1	2	24.55	26.02	42.44	27.01	18.78	29.84	22.81	37.82
3	1	2	1	30.20	21.29	37.57	25.94	19.35	28.17	19.15	23.40
4	1	2	2	26.21	32.33	38.62	21.48	16.51	39.92	25.27	30.03
5	1	3	1	33.91	18.23	32.75	24.36	19.65	24.05	28.82	20.48
6	1	3	2	28.62	23.17	23.83	17.65	14.06	27.30	17.81	40.43
7	1	4	1	22.97	21.00	22.70	20.31	26.32	30.71	31.83	21.31
8	1	4	2	25.15	32.74	26.01	25.43	25.10	24.24	28.94	22.72
9	1	5	1	21.88	25.83	23.16	20.81	27.48	25.07	17.48	22.87
10	1	5	2	25.86	26.93	24.49	29.93	20.70	32.89	27.88	22.30
11	1	6	1	18.32	18.91	19.35	26.17	21.93	28.97	24.03	13.97
12	1	6	2	30.35	25.94	24.17	28.24	17.38	22.64	32.23	19.64
13	1	7	1	20.92	22.70	17.73	17.63	20.23	17.93	18.64	19.45
14	1	7	2	18.94	21.14	17.30	15.26	16.00	18.93	22.32	18.49
15	1	8	1	17.99	20.60	8.02	19.14	21.74	19.38	17.42	16.16
16	1	8	2	18.65	18.87	20.48	21.27	19.49	23.45	23.66	16.99
17	1	9	1	19.31	26.42	12.81	20.34	22.93	18.66	16.07	18.72
18	1	9	2	16.21	19.39	12.99	18.64	18.12	17.10	19.30	17.35
19	2	1	1	26.67	44.83	19.84	35.71	24.19	29.34	27.35	23.95
20	2	1	2	21.29	25.63	35.11	17.82	28.88	31.82	31.94	27.87
21	2	2	1	21.52	35.67	24.73	28.57	19.27	23.87	33.23	27.80
22	2	2	2	24.72	24.27	26.57	19.08	23.89	27.62	39.52	32.27
23	2	3	1	23.00	33.44	31.05	29.03	15.96	19.86	31.31	23.99
24	2	3	2	18.41	18.39	24.41	19.45	14.23	21.60	38.28	18.15
25	2	4	1	22.93	23.34	28.51	21.55	24.39	21.29	21.40	31.07
26	2	4	2	16.67	21.80	19.92	20.43	20.92	19.25	27.43	22.37

OBS	FC42	FC52	FC13	FC23	FC33	FC43	FC53	TRATAM	IMPEDI
1	32.05	23.36	24.92	24.17	24.25	18.85	22.98	TRATADO	IMPEDIDO
2	28.04	23.35	25.47	18.51	29.74	25.60	17.02	TRATADO	DESIMPEDIDO
3	22.01	21.82	32.60	25.52	29.25	24.81	19.47	TRATADO	IMPEDIDO
4	33.52	25.40	23.55	29.69	32.13	34.06	18.84	TRATADO	DESIMPEDIDO
5	30.34	25.53	27.69	25.84	25.79	29.36	23.17	TRATADO	IMPEDIDO
6	29.79	12.25	21.76	16.83	29.66	31.03	19.40	TRATADO	DESIMPEDIDO
7	21.71	24.90	38.41	36.84	15.08	19.70	22.57	TRATADO	IMPEDIDO
8	29.19	27.20	23.53	32.04	29.26	34.00	27.54	TRATADO	DESIMPEDIDO
9	25.52	21.47	33.19	31.22	17.45	22.01	23.81	TRATADO	IMPEDIDO
10	22.47	26.92	25.90	30.94	26.42	28.09	24.75	TRATADO	DESIMPEDIDO
11	23.50	18.65	30.43	36.13	22.32	23.94	23.51	TRATADO	IMPEDIDO
12	32.88	30.12	26.05	29.77	28.44	38.37	18.70	TRATADO	DESIMPEDIDO
13	27.74	21.69	17.49	25.95	17.87	21.81	22.13	TRATADO	IMPEDIDO
14	18.18	26.59	44.35	15.28	24.68	15.55	20.69	TRATADO	DESIMPEDIDO
15	23.15	27.49	20.00	25.45	19.50	24.79	26.72	TRATADO	IMPEDIDO
16	20.13	20.27	19.77	26.81	20.84	16.87	18.35	TRATADO	DESIMPEDIDO
17	26.03	21.37	23.51	23.88	21.37	11.85	26.13	TRATADO	IMPEDIDO
18	20.83	21.78	16.11	20.50	12.20	14.48	27.08	TRATADO	DESIMPEDIDO
19	21.67	20.45	26.47	28.74	30.89	20.29	27.31	CONTROLE	IMPEDIDO
20	23.46	26.39	29.15	22.77	33.99	19.79	21.05	CONTROLE	DESIMPEDIDO
21	13.85	21.63	27.08	30.17	25.42	31.82	27.27	CONTROLE	IMPEDIDO
22	26.52	27.89	27.99	28.86	38.02	17.50	18.01	CONTROLE	DESIMPEDIDO
23	26.16	22.02	31.69	21.43	26.34	16.59	27.55	CONTROLE	IMPEDIDO
24	22.48	30.07	32.51	26.09	38.10	20.45	16.23	CONTROLE	DESIMPEDIDO
25	23.67	17.67	17.38	26.69	25.80	25.36	18.95	CONTROLE	IMPEDIDO
26	19.93	17.41	17.63	21.86	17.93	19.25	23.03	CONTROLE	DESIMPEDIDO

