

Avaliação da perda óssea utilizando diferentes parâmetros na análise microtomográfica. Estudo em ratos

Bone loss assessment using different parameters in the microtomographic analysis. Study in rats

Gabrielle Christine Bonetti SALLUM^a , Cassio SCARDUELI^b ,
Guilherme José Pimentel Lopes de OLIVEIRA^c , Rubens SPIN NETO^d ,
Rosemary Adriana Chierici MARCANTONIO^{a*}

^aUNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Araraquara, SP, Brasil

^bClínica Particular, Araraquara, SP, Brasil

^cUFU – Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Odontologia, Uberlândia, MG, Brasil

^dAarhus Universitet, Institut for Odontologi og Oral Sundhed, Aarhus, Midtjylland, Denmark

Como citar: Sallum GCB, Scardueli C, Oliveira GJPL, Spin Neto R, Marcantonio RAC. Avaliação da perda óssea utilizando diferentes parâmetros na análise microtomográfica. Estudo em ratos. Rev Odontol UNESP. 2022;51:e20220045. <https://doi.org/10.1590/1807-2577.04522>

Resumo

Introdução: o desafio no uso do Micro-Ct tem sido estabelecer e padronizar padrões adequados para escaneamento e tratamento das imagens, para que se obtenha o máximo desempenho do equipamento, e permitir a comparação dos achados entre diferentes estudos. **Objetivo:** o presente estudo tem como objetivo comparar a porcentagem de volume ósseo em regiões com perda óssea periodontal utilizando diferentes metodologias para definição da área a ser analisada (ROI). **Material e método:** dez ratos foram submetidos à indução de doença periodontal, e, após a eutanásia, as mandíbulas foram escaneadas com cortes de 9 µm e 18 µm de espessura, com passo de rotação de 0.3mm. As imagens foram reconstituídas utilizando o software NRecon, e em seguida, utilizando o software CTAnalyser – CTAn, foram definidas as áreas de interesse (ROI) ao redor dos segundos molares. A primeira área de interesse (ROI1) foi definida em um padrão retangular que se restringiu às regiões interproximais e furca, onde a área total de tecido ósseo foi obtida somando os resultados dos 3 ROIs. A segunda área (ROI2) foi definida no sentido corono/apical ao redor do segundo molar até suas limitações proximais com os dentes vizinhos, onde a porcentagem de tecido ósseo pertencente às raízes foram excluídas das avaliações. As análises foram realizadas com cinco diferentes valores de *thresholds* (130-50, 130-60, 130-70, 130-80, 130-90 e 130-100). **Resultado:** a análise entre os diferentes ROIs demonstrou que em ambas as análises foi observada a tendência a menor porcentagem de tecido ósseo quanto maior o contraste de tons de cinza utilizado, no entanto, nos resultados obtidos no ROI2 essa diferença não foi estatisticamente significativa. **Conclusão:** com os resultados obtidos pode se concluir que a utilização de diferentes *thresholds* para quantificação óssea, em áreas onde houve doença periodontal, pode trazer resultados divergentes; a definição da área de interesse interfere com os resultados obtidos e que a obtenção de uma área de interesse com a remoção das raízes mostrou-se menos susceptível à variação dos parâmetros de escaneamento.

Descritores: Microtomografia computadorizada; Micro-Ct; periodontite.

Abstract

Introduction: the challenge in the use of Micro-Ct has been to establish and standardize adequate standards for scanning and image processing to obtain the maximum performance of the equipment and to allow the comparison of findings between different studies. **Objective:** this study aims to compare the percentage of bone volume in regions with periodontal bone loss using different methodologies to define the area to be analysed (ROI). **Material and method:** ten rats were submitted to periodontal disease induction, and, after euthanasia, the mandibles were scanned with slices of 9µm and 18µm thickness, with a rotation step of 0.3mm. The images were reconstructed using the NRecon software, and then, using the CTAnalyser - CTAn software, the areas of interest (ROI) around the second



