



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

MAYARA SAMARA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DA MORFOLOGIA DA MANDÍBULA DO RATO WISTAR ADULTO

PIRACICABA

2019

MAYARA SAMARA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO DA MORFOLOGIA DA MANDÍBULA DO
RATO WISTAR ADULTO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos
requisitos exigidos para obtenção do título de
Cirurgiã Dentista.

Orientador: Prof. Dr. ALEXANDRE RODRIGUES FREIRE

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DO
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO
PELA ALUNA MAYARA SAMARA SILVA E ORIENTADA
PELO PROF. DR. ALEXANDRE RODRIGUES FREIRE.

PIRACICABA

2019

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

Si38c Silva, Mayara Samara, 1992-
Caracterização da morfologia da mandíbula do rato Wistar adulto / Mayara Samara Silva. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Alexandre Rodrigues Freire.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Morfologia. 2. Ratos Wistar. 3. Microtomografia por raio-X. I. Freire, Alexandre Rodrigues, 1985-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações adicionais, complementares

Palavras-chave em inglês:

Morphology

Rats, Wistar

X-ray microtomography

Titulação: Cirurgião-Dentista

Data de entrega do trabalho definitivo: 01-10-2019

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus Pais Roseli e José Augusto, que nunca desistiram de mim, sonharam esse sonho junto comigo, passaram por todos os obstáculos desses 6 anos ao meu lado e hoje estão vencendo comigo.

Dedico também a minha irmã Natascha, que sempre me mostrou a luz no fim do túnel e me fez querer sempre mais.

E por último, dedico a minha Vó Benedicta, que passou por todas as alegrias, choros, mas que infelizmente não poderá ver de perto essa vitória, mas estará sempre em meu coração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pela oportunidade de me tornar Cirurgiã Dentista.

Agradeço à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, e aos Professores, por todos os ensinamentos.

Agradeço à família que construí em Piracicaba, minhas amigas que moram comigo, aos que não moram, e que estiveram ao meu lado em todos os momentos, pessoas que com certeza levarei para sempre comigo. E também às amigas de Araraquara, que torceram muito pra que esse momento chegasse.

Agradeço também aos meus Professores, Alexandre Freire e Ana Cláudia Rossi, que me deram a oportunidade de participar deste trabalho e que sempre torceram por mim nesses longos anos.

E agradeço à minha prima de coração Adriana Guinesi, que me inspira nessa profissão, e que me ensinou muito nesses anos, sempre acreditando em mim.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico(CNPq), processo nº 01-P-135/2016.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi caracterizar a morfologia da mandíbula do rato Wistar adulto. Foram utilizados 7 ratos machos, linhagem Wistar, com 4 meses de idade. Ao atingirem a idade e peso propostos, os ratos foram eutanaziados. A cabeça foi desarticulada do corpo, dissecada e fixada em solução de formol a 10% e tampão fosfato 0,1 M durante 24h a 4°C. As cabeças de todos os ratos foram submetidas à microtomografia computadorizada. Após a reconstrução tridimensional de ambos os lados de cada mandíbula, a morfometria foi realizada no software Mimics v. 18 (Materialise, Bélgica). Os dados foram submetidos a uma análise estatística descritiva. Foram obtidas as médias e desvio padrão. Foi utilizado o software R CRAN (open source) para a análise estatística. Os resultados mostraram que as dimensões dos processos condilar e coronoide são aproximados e que as distâncias do forame mental ao processo angular e ao processo condilar foram similares. Este estudo permitiu compreender as dimensões de estruturas importantes da mandíbula do rato da linhagem Wistar para futuros estudos envolvendo a biomecânica mandibular em ratos Wistar.

Palavras-chave: Morfologia. Rato. Microtomografia.

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize the mandibular morphology of adult Wistar rat. Seven adult and male rats with 4 months old were used. After reach the proposed age and weight the animals were euthanized. The heads were disarticulated from the body, dissected and fixed in a phosphate buffered formalin solution 0,1 M during 24h and 4°C. All head were scanned on a computed microtomography. After the three-dimensional reconstruction of each mandible, the morphometrical analysis was performed using the software Mimics v18 (Materialise, Belgium). The data were submitted to a statistical analysis, in which the average and standard deviance were considered. For the statistical analysis the software R CRAN (open source) were used. The results showed that the size of condylar and coronoid processes is similar, as well as the distance from the mental foramen to angular and condylar processes. This study allowed to figure out the size of important structures of mandible of Wistar rats, which can be applied to future studies related to mandibular biomechanics in Wistar rats.