Listagem dos dados para conferencia

OBS	TRAT	REPET	IMPED	FC11	FC21	FC31	FC41	FC51	FC12	FC22	FC32
27	2	5	1	21.20	25.98	27.36	20.46	24.29	22.26	22.36	30.33
28	2	5	2	16.14	16.10	15.87	15.25	20.85	21.19	22.83	21.22
29	2	6	1	17.39	23.05	22.95	18.68	20.65	20.72	19.69	22.05
30	2	6	2	18.32	21.92	15.13	14.01	26.21	16.81	24.07	16.29
31	2	7	1	19.56	23.27	32.54	28.77	24.18	31.86	20.20	24.14
32	2	7	2	20.85	24.61	26.32	21.31	22.41	29.82	29.03	24.12
33	2	8	1	23.28	30.00	29.75	32.16	29.19	25.48	17.13	27.59
34	2	8	2	24.17	20.48	32.79	24.09	31.99	22.73	26.51	23.02
35	2	9	1	24.34	25.28	32.17	25.00	24.68	22.37	23.05	28.78
36	2	9	2	24.24	24.82	27.90	22.34	19.37	27.05	24.70	22.70

OBS	FC42	FC52	FC13	FC23	FC33	FC43	FC53	TRATAM	IMPEDI
27	26.95	33.51	21.19	20.86	27.85	27.98	30.41	CONTROLE	IMPEDIDO
28	18.86	13.06	22.52	26.32	19.83	17.15	20.42	CONTROLE	DESIMPEDIDO
29	23.72	24.05	17.33	23.17	22.65	27.53	16.10	CONTROLE	IMPEDIDO
30	22.41	17.46	20.74	25.20	11.43	18.00	12.21	CONTROLE	DESIMPEDIDO
31	31.21	25.45	23.49	27.57	21.93	20.99	24.44	CONTROLE	IMPEDIDO
32	25.21	17.57	25.13	26.54	27.78	20.89	17.07	CONTROLE	DESIMPEDIDO
33	27.88	28.75	21.56	20.19	21.96	23.85	23.98	CONTROLE	IMPEDIDO
34	20.58	17.04	21.43	26.74	26.62	23.93	20.90	CONTROLE	DESIMPEDIDO
35	27.94	28.29	27.52	21.92	24.67	30.67	16.99	CONTROLE	IMPEDIDO
36	23.00	23.12	20.00	25.79	26.52	20.30	19.63	CONTROLE	DESIMPEDIDO

3.3. Informações preliminares da análise de variância.

A análise de variância será explicada a seguir. Os resultados desses dados são obtidos a partir da aplicação do procedimento GLM para análise de variância de experimentos. A utilização desse procedimento ao invés do procedimento ANOVA decorre da possibilidade de definição de contrastes.

3.3.1. Informações a respeito das variáveis classificatórias.

Inicialmente, como resultado do procedimento GLM são mostradas as variáveis classificatórias e os valores atribuídos a cada uma delas. Pode-se observar, que foram utilizadas na análise do experimento, três variáveis classificatórias: TRATAM, REPET e IMPEDI e que elas apresentaram, respectivamente 2, 9 e 2 valores.

Pode-se observar, também que o arquivo contém 36 observações.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
TRATAM	2	CONTROLE TRATADO
REPET	9	1 2 3 4 5 6 7 8 9
IMPEDI	2	DESIMPEDIDO IMPEDIDO

Number of observations in data set = 36

3.3.2. Análises univariadas.

A seguir são impressos os resultados das análises univariadas. Cada zona e região corresponde a um valor observado.

3.3.2.1. Análise para região 1, zona 1.

Análise de variância com medidas repetidas
General Linear Models Procedure

Dependent Variable: **FC11**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	506.7135333	26.6691333	2.37	0.0432
Error	16	179.8138222	11.2383639		
Corrected Total	35	686.5273556			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC11 Mean
0.738082	14.80655	3.352367	22.6411111

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	57.9628444	57.9628444	2.13	0.1641
TRATAM*REPET	16	436.0231111	27.2514444	2.42	0.0430
IMPEDI	1	7.4529000	7.4529000	0.66	0.4274
TRATAM*IMPEDI	1	5.2746778	5.2746778	0.47	0.5031

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC11

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 27.25144
Critical Value of Studentized Range= 2.998
Minimum Significant Difference= 3.689

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	23.910	18	TRATADO
A	21.372	18	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC11

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 11.23836
Critical Value of Studentized Range= 2.998
Minimum Significant Difference= 2.369

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	23.096	18	IMPEDIDO
A	22.186	18	DESIMPEDIDO

Como a interação não é significativa a análise do quadro de médias não é necessário.

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	20.5344444	3.3316629	a
	IMPEDIDO	9	22.2100000	2.7034006	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	23.8377778	4.8258284	a
	IMPEDIDO	9	23.9822222	5.9399196	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 3.3501
Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

O quadro de análise de variância mostra que não existe diferença na percentagem de fibra colágeno dessa zona/região causada por efeito do tratamento ou do impedimento.

3.3.2.2. Análise para região 2, zona 1.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: FC21

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	757.7626889	39.8822468	1.82	0.1538
Error	16	383.3462111	23.9591382		
Corrected Total	35	1141.1089000			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC21 Mean
0.664058	19.71990	4.894807	24.8216667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	28.7653444	28.7653444	1.02	0.3285
TRATAM*REPET	16	453.0220556	28.3138785	1.18	0.3712
IMPEDI	1	54.9575111	54.9575111	2.29	0.1494
TRATAM*IMPEDI	1	221.0177778	221.0177778	9.22	0.0078

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC21

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 28.31388
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 3.7602

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	25.716	18	CONTROLE
A	23.928	18	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC21

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 23.95914
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 3.459

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	26.057	18	IMPEDIDO
A	23.586	18	DESIMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	22.0022222	3.2267080	b
	IMPEDIDO	9	29.4288889	7.3939645	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	25.1700000	5.0784200	a
	IMPEDIDO	9	22.6855556	3.6977463	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 4.8915
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

A análise do quadro de médias permite verificar a interação indicada no quadro de análise de variância. Conclui-se que no grupo controle média de FC é estatisticamente superior quando há impedimento em relação aos animais desimpedidos. Nos animais tratados não é verificada diferença estatística significativa entre o lado impedido e o desimpedido.