molars were defined. The first area of interest (ROI1) was defined in a rectangular pattern that was restricted to the interproximal and furcation regions, where the total area of bone tissue was obtained by adding the results of the 3 ROIs. The second area (ROI2) was defined in the coronal/apical direction around the second molar to its proximal limitations with the neighboring teeth, in which the percentage of bone tissue belonging to the roots was excluded from the evaluations. Analyses were performed with five different *threshold* values (130-50, 130-60, 130-70, 130-80, 130-90, and 130-100). **Result:** the analysis between the different ROIs showed that, in both analyses, there was a tendency towards a lower percentage of bone tissue the greater the grayscale contrast used. However, in the results obtained in ROI2, this difference was not statistically significant. **Conclusion:** with the results obtained, it can be concluded that the use of different *thresholds* for bone quantification, in areas where there was a periodontal disease, can bring divergent results; the definition of the area of interest interferes with the results obtained; and that obtaining an area of interest with the removal of the roots, proved to be less susceptible to the variation of the scanning parameters.

Descriptors: Computerized microtomography; Micro-Ct; periodontitis.

INTRODUÇÃO

A doença periodontal é a mais prevalente entre as doenças ósseas que atingem o ser humano, tendo sido observado que em média 10 a 15% dos adultos são acometidos por perda de um ou mais elementos dentais¹. A periodontite possui origem inflamatória crônica, sua severidade e progressão dependem não só dos danos causados pelos microrganismos presentes na cavidade oral, como também da resposta imune do hospedeiro a essa agressão. Nos estágios iniciais, a doença periodontal se manifesta clinicamente pela inflamação e perda de inserção do tecido gengival apresentando sangramento à sondagem, podendo evoluir para a reabsorção do osso alveolar e consequente perda do elemento dental².

O osso alveolar que circunda os dentes, formado por osso cortical e esponjoso, está constantemente sofrendo remodelação (reabsorção seguida de neoformação), seja durante a erupção dental, exigências funcionais mastigatórias, movimentações ortodônticas, entre outras situações. Por ser constantemente exposto a remodelação óssea, está mais propenso à reabsorção óssea ocasionada pela periodontite³. Desse modo, a compreensão dos mecanismos da remodelação óssea na doença periodontal é de grande importância para o entendimento dos fatores que podem vir a regular essa perda ou para avaliar a eficácia de tratamentos periodontais que visam tanto estabilizá-la como revertê-la⁴.

Dentre os métodos consagrados para análises de perda óssea alveolar estão a histomorfometria e o exame radiográfico. A análise histomorfométrica, que consiste da análise de cortes obtidos por processo histotécnico, é um dos métodos mais utilizados para a quantificação de osso trabecular. A distância da junção cimento-esmalte (JCE) à crista óssea alveolar (COA) é demarcada em imagens de cortes histológicos, capturadas por microscópio óptico e mensurada por softwares de análise de imagens. Embora seja um método confiável, a obtenção das lâminas a serem analisadas provém do corte das peças de estudo, inviabilizando seu uso para outros tipos de análise. Exames radiográficos também são muito utilizados para a avaliação da perda óssea alveolar decorrente da periodontite, por permitir a visualização das estruturas mineralizadas e assim a medição entre a junção cimento-esmalte e a crista óssea alveolar^{3,5,6}.

Sabe-se, porém, que tanto a análise histométrica quanto a radiográfica possuem deficiências, como a dificuldade de padronização da posição da amostra na qual será obtida a imagem a ser analisada e a limitação das medições a apenas duas dimensões (2D), medindo a perda óssea apenas no sentido horizontal (mésio-distal ou vestibulo-lingual), o que compromete a precisão dos dados, pois mascara perdas intraósseas, prejudicando a precisão das análises.

Tendo em vista a necessidade de métodos que proporcionem uma melhor visualização da estrutura óssea alveolar, resultando em dados mais precisos e sem a necessidade de destruição da amostra^{7,8}, a microtomografia computadorizada (Micro-Ct) vem sendo utilizada como alternativa para os estudos de observação da remodelação do osso alveolar, por possibilitar a visualização completa em alta resolução da amostra em 3D, permitindo uma melhor padronização dos métodos

de análise, sendo mais sensível para medição de massa óssea e microestrutura do osso alveolar do que os métodos já consolidados (histométrico e radiográfico)^{9,10}, sem contudo acarretar danos à amostra. Estudos mostram diferença de até 25% entre os resultados de quantificação do osso alveolar para análises realizadas por radiografias convencionais em comparação com análises realizadas em modelo 3D¹¹⁻¹³. O exame utilizando a microtomografia promove uma varredura em 3D de toda a amostra, obtendo um volume ósseo total ao redor do dente. Na avaliação histométrica, por exemplo, são escolhidos poucos cortes para representar todo o dente, sendo que estes podem não representar o que estava ocorrendo ao longo de todo o osso alveolar^{14,15}.