Key words: Morphology. Rat. Microtomography.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DA LITERATURA	10
3 PROPOSIÇÃO	12
4 MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1 Considerações Éticas	13
4.2 Amostra	13
4.3 Escaneamento e processamento das imagens	14
4.4 Análises morfométricas tridimensionais	15
4.5 Análise dos resultados	
5 RESULTADOS	16
6 DISCUSSÃO	17
7 CONCLUSÃO	18
REFERÊNCIAS	19
ANEXOS	21
Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio	21
Anexo 2 – Aprovação do Comitê de Ética (inclusão do nome da executora e título da pesquisa)	22
Anexo 3 – Iniciação Científica	23

1 INTRODUÇÃO

Ratos de laboratório apresentam a vantagem de ser geneticamente homogêneos, o que diminui um dos principais fatores que podem causar grande variação em estudos clínicos (Mavropoulos et al., 2004). Por isso, o rato continua sendo crucial para o avanço no entendimento do desenvolvimento, morfologia e evolução craniofacial (Baverstock et al., 2013).

Em relação ao aparelho craniofacial do rato, cada metade da mandíbula do rato (hemi-mandíbula) consiste de diferentes unidades funcionais: as angulares, os processos coronóides, e os processos condilares, os quais são todos os sítios de fixação muscular para os principais músculos da mastigação, e o processo alveolar permanece continuamente em erupção devido à erupção dental (Avis, 1961; Mavropoulos et al., 2004).

Dimensões e forma dos processos são diretamente relacionadas com o desenvolvimento e organização dos músculos da mastigação, desde que este conhecimento é aplicado nas pesquisas, maior estímulos mecânicos são direcionados para a formação óssea (Atchley e Hall, 1991). Isto faz com que a mandíbula do rato seja um excelente modelo para estudo dos efeitos de alterações nos estímulos mecânicos no crescimento e remodelação do tecido ósseo.

Para se ter uma caracterização precisa destes parâmetros de dimensões e forma da mandíbula do rato, o uso de medidas tridimensionais para obtenção de dados microestruturais, por microtomografia, deve ser incorporada ao monitoramento da morfologia óssea para uma determinação mais precisa da relação entre a forma e a função biomecânica deste osso (Majundar e Bay, 2000).

2 REVISÃO DA LITERATURA

Na literatura é possível encontrar dados referentes à anatomia do aparelho mastigatório de roedores (Greene, 1936; Yoshikawa e Suzuki, 1969; Mosley e Lanyon, 1998; Satoh, 1998, 1999; Kligenberg et al., 2003; Nies e Young Ro, 2004; e Williams et al. 2009). As espécies mais comumente estudadas são aquelas utilizadas para experimentação animal, como o camundongo (*Mus musculus*) e o rato (*Rattus norvegicus*), principalmente nas linhagens Wistar e Sprague-Dawley. A anatomia da mandíbula destes ratos é similar, variando apenas nas dimensões das estruturas.

A anatomia da mandíbula de ratos e camundongos foi descrita inicialmente de acordo com as diferenças morfológicas das estruturas anatômicas, de forma comparativa com a mandíbula humana (Greene, 1936). Chiasson (1968) descreve que a mandíbula do rato é um osso par, articulado na linha mediana por uma articular do tipo sínfise, possuindo os alvéolos dos dentes inferiores em um corpo pequeno e um ramo largo possuindo os processos coronoide, angular e condilar.

Já no estudo de Atcheley e Hall (1991), as partes da mandíbula de ratos e camundongos foram novamente subdivididas, do ponto de vista funcional, em seis unidades morfogeneticamente independentes: alveolares incisal e molar, ramo horizontal, processo angular, processo coronoide e processo condilar. Estes autores ainda consideram uma sétima unidade funcional, a sínfise da mandíbula.