3.3.2.3. Análise para região 3, zona 1.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: **FC31**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	1657.918478	87.258867	3.18	0.0117
Error	16	439.282111	27.455132		
Corrected Total	35	2097.200589			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC31 Mean
0.790539	20.76845	5.239764	25.2294444

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	39.229344	39.229344	0.41	0.5334
TRATAM*REPET	16	1548.682644	96.792665	3.53	0.0080
IMPEDI	1	0.005378	0.005378	0.00	0.9890
TRATAM*IMPEDI	1	70.001111	70.001111	2.55	0.1299

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC31

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 96.79267
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 6.9523

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	26.273	18	CONTROLE
A	24.186	18	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC31

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 27.45513
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 3.7027

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	25.242	18	DESIMPEDIDO
A	25.217	18	IMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	24.8911111	6.9131676	a
	IMPEDIDO	9	27.6555556	4.3696170	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	25.5922222	9.4458983	a
	IMPEDIDO	9	22.7788889	9.6117200	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 5.2363
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

Todos os testes levam à conclusão de inexistência de efeito do impedimento ou do tratamento na porcentagem de FC dessa região/zona.

3.3.2.4. Análise para região 4, zona 1.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: FC41

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	670.2314750	35.2753408	2.73	0.0239
Error	16	207.1038000	12.9439875		
Corrected Total	35	877.3352750			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC41 Mean
0.763940	15.90939	3.597775	22.6141667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	4.9210028	4.9210028	0.19	0.6698
TRATAM*REPET	16	417.2794222	26.0799639	2.01	0.0860
IMPEDI	1	89.3970250	89.3970250	6.91	0.0183
TRATAM*IMPEDI	1	158.6340250	158.6340250	12.26	0.0030

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC41

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 26.07996
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 3.6088

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	22.984	18	CONTROLE
A	22.244	18	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC41

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 12.94399
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 2.5424

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	24.190	18	IMPEDIDO
B	21.038	18	DESIMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	19.3088889	3.2432601	b
	IMPEDIDO	9	26.6588889	5.6663225	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	22.7677778	5.1213421	a
	IMPEDIDO	9	21.7211111	3.0321298	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 3.5954
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

Pode ser verificado o efeito do impedimento na porcentagem de FC, nessa zona/região. Como a interação é significativa vemos que nos animais controle, o lado impedido apresentou maior média de FC que o lado não impedido.

3.3.2.5. Análise para região 5, zona 1.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: **FC51**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	540.4806639	28.4463507	5.07	0.0010
Error	16	89.7115000	5.6069699		
Corrected Total	35	630.1921639			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC51 Mean
0.857644	10.93061	2.367904	21.6630556

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	72.9031361	72.9031361	2.64	0.1112
TRATAM*REPET	16	410.3350779	25.6459424	4.57	0.0021
IMPEDI	1	25.1502250	25.1502250	4.49	0.0502
TRATAM*IMPEDI	1	32.0922250	32.0922250	5.72	0.0294

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC51

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 25.64594
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 3.5787

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	23.086	18	CONTROLE
A	20.240	18	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC51

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 5.606969
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 1.6733

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	22.499	18	IMPEDIDO
A	20.827	18	DESIMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	23.1944444	5.3096283	a
	IMPEDIDO	9	22.9777778	3.8166699	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	18.4600000	3.1773928	b
	IMPEDIDO	9	22.0200000	3.1065857	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 2.3663
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

Como a interação é significativa, vemos no quadro de médias que apenas nos animais tratados há uma maior média de FC do lado IMPEDIDO.

3.3.2.6. Análise para região 1, zona 2.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: FC12

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	764.2176528	40.2219817	3.43	0.0080
Error	16	187.5096444	11.7193528		
Corrected Total	35	951.7272972			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC12 Mean
0.802980	13.85989	3.423354	24.6997222

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	10.3576694	10.3576694	0.23	0.6413
TRATAM*REPET	16	735.0731770	45.9420736	3.92	0.0047
IMPEDI	1	10.2506694	10.2506694	0.87	0.3636
TRATAM*IMPEDI	1	8.5361361	8.5361361	0.73	0.4060

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC12

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 45.94207
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 4.7898

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	25.236	18	TRATADO
A	24.163	18	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC12

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 11.71935
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 2.4191

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	25.233	18	DESIMPEDIDO
A	24.166	18	IMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	24.2100000	5.0813679	a
	IMPEDIDO	9	24.1166667	4.0820736	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	26.2566667	7.1341240	a
	IMPEDIDO	9	24.2155556	4.6843893	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 3.4211
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

Observa-se que não existe efeito do tratamento ou do impedimento na FC dessa zona/região.

3.3.2.7. Análise para região 2, zona 2.

Análise de variância com medidas repetidas General Linear Models Procedure

Dependent Variable: **FC22**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	996.3216667	52.4379825	3.36	0.0089
Error	16	249.5380222	15.5961264		
Corrected Total	35	1245.8596889			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC22 Mean
0.799706	15.73036	3.949193	25.1055556

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	87.9218778	87.9218778	1.85	0.1930
TRATAM*REPET	16	761.7955111	47.6122194	3.05	0.0160
IMPEDI	1	118.3018778	118.3018778	7.59	0.0141
TRATAM*IMPEDI	1	28.3024000	28.3024000	1.81	0.1967

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC22

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 47.61222
Critical Value of Studentized Range= 2.998
Minimum Significant Difference= 4.8761

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	26.668	18	CONTROLE
A	23.543	18	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC22

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 15.59613
Critical Value of Studentized Range= 2.998
Minimum Significant Difference= 2.7907

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	26.918	18	DESIMPEDIDO
B	23.293	18	IMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	29.3677778	6.0595457	a
	IMPEDIDO	9	23.9688889	5.4818780	b
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	24.4688889	4.6312159	a
	IMPEDIDO	9	22.6166667	6.1805704	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 3.9465
Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

Observa-se nessa zona/região o efeito do impedimento de forma que o lado desimpedido aprendeu maiores médias de FC que o lado desimpedido. Embora o quadro de médias mostre um efeito diferente para animais tratados e controle, tal diferença deve ser desprezada uma vez que a interação no quadro de análise de variância não foi significativa.