O uso da microtomografia computadorizada de alta resolução para análise tridimensional de estrutura óssea foi primeiramente descrito por Feldkamp et al.¹⁶, em 1989, e hoje é considerada padrão ouro. Entretanto, o método fornece a porcentagem de tecido mineralizado, sendo que a característica porosa do osso alveolar e sua proximidade com estruturas dentais dificultam a quantificação do volume ósseo. Assim, a delimitação da região de interesse (ROI) deve englobar a área a ser analisada, excluindo o máximo de estruturas que prejudiquem a leitura do programa, levando a resultados mais confiáveis¹⁷.

Devido ao uso crescente do Micro-Ct, hoje há no mercado diferentes marcas e modelos de microtomógrafos, o que resultou em diferentes softwares para escaneamento, reconstrução e aquisição das imagens, bem como para sua análise e interpretação dos resultados obtidos. Desse modo, o grande desafio no uso do Micro-Ct tem sido estabelecer os corretos padrões para escaneamento e tratamento das imagens, o que impossibilita que se obtenha o máximo desempenho do equipamento e dificulta a comparação dos achados entre diferentes estudos.

Baseado na escassa literatura sobre esse tema, o presente estudo se propõe a avaliar a interferência de diferentes áreas de interesse (ROIs) e *thresholds* (tons de cinza) na análise de tecido ósseo submetido a doença periodontal experimental.

O objetivo do presente estudo foi de comparar a porcentagem de volume ósseo em regiões com perda óssea causada pela doença periodontal, utilizando diferentes metodologias para definição da área a ser analisada, ou seja, da região de interesse (ROI) e diferentes parâmetros de análises (*thresholds* e espessura de escaneamento).

MATERIAL E MÉTODO

No presente estudo foram utilizados 10 ratos (*Rattus norvegicus*), variação *albinus*, Holtzman, adultos, pesando em média 300 g, provenientes do Biotério da Faculdade de Odontologia de Araraquara – Unesp, onde foram alimentados com ração sólida e com acesso a água *ad libitum*, antes e durante todo o período experimental, mantidos em ambiente com luz e temperatura controladas, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araraquara – Unesp. Processo **29/2014**.

Indução da Doença Periodontal

Os animais foram anestesiados por uma combinação de cloridrato de quetamina e cloridrato de xilazina nas seguintes proporções: 80 mg/kg e 7 mg/kg de massa corporal, respectivamente. Em seguida os animais foram colocados em uma mesa operatória para possibilitar a retração da boca e livre à região maxilar. Aleatoriamente, um dos segundos molares superiores (direito ou esquerdo) foi selecionado para inserção subgingival de ligaduras (fios de algodão, nº24), com o auxílio de duas pinças hemostáticas e sondas clínicas no tamanho infantil. Após um período de indução de 15 dias, as ligaduras foram removidas e os animais eutanasiados com sobredose anestésica. A hemimaxila de cada animal foi removida e submersa em paraformaldeído tamponado 4% durante 48 horas, lavadas em água corrente por 24 horas e armazenadas em álcool 70%.

Análise por Microtomografia Computadorizada (Micro-Ct)

A análise da quantidade de tecido ósseo foi realizada no microtomógrafo Skyscan 1176, Aatselaar, Bélgica, 2003 (Processo 2009/54080-0 Fapesp – Programa Equipamentos Multiusuários 3) no Laboratório de Microscopia *in vivo* da Faculdade de Odontologia de Araraquara – Unesp. As mandíbulas foram escaneadas com cortes de 9 μ m e 18 μ m de espessura, com passo de rotação de 0.3 mm. As imagens foram reconstituídas utilizando o software NRecon (SkyScan, 2011; Versão 1.6.6.0, e por meio do software Data Viewer (SkyScan, Versão 1.4.4 64-bit, estas foram orientadas e padronizadas de acordo em três planos (transversal, longitudinal e sagital).