Mais recentemente, as unidades funcionais da mandíbula destes roedores foram estabelecidas conforme novas informações referentes à caracterização da atividade muscular mastigatória. Desta forma, Klingenberg et al., (2003) dividiu a mandíbula de camundongos em duas grandes unidades funcionais: a região alveolar e o ramo da mandíbula. A partir destas regiões e suas subdivisões, estes autores determinaram 15 marcos anatômicos para avaliação geométrica-morfométrica (Figura 1) com o objetivo de quantificar de forma precisa a forma da mandíbula. Com estes dados os autores também contribuíram para determinar uma avaliação precisa de simetria/assimetria da mandíbula.

Com a evolução das técnicas de aquisição de imagem e o surgimento da microtomografia computadorizada, novos estudos aplicados à caracterização dos músculos da mastigação de ratos e camundongos abordaram métodos de contraste aplicados à estrutura muscular. A partir descrição funcional das estruturas ósseas mandibulares nos estudos prévios, o estudo de Baverstock et al. (2013) caracterizou estruturas específicas como:

- Superfícies articular: na cabeça da mandíbula
- Crista massetérica: região de inserção da parte superficial do músculo masseter na superfície lateral do corpo da mandíbula
- Crista alveolar: crista localizada na região posterior do terceiro molar, na superfície medial da mandíbula. Esta crista se estende até a incisura da mandíbula.

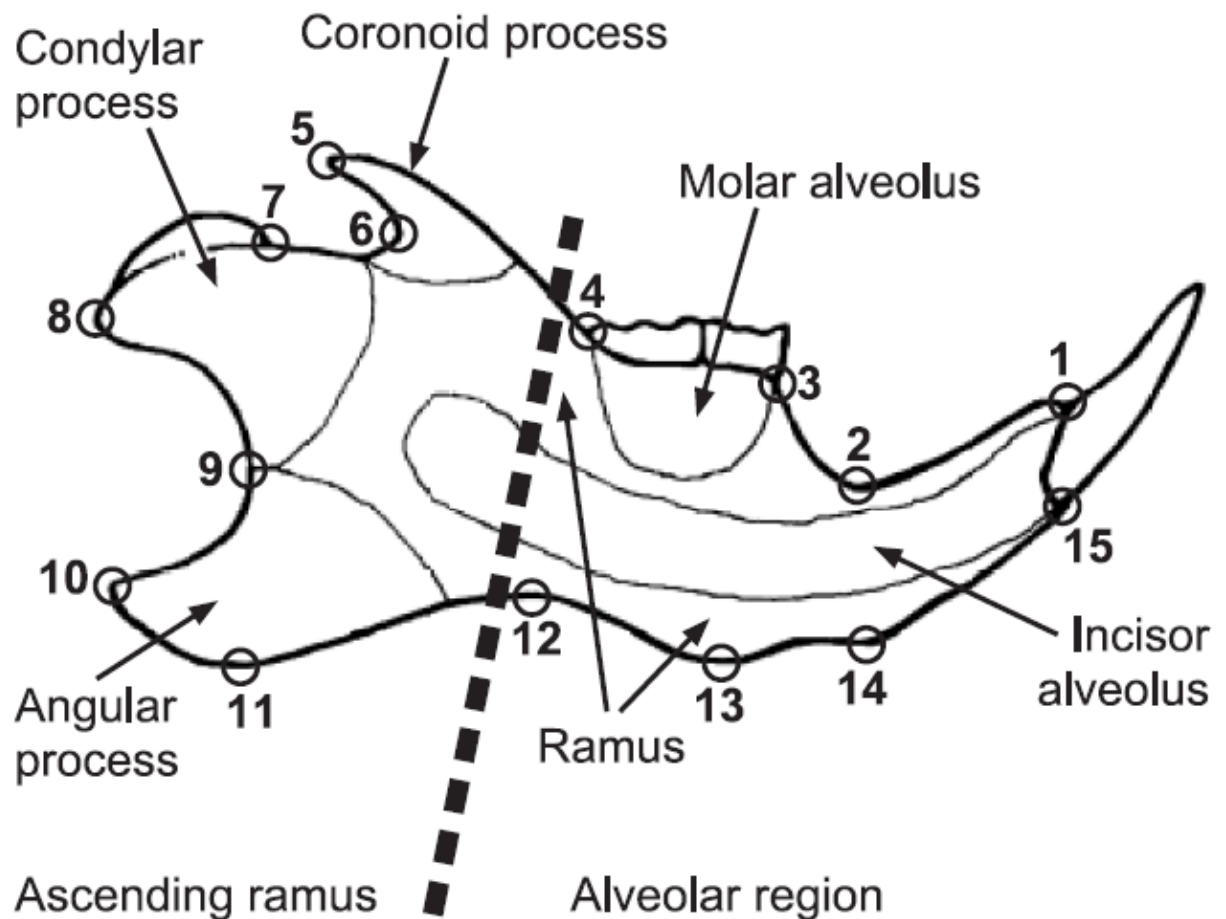


Figura 1 - Caracterização das regiões e de marcos anatômicos na mandíbula de camundongo.