3.3.2.B. Análise para região 3, zona 2.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: FC32

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	964.6101306	50.7689542	2.83	0.0201
Error	16	286.6985444	17.9186590		
Corrected Total	35	1251.3086750			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC32 Mean
0.770881	17.71457	4.233044	23.8958333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	34.3591361	34.3591361	0.70	0.4164
TRATAM*REPET	16	789.9589889	49.3724368	2.76	0.0252
IMPEDI	1	1.4843361	1.4843361	0.08	0.7772
TRATAM*IMPEDI	1	138.8076694	138.8076694	7.75	0.0133

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC32

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 49.37244
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 4.9654

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	24.873	18	CONTROLE
A	22.919	18	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC32

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 17.91866
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 2.9913

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	24.099	18	DESIMPEDIDO
A	23.693	18	IMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	23.1122222	4.7826922	a
	IMPEDIDO	9	26.6333333	3.1946244	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	25.0855556	8.9019171	a
	IMPEDIDO	9	20.7522222	4.7178697	b

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 4.2302
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

Observa-se nessa zona/região o efeito da interação tratamento x impedimento. Conclui-se que os animais tratados sofrem influência do impedimento de forma que os animais desimpedidos apresentam médias estatisticamente maiores que os tratados impedidos. Os animais controle não sofreram influência do impedimento.

3.3.2.9. Análise para região 4, zona 2.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: FC42

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	297.2304111	15.6437058	0.65	0.8193
Error	16	387.2784889	24.2049056		
Corrected Total	35	684.5089000			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC42 Mean
0.434224	19.88755	4.919848	24.7383333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	43.5160111	43.5160111	3.03	0.1011
TRATAM*REPET	16	230.0854889	14.3803431	0.59	0.8461
IMPEDI	1	10.6929000	10.6929000	0.44	0.5157
TRATAM*IMPEDI	1	12.9360111	12.9360111	0.53	0.4753

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC42

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 14.38034
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 2.6798

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	25.838	18	TRATADO
A	23.639	18	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC42

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 24.20491
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 3.4767

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	25.283	18	IMPEDIDO
A	24.193	18	DESIMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	22.4944444	2.4552297	a
	IMPEDIDO	9	24.7833333	4.9880658	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	25.8922222	5.7349930	a
	IMPEDIDO	9	25.7833333	3.6566925	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 4.9166
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

Não são observados efeitos significativos de tratamento ou impedimento do FC dessa zona/região.

3.3.2.10. Análise para região 5, zona 2.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: FC52

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	241.3232528	12.7012238	0.36	0.9829
Error	16	570.0528222	35.6283014		
Corrected Total	35	811.3760750			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC52 Mean
0.297425	25.82749	5.968945	23.1108333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	1.9274694	1.9274694	0.17	0.6844
TRATAM*REPET	16	179.9715556	11.2482222	0.32	0.9865
IMPEDI	1	16.2812250	16.2812250	0.46	0.5087
TRATAM*IMPEDI	1	43.1430028	43.1430028	1.21	0.2874

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC52

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 11.24822
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 2.37

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	23.342	18	TRATADO
A	22.879	18	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC52

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 35.6283
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 4.218

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	23.783	18	IMPEDIDO
A	22.438	18	DESIMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	21.1122222	5.9063520	a
	IMPEDIDO	9	24.6466667	4.8984283	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	23.7644444	5.2644542	a
	IMPEDIDO	9	22.9200000	2.6756261	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 5.9650
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

Não são observados efeitos significativos de tratamento ou impedimento do FC dessa zona/região.

3.3.2.11. Análise para região 1, zona 3.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: FC13

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	716.4448556	37.7076240	0.99	0.5111
Error	16	607.4726000	37.9670375		
Corrected Total	35	1323.9174556			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC13 Mean
0.541155	24.49617	6.161740	25.1538889

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	53.5824000	53.5824000	1.35	0.2626
TRATAM*REPET	16	635.9427556	39.7464222	1.05	0.4641
IMPEDI	1	9.3636000	9.3636000	0.25	0.6262
TRATAM*IMPEDI	1	17.5561000	17.5561000	0.46	0.5062

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC13

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 39.74642
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 4.4551

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	26.374	18	TRATADO
A	23.934	18	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC13

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 37.96704
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 4.3542

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	25.664	18	IMPEDIDO
A	24.644	18	DESIMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	24.1222222	4.8990427	a
	IMPEDIDO	9	23.7455556	4.8599668	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	25.1655556	7.8855503	a
	IMPEDIDO	9	27.5822222	6.7546369	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 6.1676
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

Não são observados efeitos significativos de tratamento ou impedimento do FC dessa zona/região.

3.3.2.12. Análise para região 2, zona 3.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: FC23

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	622.0974444	32.7419708	2.96	0.0163
Error	16	176.7203556	11.0450222		
Corrected Total	35	798.8178000			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC23 Mean
0.778773	12.91646	3.323405	25.7300000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	16.6192111	16.6192111	0.50	0.4905
TRATAM*REPET	16	533.9136889	33.3696056	3.02	0.0168
IMPEDI	1	17.6400000	17.6400000	1.60	0.2244
TRATAM*IMPEDI	1	53.9245444	53.9245444	4.88	0.0421

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC23

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 33.36961
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 4.0821

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	26.409	18	TRATADO
A	25.051	18	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC23

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 11.04502
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 2.3485

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	26.430	18	IMPEDIDO
A	25.030	18	DESIMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	25.5744444	2.1141199	a
	IMPEDIDO	9	24.5266667	3.7751987	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	24.4855556	6.6528736	b
	IMPEDIDO	9	28.3333333	5.0839847	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 3.3212
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

O efeito significativo da interação tratamento x impedimento leva à análise do quadro de médias que permite a verificação do efeito do impedimento no grupo de animais tratados de forma que a média dos impedidos é estatisticamente superior à média dos desimpedidos.