Após a obtenção das imagens foram definidas as diferentes áreas de interesse:

ROI 1. áreas retangulares que abrangeram as regiões mesial, distal e furca dos segundos molares (Figura 1A).

ROI 2. área retangular que compreendeu a distância da raiz distal do primeiro molar a raiz mesial do terceiro molar. As áreas relativas às raízes dos segundos molares foram subtraídas na leitura deste ROI (Figura 1B).

Posteriormente, o software CTAn foi utilizado para análise e mensuração da área e volume ósseos das imagens a partir das escalas de cinza predefinidas (*thresholds*), para tanto foram utilizados os 6 valores de *thresholds* estabelecidos a partir da similaridade com tecido ósseo: 130-50, 130-60, 130-70, 130-80, 130-90, 130-100 (Figura 1C).

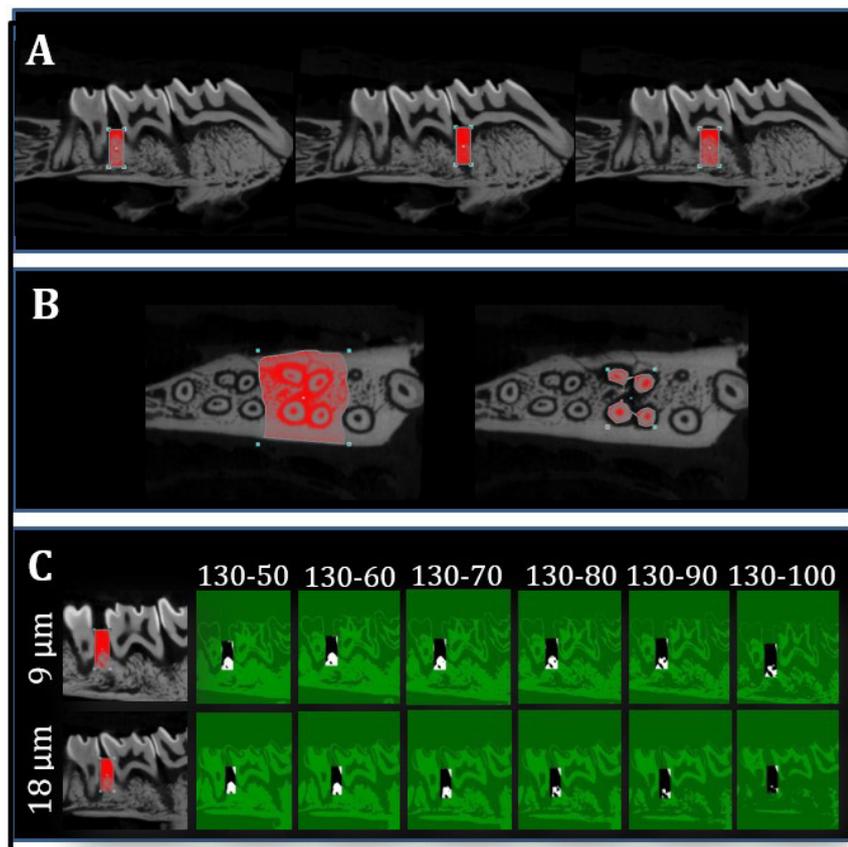


Figura 1. A primeira área de interesse (ROI1) foi definida em um padrão retangular, e se restringia à avaliação das regiões interproximais (mesial e distal) e furca (**Figura 1A**). A área de interesse do presente projeto (ROI2) foi definida no sentido corono/apical, ao redor dos dentes até suas limitações proximais com os dentes vizinhos, onde a leitura do ROI pertencente às raízes foi subtraída (**Figura 1B**). Diferentes escalas de cinza utilizadas para análise (**Figura 1C**).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados encontrados seguiram distribuição normal, e foram submetidos a análise estatística paramétrica com ANOVA, complementado por Tukey com nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Análise por ROI 1

Em uma análise comparativa entre os diferentes *thresholds* com cortes de 9µm, os *thresholds* de 130-50 e 130-60 apresentaram diferenças estatísticas quando foram comparados aos maiores valores de *thresholds* (130-80, 130-90 e 130-100), e o *threshold* de 130-70 se mostrou diferente estatisticamente somente quando foi comparado ao *threshold* de 130-100.