Fonte: Klingenberg et al., (2003)

3 PROPOSIÇÃO

Objetivo geral: caracterizar a morfologia da mandíbula do rato Wistar adulto.

Objetivo específico: caracterizar a morfologia da mandíbula do rato Wistar adulto, por meio da análise de micro-CT.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Considerações Éticas

Este projeto de pesquisa utilizou imagens de microtomografia computadorizada obtidas de animais utilizados em outro projeto previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNICAMP, sob o número de protocolo 4401-1. Pela não manipulação direta dos animais, foi emitido um certificado com a inclusão da aluna como executora, assim como o título desta presente pesquisa no protocolo original (anexo 2).

4.2 Amostra

Foram utilizados 7 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*), linhagem Wistar, com 4 meses de idade (± 400 g), provenientes do CEMIB-UNICAMP. Foram mantidos em gaiolas coletivas (quatro animais/caixa), com temperatura em $22 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo de luz controlado (12/12 h) e acesso livre à água e ração.

Não houve experimentos nos ratos. Nesta pesquisa, os ratos permaneceram com a mastigação normal e sem interferências sistêmicas ou locais.

Ao atingirem a idade e peso propostos anteriormente, os ratos foram mortos. A cabeça foi desarticulada do corpo e dissecada para retirada em bloco e fixada em solução de formol a 10% e tampão fosfato 0,1M (pH 7,4), durante 24h a 4°C .

4.3 Escaneamento e processamento das imagens

As peças foram submetidas à microtomografia computadorizada em um microtomógrafo Skyscan 1174 (Bruker) com voltagem de 50 kV, amperagem de 800 microA. O microtomógrafo pertence ao Centro de microscopia e Imagens da FOP- UNICAMP. Foi realizado um escaneamento de cada cabeça com o tamanho dos pixels igual a $17,6 \mu\text{m}$ (Figura 2).

Após o escaneamento, estas imagens foram exportadas para o software NRecon Reconstruction (SkyScan, Leuven, Bélgica), no qual foram reconstruídas tridimensionalmente em cortes axiais apresentando os coeficientes de atenuação de raios-x com valores relativos à estrutura óssea. Para obtenção dos valores corretos dos coeficientes de atenuação foi realizada a calibração baseada nos valores referentes ao meio aquoso (solução de formol a 10% e tampão fosfato 0,1M (pH 7,4) (Jiao et al., 2010), o qual foi escaneado.