3.3.2.13. Análise para região 3, zona 3.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: FC33

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	887.1980000	46.6946316	1.62	0.1672
Error	16	461.3621222	28.8351326		
Corrected Total	35	1348.5601222			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC33 Mean
0.657885	21.62398	5.369835	24.8327778

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	47.7941778	47.7941778	1.03	0.3243
TRATAM*REPET	16	739.3491444	46.2093215	1.60	0.1776
IMPEDI	1	78.6177778	78.6177778	2.73	0.1182
TRATAM*IMPEDI	1	21.4369000	21.4369000	0.74	0.4013

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC33

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 46.20932
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 4.8037

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	25.985	18	CONTROLE
A	23.681	18	TRATADO

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC33

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 28.83513
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 3.7946

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	26.311	18	DESIMPEDIDO
A	23.355	18	IMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	26.6911111	9.1496837	a
	IMPEDIDO	9	25.2788889	2.9373561	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	25.9300000	6.1286377	a
	IMPEDIDO	9	21.4311111	4.4926536	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 5,3663
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

Não são observados efeitos significativos de tratamento ou impedimento do FC dessa zona/região.

3.3.2.14. Análise para região 4, zona 3.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: **FC43**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	903.4626972	47.5506683	1.84	0.1107
Error	16	412.7045778	25.7940361		
Corrected Total	35	1316.1672750			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC43 Mean
0.686435	21.83093	5.070783	23.2641667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	29.9391361	29.9391361	0.73	0.4045
TRATAM*REPET	16	653.4114889	40.8382181	1.50	0.1836
IMPEDI	1	1.3186694	1.3186694	0.05	0.8240
TRATAM*IMPEDI	1	218.7934028	218.7934028	8.48	0.0102

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC43

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 40.83822
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 4.5159

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	24.176	18	TRATADO
A	22.352	18	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC43

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 25.79404
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 3.589

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	23.456	18	IMPEDIDO
A	23.073	18	DESIMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	19.6955556	2.0818988	b
	IMPEDIDO	9	25.0088889	5.0545312	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	26.4500000	8.9110662	a
	IMPEDIDO	9	21.9022222	4.8964088	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 5.0754
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

A análise do quadro de médias mostra a interação entre tratamento e impedimento. Enquanto que os animais tratados não mostram sofrer efeito do impedimento, os animais controle apresentam média do lado impedido estatisticamente superior à média do lado desimpedido.

3.3.2.15. Análise para região 5, zona 3.

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: **FC53**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	19	415.4938306	21.8675700	1.88	0.1027
Error	16	185.6494444	11.6030903		
Corrected Total	35	601.1332750			

R-Square	C.V.	Root MSE	FC53 Mean
0.691168	15.63314	3.406331	21.7891667

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAM	1	12.6143361	12.6143361	0.73	0.4041
TRATAM*REPET	16	274.8618889	17.1788681	1.48	0.2206
IMPEDI	1	108.7501361	108.7501361	9.37	0.0075
TRATAM*IMPEDI	1	19.2574694	19.2574694	1.66	0.2160

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC53

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 17.17887
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 2.9289

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TRATAM
A	22.381	18	TRATADO
A	21.197	18	CONTROLE

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: FC53

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 11.60309
 Critical Value of Studentized Range= 2.998
 Minimum Significant Difference= 2.4071

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	IMPEDI
A	23.527	18	IMPEDIDO
B	20.051	18	DESIMPEDIDO

TRATAM	IMPEDI	N Obs	Mean	Std Dev	Grupo de Tukey
CONTROLE	DESIMPEDIDO	9	18.7277778	3.2458003	b
	IMPEDIDO	9	23.6666667	5.1427886	a
TRATADO	DESIMPEDIDO	9	21.3744444	4.0002066	a
	IMPEDIDO	9	23.3877778	2.1398059	a

Teste de Tukey ($\alpha=0.05$) DMS: 3.4041
 Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes

O efeito do impedimento é estatisticamente significativo. Nessa zona/região, o lado impedido apresenta média estatisticamente superior ao lado desimpedido. Como a interação não é significativa, o quadro de médias não é analisado.

3.3.3. Níveis de Informação para Medidas Repetidas.

A seguir o SAS informa a codificação de região e zona referente a cada uma das variáveis dependentes utilizadas no modelo.

Conforma-se através dessa tabela que a variável FC11, por exemplo corresponde à observação de um valor na zona 1 e na região 1 e que a variável FC41 corresponde à uma observação na zona 1 e região 4.

A exatidão dessa informação garantirá que os testes de comparação das zonas e das regiões estão sendo feitos corretamente.

Repeated Measures Analysis of Variance
Repeated Measures Level Information

Variável Dependente	FC11	FC21	FC31	FC41	FC51	FC12
Nível de ZONA	1	1	1	1	1	2
Nível de REGIAO	1	2	3	4	5	1
Variável Dependente	FC22	FC32	FC42	FC52	FC13	FC23
Nível de ZONA	2	2	2	2	3	3
Nível de REGIAO	2	3	4	5	1	2
Variável Dependente	FC33	FC43	FC53			
Nível de ZONA	3	3	3			
Nível de REGIAO	3	4	5			

3.4. Análise de variância multivariada dentro dos indivíduos.

Inicialmente serão mostrados os resultados da análise de variância multivariada. Optou-se por desconsiderar a análise univariada do experimento em parcelas sub-divididas uma vez que tornariam os resultados muito longos e sendo desnecessários.

3.4.1. Teste para o efeito de ZONAS.

Inicialmente testar-se-á o efeito das zonas. A hipótese testada, de forma multivariada é a seguinte:

$$H_0: \text{Zona 1} = \text{Zona 2} = \text{Zona 3}$$

A rejeição dessa hipótese num nível α de significância pré-estabelecido de 5% conduzirá à rejeição da hipótese alternativa:

$$H_a: \text{Zona } i \neq \text{Zona } j$$

O resultado dessa análise estatística é listado a seguir.