Já em uma análise comparativa entre os diferentes *thresholds* com cortes de 18 µm, o *threshold* de 130-50 apresentou diferenças estatísticas quando foi comparado aos maiores valores de *thresholds* (130-70, 130-80, 130-90 e 130-100). Já o *threshold* de 130-60 apresentou diferenças quando comparado aos *thresholds* de 130-80, 130-90 e 130-100. Distintivamente, o *threshold* de 130-70 mostrou-se diferente para os valores de 130-90, e 130-100, e por último, o *threshold* de 130-80 foi estatisticamente diferente quando comparado ao valor de 130-100. Em todas as comparações feitas, a porcentagem de volume ósseo só apresentou diferenças estatísticas entre os dois parâmetros de escaneamento (9µm e 18µm) para os *thresholds* de 130-90 e 130-100 (Figura 2).

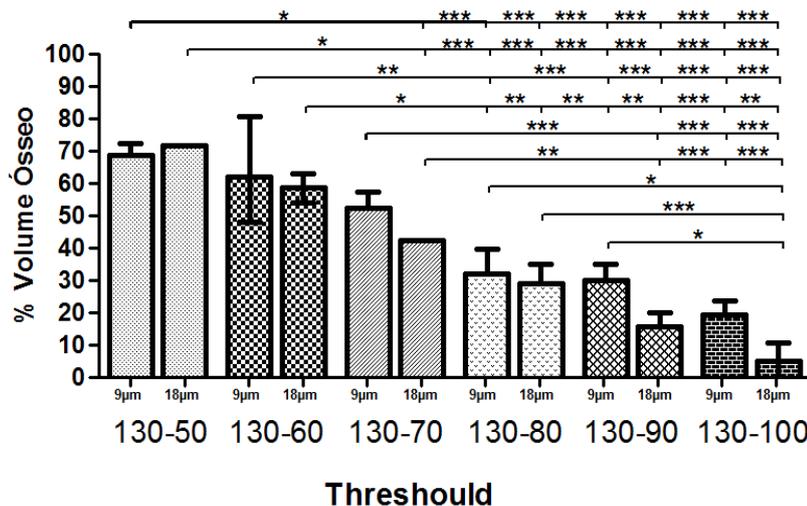


Figura 2. Comparação entre os resultados da porcentagem de volume ósseo encontrados para os diferentes parâmetros de escaneamento com a metodologia de ROIs. *** $p < 0,0001$ teste Tukey/** $p < 0,001$ teste Tukey/* $p < 0,01$ teste Tukey.

Análise por ROI 2

Comparação entre os resultados da porcentagem de volume ósseo encontrados para os diferentes parâmetros de escaneamento com a metodologia de remoção das raízes (Figura 3).

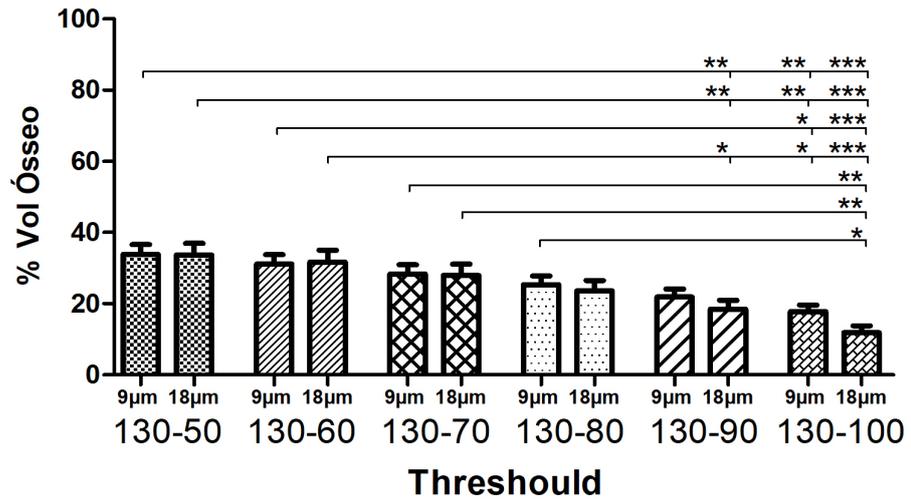


Figura 3. Comparação entre os resultados da porcentagem de volume ósseo encontrados para os diferentes parâmetros de escaneamento com a metodologia de remoção das raízes. *** $p < 0,0001$ teste Tukey/** $p < 0,001$ teste Tukey/* $p < 0,01$ teste Tukey.