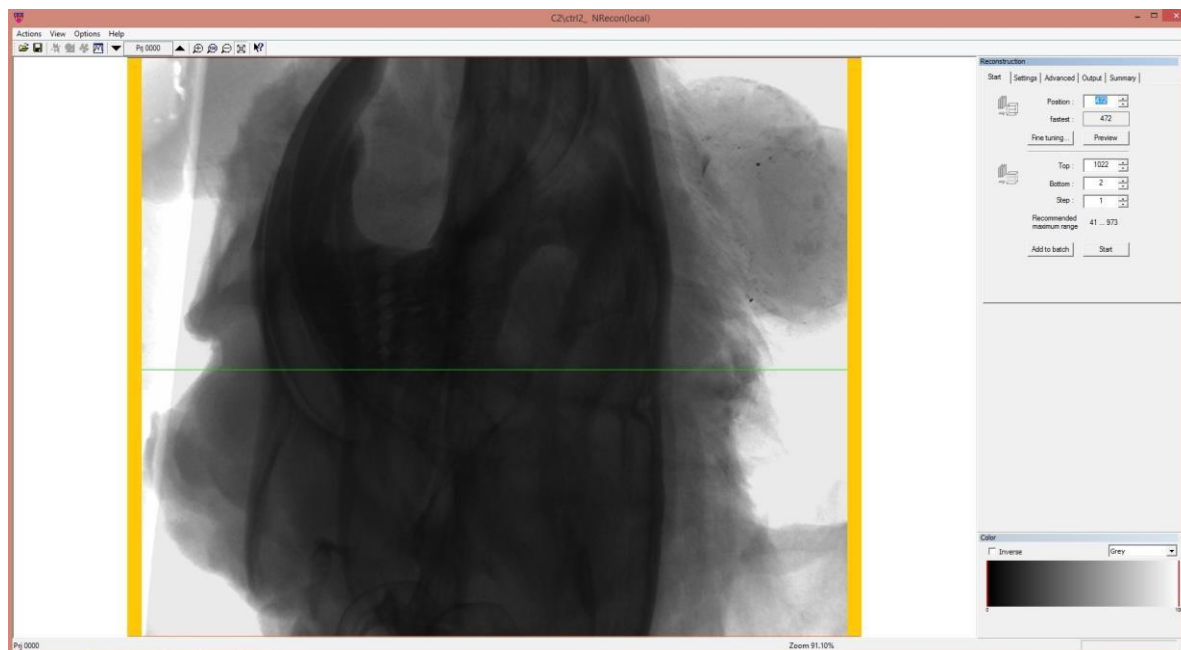


Figura 2 - Exemplo de escaneamento da cabeça do rato pelo microtomógrafo.

4.4 Análises morfométricas tridimensionais

Após a reconstrução tridimensional da mandíbula de cada rato, a morfometria na mandíbula foi realizada no software Mimics v. 18 (Materialise, Bélgica).

A morfometria foi realizada no lado direito de cada mandíbula. A avaliação foi realizada de acordo com os parâmetros estruturais estabelecidos por Mavropoulos et al. (2004), a saber:

- a) altura do processo condilar;
- b) forame mental – processo condilar;
- c) forame mental – processo angular;
- d) largura da base do processo condilar;
- e) altura do processo coronoide.

A figura 3 mostra um exemplo de como foram realizadas as medidas (em mm) no software Mimics v. 18 (Materialise, Bélgica).

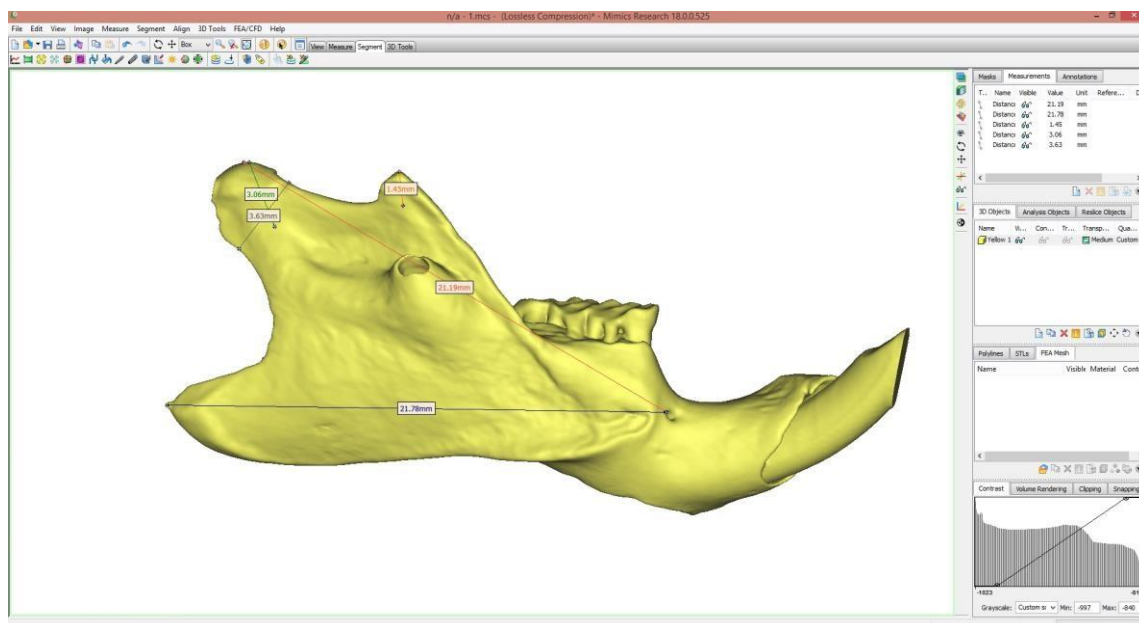


Figura 3 - Medidas (em mm) executadas no software Mimics v. 18 (Materialise, Bélgica).