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for
the Hypothesis of no **ZONA Effect**
H = Type I SS&CP Matrix for ZONA E = Error SS&CP Matrix

	S=1	M=0	N=6.5			
Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F	
Wilks' Lambda	0.74562475	2.5587	2	15	0.1106	
Pillai's Trace	0.25437525	2.5587	2	15	0.1106	
Hotelling-Lawley Trace	0.34115720	2.5587	2	15	0.1106	
Roy's Greatest Root	0.34115720	2.5587	2	15	0.1106	

O nível α de significância calculado e no qual pode ser rejeitada a hipótese H_0 que aparece no quadro anterior rotulado como $Pr > F$ foi 11,06 % nos quatro testes estatísticos multivariados executados. Conclui-se dessa forma que o erro envolvido na rejeição da hipótese de nulidade (H_0) é superior ao nível tido como razoável (5 %). Aceita-se a hipótese de nulidade e conclui-se que as três zonas contém a mesma porcentagem de Fibras Colágeno e Substância Interfibrilar.

3.4.2. Efeitos das interações com ZONA.

Um tipo de efeito que pode ser observado na análise de variância é o efeito da interação, ou seja, atuação conjunta de determinados níveis dos fatores que conduzem a valores diferentes dos valores gerais. Por exemplo, ocorreria uma interação de ZONA com TRATAMENTO, se nos animais tratados fossem observadas diferenças entre as zonas e nos animais controle, não fossem observadas diferenças. Parte dos dados contrariariam o resultado geral observado no item 3.4.1.

A hipótese de nulidade testada é a seguinte:

$$H_0: \text{Inexistência de efeito da interação ZONA x TRATAMENTOS}$$

A rejeição dessa hipótese num nível α de significância pré-estabelecido de 5% conduzirá à rejeição da hipótese alternativa:

$$H_a: \text{Há interação entre ZONAS e TRATAMENTOS}$$

Note que outras interações podem ser testadas, por exemplo: ZONA x IMPED, ZONA x TRAT x IMPED, ...

A abordagem é sempre a mesma mostrada no parágrafo anterior, alterando-se apenas as hipóteses de nulidade de forma que o enunciado de H_0 e H_a fiquem compatíveis com os fatores cujas interações estão sendo testadas.

O resultado dessas análises estatísticas são listados a seguir.

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for
the Hypothesis of no **ZONA*TRATAM Effect**
H = Type I SS&CP Matrix for ZONA*TRATAM E = Error SS&CP Matrix

Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.70101551	3.1988	2	15	0.0697
Pillai's Trace	0.29898449	3.1988	2	15	0.0697
Hotelling-Lawley Trace	0.42650196	3.1988	2	15	0.0697
Roy's Greatest Root	0.42650196	3.1988	2	15	0.0697

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for
the Hypothesis of no **ZONA*IMPEDI Effect**
H = Type I SS&CP Matrix for ZONA*IMPEDI E = Error SS&CP Matrix

Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.74977183	2.5030	2	15	0.1153
Pillai's Trace	0.25022817	2.5030	2	15	0.1153
Hotelling-Lawley Trace	0.33373910	2.5030	2	15	0.1153
Roy's Greatest Root	0.33373910	2.5030	2	15	0.1153

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for
the Hypothesis of no **ZONA*TRATAM*IMPEDI Effect**
H = Type I SS&CP Matrix for ZONA*TRATAM*IMPEDI E = Error SS&CP Matrix

Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.82712231	1.5676	2	15	0.2409
Pillai's Trace	0.17287769	1.5676	2	15	0.2409
Hotelling-Lawley Trace	0.20901104	1.5676	2	15	0.2409
Roy's Greatest Root	0.20901104	1.5676	2	15	0.2409

A observação dos resultados anteriormente listados permitem concluir a aceitação da hipótese de nulidade relacionada à cada uma das interações testadas. Conclui-se que a inexistência de efeito das zonas nas duas variáveis analisadas (FIBRAS COLÁGENO e SUBSTÂNCIA INTERFIBRILAR) é observado em quaisquer subgrupos de outros fatores testados pelo modelo.

3.4.3. Teste para o efeito de REGIÕES.

Inicialmente testar-se-á o efeito das zonas. A hipótese testada, de forma multivariada é a seguinte:

$$H_0: \text{Região 1} = \text{Região 2} = \text{Região 3} = \text{Região 4} = \text{Região 5}$$

A rejeição dessa hipótese num nível α de significância pré-estabelecido de 5% conduzirá à rejeição da hipótese alternativa:

$$H_a: \text{Região } i \neq \text{Região } j$$

O resultado dessa análise estatística é listado a seguir.

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for
the Hypothesis of no **REGIAO Effect**
H = Type I SS&CP Matrix for REGIAO E = Error SS&CP Matrix

Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.26866672	8.8468	4	13	0.0011
Pillai's Trace	0.73133328	8.8468	4	13	0.0011
Hotelling-Lawley Trace	2.72208367	8.8468	4	13	0.0011
Roy's Greatest Root	2.72208367	8.8468	4	13	0.0011

O nível α de significância calculado e no qual pode ser rejeitada a hipótese H_0 que aparece no quadro anterior rotulado como $Pr > F$ foi 0,11 % nos quatro testes estatísticos multivariados executados. Conclui-se dessa forma que o erro envolvido na rejeição da hipótese de nulidade (H_0) é inferior ao nível tido como razoável (5 %). Rejeita-se a hipótese de nulidade e conclui-se que existem pelo menos, duas regiões que diferem entre si em termos da quantidade de fibra colágeno e substância interfibrilar.

3.4.4. Efeitos das interações com REGIÃO.

Um tipo de efeito que pode ser observado na análise de variância é o efeito da interação, ou seja, atuação conjunta de determinados níveis dos fatores que conduzem a valores diferentes dos valores gerais. Por exemplo, ocorreria uma interação de REGIÃO com TRATAMENTO, se nos animais tratados fossem observadas diferenças entre as regiões e nos animais controle, não fossem observadas diferenças. Parte dos dados contrariariam o resultado geral observado no item 3.4.3.