4.5 Análise dos resultados

Os dados das medidas obtidas, foram submetidos à uma análise estatística descritiva. Foram obtidas as médias e desvio padrão. Foi utilizado o software R CRAN (open source) para a análise estatística.

5 RESULTADOS

A tabela 1 e o gráfico 1 mostram as médias e desvio padrão para todas as medidas realizadas na mandíbula.

Tabela 1 - Médias e desvio padrão obtidos nas mensurações realizadas na mandíbula do rato Wistar. Valores em milímetros (mm).

	Média	Desvio Padrão
Alt Proc Cond	2.61	0.260
Alt Proc Cor	2.42	0.583
Larg Base Proc Cond	3.49	0.151
Dist For Ment - Proc Cond	21.45	0.338
Dist For Ment - Proc Ang	21.65	0.170

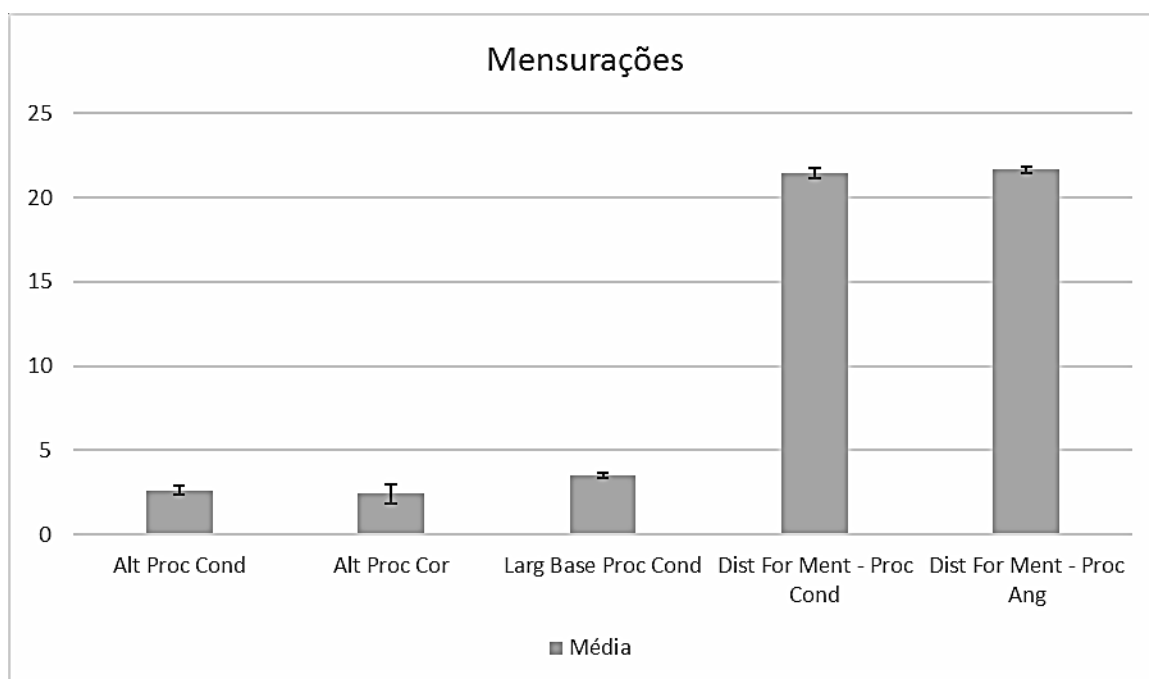


Gráfico 1 - Médias obtidas nas mensurações realizadas na mandíbula do rato Wistar. Valores em milímetros (mm).

5 DISCUSSÃO

O rato da linhagem Wistar é um dos principais animais utilizados em modelos experimentais em estudos envolvendo diversas áreas da biologia (Greene, 1936). Na Odontologia, esta linhagem tem sido utilizada para estudos com o objetivo de compreender o funcionamento da mastigação, e os processos biológicos envolvendo os tecidos mineralizados (Mavropoulos et al., 2004, 2005). Neste sentido, justifica-se o objetivo do presente estudo para entender a morfologia da mandíbula do rato Wistar, para assim contribuirmos com a experimentação neste modelo animal.