A hipótese de nulidade testada é a seguinte:

H_0 : Inexistência de efeito da interação REGIÃO x TRATAMENTOS

A rejeição dessa hipótese num nível α de significância pré-estabelecido de 5% conduzirá à rejeição da hipótese alternativa:

H_a : Há interação entre REGIÕES e TRATAMENTOS

Note que outras interações podem ser testadas, por exemplo: REGIÃO x IMPED, REGIÃO x TRAT x IMPED, ...

A abordagem é sempre a mesma mostrada da mostrada anteriormente, alterando-se apenas as hipóteses de nulidade de forma que o enunciado de H_0 e H_a fiquem compatíveis com os fatores cujas interações estão sendo testadas.

O resultado dessas análises estatísticas são listados a seguir.

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for
the Hypothesis of no REGIAO*TRATAM Effect
H = Type I SS&CP Matrix for REGIAO*TRATAM E = Error SS&CP Matrix

	S=1	M=1	N=5.5			
Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F	
Wilks' Lambda	0.17739433	15.0708	4	13	0.0001	
Pillai's Trace	0.82260567	15.0708	4	13	0.0001	
Hotelling-Lawley Trace	4.63715880	15.0708	4	13	0.0001	
Roy's Greatest Root	4.63715880	15.0708	4	13	0.0001	

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for
the Hypothesis of no REGIAO*IMPEDI Effect
H = Type I SS&CP Matrix for REGIAO*IMPEDI E = Error SS&CP Matrix

	S=1	M=1	N=5.5			
Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F	
Wilks' Lambda	0.55121314	2.6461	4	13	0.0816	
Pillai's Trace	0.44878686	2.6461	4	13	0.0816	
Hotelling-Lawley Trace	0.81418028	2.6461	4	13	0.0816	
Roy's Greatest Root	0.81418028	2.6461	4	13	0.0816	

Manova Test Criteria and Exact F Statistics for
the Hypothesis of no ZONA*REGIAO Effect
H = Type I SS&CP Matrix for ZONA*REGIAO E = Error SS&CP Matrix

	S=1	M=3	N=3.5			
Statistic	Value	F	Num DF	Den DF	Pr > F	
Wilks' Lambda	0.44272650	1.4161	8	9	0.3065	
Pillai's Trace	0.55727350	1.4161	8	9	0.3065	
Hotelling-Lawley Trace	1.25873083	1.4161	8	9	0.3065	
Roy's Greatest Root	1.25873083	1.4161	8	9	0.3065	

Conclui-se através dessas análises que também não existe interação entre as regiões e os demais fatores testados uma vez que o nível de significância da rejeição da hipótese da nulidade é sempre superior ao valor pré-estabelecido de 5%, valor tido como aceitável. Convém esclarecer que dada a complexidade envolvida na análise dos resultados não foram consideradas as interações triplas e quádruplas.

3.5. Análise de variância entre os indivíduos.

Até agora apenas foram testados os efeitos verificados dentro de cada indivíduo, ou seja, regiões e zonas e através de uma metodologia multivariada. Passaremos, agora a tratar dos demais fatores: TRATAMENTO e IMPEDIMENTO. Para tanto, voltaremos a utilizar o quadro de análise de variância mostrado no item 2 que traz a metodologia de análise. O quadro de variância é listado a seguir:

Análise de variância com medidas repetidas

General Linear Models Procedure
Repeated Measures Analysis of Variance
Tests of Hypotheses for Between Subjects Effects

Causa de Variação	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRATAMENTOS	1	1.34680500	1.34680500	0.01	0.9440
RESIDUO (A)	16	964.37651	241.09413		
IMPEDIMENTOS	1	90.75220	90.75220	3.77	0.1240
TRAT*IMPED	1	2.91085	2.91085	0.12	0.7454
RESIDUO (B)	16	96.17874	24.04468		
TOTAL	35				

Conclui-se através do quadro anterior que não existe efeito de TRATAMENTO, IMPEDIMENTO e mesmo da interação entre os dois fatores. A rejeição das hipóteses de nulidade associadas a cada um dos fatores ocorreria com os níveis de significância mostrados na coluna rotulada PROB > F, todos eles, superiores ao valor pré-estabelecido de 5%.

3.6. Análise de variância dentro dos indivíduos.

Através de técnicas univariadas também é possível a análise de dados dentro dos indivíduos e concluir através de outro método, pela existência, ou não dos efeitos de ZONA, REGIÃO e suas interações.

As hipóteses testadas são as mesmas já enunciadas no caso da análise multivariada.

3.6.1. Testes para ZONA e suas interações.

Os testes aqui apresentados se referem às análises previamente executadas mas modificados uma vez que a metodologia de cálculo é outra.

Repeated Measures Analysis of Variance
Univariate Tests of Hypotheses for Within Subject Effects

Source: ZONA

DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F
2	37.83328111	18.91664056	2.22	0.1714	0.1978	0.1714

Source: ZONA*TRAT

DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F
2	25.06159000	12.53079500	1.47	0.2863	0.2924	0.2863

Source: ZONA*TRAT*REP							
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F	
8	100.22715556	12.52839444	1.47	0.2999	0.3374	0.2999	

Source: ZONA*IMPED							
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F	
2	25.16790111	12.58395056	1.47	0.2850	0.2914	0.2850	

Source: ZONA*TRAT*IMPED							
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F	
2	13.90809000	6.95404500	0.81	0.4763	0.4414	0.4763	

Source: Error (ZONA)			
DF	Type III SS	Mean Square	
8	68.27199556	8.53399944	

Greenhouse-Geisser Epsilon = 0.6596 Huynh-Feldt Epsilon = 2.5797

3.6.2. Testes para REGIÃO e suas interações.

Os testes aqui apresentados se referem às análises previamente executadas mas modificados uma vez que a metodologia de cálculo é outra.

Univariate Tests of Hypotheses for Within Subject Effects

Source: REGIAO							
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F	
4	179.27009444	44.81752361	3.26	0.0388	0.1018	0.0388	

Source: REGIAO*TRAT							
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F	
4	82.67899222	20.66974806	1.51	0.2475	0.2817	0.2475	

Source: REGIAO*TRAT*REP							
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F	
16	642.27340000	40.14208750	2.92	0.0194	0.0886	0.0194	

Source: REGIAO*IMPED							
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F	
4	73.45258556	18.36314639	1.34	0.2990	0.3162	0.2990	

Source: REGIAO*TRAT*IMPED							
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F	
4	19.43596333	4.85899083	0.35	0.8375	0.6899	0.8375	

Contrast: REGIAO*Impedido x Desimp.							
DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F	
4	73.45258556	18.36314639	1.34	0.2990	0.3162	0.2990	

Source: Error (REGIAO)			
DF	Type III SS	Mean Square	
16	219.68288444	13.73018028	

Greenhouse-Geisser Epsilon = 0.4435 Huynh-Feldt Epsilon = 2.1659

Tests of Hypotheses using the Type III MS for REGIAO*TRAT*REP as an error term

Contrast: REGIAO*Controle x Tratado							
DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F	
4	82.67899222	20.66974806	0.51	0.7259	.	.	

Source: ZONA*REGIAO							
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	Adj G - G	Pr > F H - F	
8	84.09413556	10.51176694	1.01	0.4458	0.4167	0.4458	

Source:	ZONA*REGIAO*TRAT				Adj	Pr > F
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	G - G	H - F
8	61.53710444	7.69213806	0.74	0.6547	0.5358	0.6547
Source:	ZONA*REGIAO*TRAT*REP				Adj	Pr > F
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	G - G	H - F
32	360.43349333	11.26354479	1.09	0.4085	0.4476	0.4085
Source:	ZONA*REGIAO*IMPED				Adj	Pr > F
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	G - G	H - F
8	69.40367111	8.67545889	0.84	0.5778	0.4906	0.5778
Source:	ZONA*REGIAO*TRAT*IMPED				Adj	Pr > F
DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	G - G	H - F
8	81.59169333	10.19896167	0.98	0.4668	0.4284	0.4668
Contrast:	ZONA*REGIAO*Impedido x Desimp.				Adj	Pr > F
DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F	G - G	H - F
8	69.40367111	8.67545889	0.84	0.5778	0.4906	0.5778
Source:	Error(ZONA*REGIAO)					
DF	Type III SS	Mean Square				
32	331.91128222	10.37222757				

Greenhouse-Geisser Epsilon = 0.3346 Huynh-Feldt Epsilon = 2.8447

Tests of Hypotheses using the Type III MS for ZONA*REGIAO*TRAT*REP as an error term

Contrast:	ZONA*REGIAO*Controle x Tratado				Adj	Pr > F
DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F	G - G	H - F
8	61.53710444	7.69213806	0.68	0.7031	.	.

Segundo os resultados observados na análise anterior, existe efeito significativo de REGIÕES, ou seja a hipótese de nulidade para regiões:

$$H_0: \text{Região 1} = \text{Região 2} = \text{Região 3} = \text{Região 4} = \text{Região 5}$$

é rejeitado num nível de significância de 5 %. A rejeição da hipótese de nulidade implica na aceitação da hipótese alternativa:

$$H_a: \text{Região } i \neq \text{Região } j$$

3.7. Análise de contrastes.

A partir de contrastes é possível a comparação de zonas e regiões, duas a duas, a seguinte tabela resume os testes de contraste efetuados. A importância desse teste decorre da complementação que ele pode fazer em relação aos testes anteriores.

Os dois fatores expressos através de medidas repetidas (ZONAS e REGIÕES) foram testados anteriormente. O resultado desse anterior mostrou que as zonas são iguais (aceitação da hipótese de nulidade), dentro de um nível de confiança tido como razoável (5% de probabilidade de erro). Ocorre, também, que a hipótese de nulidade para Regiões foi rejeitada.

A rejeição da hipótese de nulidade para regiões conduz ao fato de que pelo menos duas regiões diferem entre si. O teste aplicado, entretanto, não mostra quais são as regiões que diferem uma da outra. Esse tipo de conclusão será fornecido através da análise de contrastes, cujos resultados sintetizamos a seguir.

3.7.1. Contrastes para zonas.

Inicialmente, compararemos as médias das zonas duas a duas. É esperado que não haja diferença estatística significativa uma vez que o teste anterior não permitiu a rejeição da hipótese da nulidade. Inicialmente mostraremos as comparações de médias das ZONAS:

VARIÁVEL: SUBSTÂNCIA INTERFIBRILAR

ZONA	Média	Nível de Significância	
		10%	5%
1	78.829	a	a
3	76.061	b	a
2	75.736	b	a

Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes nos níveis de significância adotados

VARIÁVEL: FIBRA COLÁGENO

ZONA	Média	Nível de Significância	
		10%	5%
2	24.264	a	a
3	23.939	a	a
1	23.171	b	a

Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes nos níveis de significância adotados

Pode ser verificada uma diferença estatística significativa entre a média da zona 1 e a média das zonas 2 e 3. Ao considerar essas diferenças, deve-se ponderar que a diferença ocorre com nível de significância superior a 5%. Nesse nível de significância as zonas são iguais.

3.7.2. Contrastes para regiões.

Os contrastes para regiões permitirão comparar todas as regiões duas a duas, de maneira similar ao feito com as zonas no item 3.7.1.

VARIÁVEL: SUBSTÂNCIA INTERFIBRILAR

REGIÃO	Média	Nível de Significância	
		10%	5%
5	77.831	a	a
4	76.597	b	b
1	76.224	bc	bc
3	75.460	cd	bc
2	74.930	d	c

Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

VARIÁVEL: FIBRA COLÁGENO

REGIÃO	Média	Nível de Significância	
		10%	5%
2	25.070	a	a
3	24.540	ab	ab
1	23.776	bc	ab
4	23.403	c	b
5	22.169	d	c

Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes

Ao nível de significância de 5%, conclui-se que todas as regiões diferem da região 5. Além disso, a região 2 difere da região 4.