A mandíbula é um osso que aloja a dentição, sendo submetida a fortes deformações durante a mastigação (Weijs, 1975). A descrição da morfologia mandíbula de espécies de roedores pode ajudar a entender a carga mecânica que este osso recebe por meio das forças mastigatórias (Mavropoulos et al., 2010). No presente estudo, realizamos as mensurações utilizando marcos anatômicos que foram relacionados com alterações por remodelação óssea frente à carga mecânica proveniente da mastigação (Mavropoulos et al., 2004). As mensurações utilizando marcos anatômicos específicos também foram utilizadas para determinação da simetria entre as mandíbulas de ratos e camundongos (Klingenberg et al., 2003). Assim, os cálculos destes marcos são fundamentais para entender a arquitetura óssea destas regiões relacionadas ao desenvolvimento e a função mastigatória.

Este presente estudo foi realizado para caracterizar morfometricamente as regiões que estão sujeitas a alterações, influenciadas pelo desenvolvimento ou por alterações funcionais. De fato, o estudo de Mavropoulos et al., 2004 demonstrou que a alteração oclusal dos incisivos e a dieta interferiu na morfometria destes marcos anatômicos.

As distâncias entre o forame mental e os processos angular e condilar, associadas à dimensão do ramo da mandíbula mostra a dominância das dimensões do ramo em relação ao corpo da mandíbula. Estes dados podem ser relacionados com a significativa morfologia, assim como a atividade, do músculo masseter durante a função mastigatória (Weijs & Dantuma, 1975; Baverstock et al., 2013)

Os estudos básicos de morfologia de elementos do esqueleto em roedores resultarão em benefícios e contribuições para futuras pesquisas. A mandíbula pode ser considerada a estrutura óssea base para entender alterações na articulação temporomandibular, dentes e músculos da mastigação (Mavropoulos et al., 2010).

6 CONCLUSÃO

As dimensões do processo coronoide e do processo condilar foram similares e mostra menor significância da ação muscular nestas regiões. As distancias forame mental – processo coronoide e forame mental – processo angular também apresentaram valores aproximados. Estas distâncias mostram também a dominância do ramo da mandíbula em relação ao corpo. Os resultados deste estudo permitiram compreender as dimensões de estruturas importantes para futuros estudos envolvendo a biomecânica mandibular em ratos Wistar.

REFERÊNCIAS*

Atchley WR, Hall BK. A model for development and evolution of complex morphological structures. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 1991 May;66(2):101-57.

Avis V. The significance of the angle of the mandible: an experimental and comparative study. *Am J Phys Anthropol*. 1961 Mar;19(1):55-61.

Baverstock H, Jeffery NS, Cobb SN. The morphology of the mouse masticatory musculature. *J Anat*. 2013 Jul;223(1):46-60. doi: 10.1111/joa.12059.

Chiasson RB. Laboratory anatomy of the white rat. 2. ed. Dubuque, Iowa: WM C. Brown Company Publishers; 1969.

Greene EC. Anatomy of the rat. *Am J Med Sci*. 1936; 191, 858.

Jiao K, Dai J, Wang MQ, Niu LN, Yu SB, Liu XD. Age- and sex-related changes of mandibular condylar cartilage and subchondral bone: a histomorphometric and micro-CT study in rats. *Arch Oral Biol*. 2010 Feb;55(2):155-63. doi: 10.1016/j.archoralbio.2009.11.012.

Klingenberg CP, Mebus K, Auffray JC. Developmental integration in a complex morphological structure: how distinct are the modules in the mouse mandible? *Evol Dev*. 2003 Sep-Oct;5(5):522-31.

Majumdar S, Bay BK. Noninvasive assessment of trabecular bone architecture and the competence of bone. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2000.

Mavropoulos A, Ammann P, Bresin A, Kiliaridis S. Masticatory demands induce region-specific changes in mandibular bone density in growing rats. *Angle Orthod*. 2005 Jul;75(4):625-30.

Mavropoulos A, Bresin A, Kiliaridis S. Morphometric analysis of the mandible in growing rats with different masticatory functional demands: adaptation to an upper posterior bite block. *Eur J Oral Sci*. 2004 Jun;112(3):259-66.

Mavropoulos A, Odman A, Ammann P, Kiliaridis S. Rehabilitation of masticatory function improves the alveolar bone architecture of the mandible in adult rats. *Bone*. 2010 Sep;47(3):687-92. doi: 10.1016/j.bone.2010.06.025.

Mosley JR, Lanyon LE. Strain rate as a controlling influence on adaptive modeling in response to dynamic loading of the ulna in growing male rats. *Bone*. 1998 Oct;23(4):313-8.

Nies M, Ro JY. Bite force measurement in awake rats. *Brain Res Brain Res Protoc*. 2004 Feb;12(3):180-5.

* De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

Patel NG. Functional morphology of the masticatory muscles of *Mus musculus*. *Proc Indian Acad Sci.* 1978; 5:1–57.

Satoh K. Balancing function of the masticatory muscles during incisal biting in two murid rodents, *Apodemus speciosus* and *Clethrionomys rufocanus*. *J Morphol.* 1998 Apr;236(1):49-56.

Satoh K. Mechanical advantage of area of origin for the external pterygoid muscle in two murid rodents, *Apodemus speciosus* and *Clethrionomys rufocanus*. *J Morphol.* 1999 Apr;240(1):1-14.

Weijjs WA, Dantuma R. Electromyography and mechanics of mastication in the albino rat. *J Morphol.* 1975 May;146(1):1-33.

Weijjs WA. Mandibular movements of the albino rat during feeding. *J Morphol.* 1975 Jan;145(1):107-24.

Williams SH, Peiffer E, Ford S. Gape and bite force in the rodents *Onychomys leucogaster* and *Peromyscus maniculatus*: does jaw-muscle anatomy predict performance? *J Morphol.* 2009 Nov;270(11):1338-47. doi: 10.1002/jmor.10761.

Yoshikawa T, Suzuki T. The comparative anatomical study of the masseter of the mammal (3). *Anat Anz.* 1969;125(4):363-87.

ANEXOS

Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio

CARACTERIZAÇÃO DA MORFOLOGIA DA MANDÍBULA DO RATO WISTAR ADULTO

RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE

10%	8%	2%	8%
ÍNDICE DE SEMELHANÇA	FONTES DA INTERNET	PUBLICAÇÕES	DOCUMENTOS DOS ALUNOS

FONTES PRIMÁRIAS

1	Submitted to Universidade Estadual de Campinas	7%
	Documento do Aluno	
2	repositorio.unicamp.br	2%
	Fonte da Internet	

Excluir citações	Em	Excluir correspondências < 10 words
Excluir bibliografia	Em	

Anexo 2 – Aprovação do Comitê de Ética (inclusão do nome da executora e título do projeto de pesquisa)



Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA/Unicamp



CEUA/Unicamp

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **“ANÁLISES DE ELEMENTOS FINITOS E MORFOMETRIA 3D DO OSSO ALVEOLAR MANDIBULAR EM RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À HIPOFUNÇÃO OCLUSAL”**, (protocolo CEUA/UNICAMP nº **4401-1**), de responsabilidade da **Profa. Dra. Ana Cláudia Rossi**, teve o título alterado para **“Caracterização da morfologia da mandíbula do rato Wistar adulto”** e aprovada a inclusão dos novos executores: **Karina Satiko Ivasse** e **Mayara Samara Silva**.

Este documento é válido apenas se apresentado junto com o certificado emitido originalmente pela CEUA/UNICAMP em 15/12/2016.

Campinas, 23 de setembro de 2019.

Prof. Dr. Wagner José Fávaro
Presidente da CEUA/UNICAMP

Rosângela dos Santos
Secretária Executiva

Anexo 3 – Iniciação Científica

PIBIC - Área Aluno [quota: 2016]



Relatório Final

Período de envio do Relatório
Final: 01/08/2017 - 14/08/2017

Versão enviada em 11/08/2017

18:35:42  [ver relatório](#)

— Parecer do orientador emitido em
13/08/2017 00:27:57

— Parecer do Assessor dado em
01/12/2017 10:08:58

(O parecer a respeito de seu relatório está
disponível ao orientador responsável)

● **Aprovado**