Comparação Entre os Resultados Obtidos por ROI1 e ROI2

Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os resultados obtidos nas resoluções de 9 e 18 μm , ou entre os diferentes valores de *threshold* dentro de uma mesma resolução. Ao compararmos as porcentagens de volume ósseo obtidas pelos dois métodos para uma mesma amostra, o ROI1 apresentou valores significativamente maiores para os *thresholds* de 130-50 ($p < 0,0001$), 130-60 ($p < 0,0001$) e 130-70 ($p < 0,001$) na resolução de 9 μm (Figura 4), e em 18 μm (Figura 5) para os *thresholds* de 130-50 ($p < 0,0001$), 130-60 ($p < 0,001$), 130-70 ($p < 0,01$) e 130-100 ($p < 0,01$). Para ambas as análises foi observada a tendência a menor porcentagem de tecido ósseo quanto maior o contraste de tons de cinza utilizado, no entanto, nos resultados obtidos no ROI2, essa diferença não foi estatisticamente significativa (Figuras 4-5).

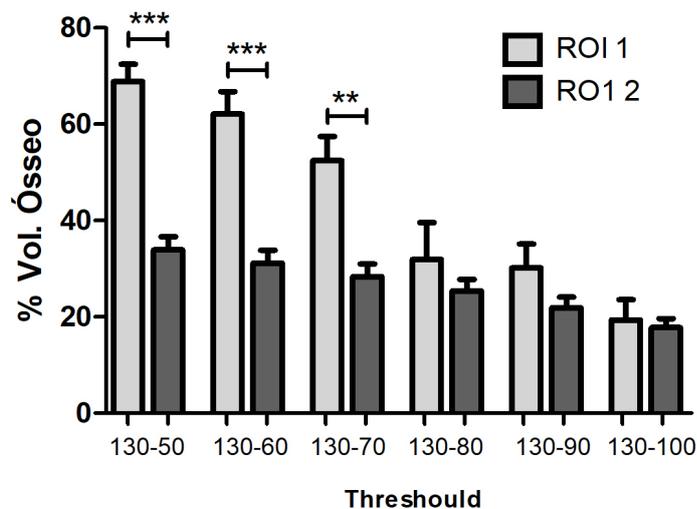


Figura 4. Comparação entre os resultados da porcentagem de volume ósseo entre as duas metodologias de análise, com escaneamento na resolução de 9 μm . *** $p < 0,0001$ teste Tukey/** $p < 0,001$ teste Tukey.

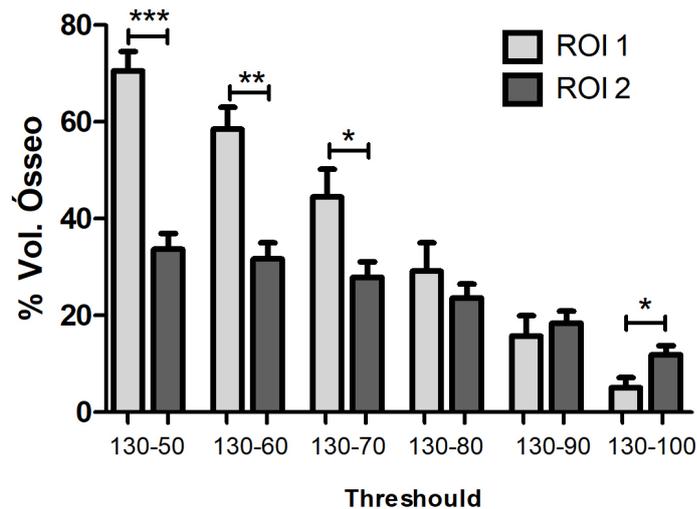


Figura 5. Comparação entre os resultados da porcentagem de volume ósseo e as duas metodologias de análises com escaneamento na resolução de 18 μm . *** $p < 0,0001$ teste Tukey/** $p < 0,001$ teste Tukey/* $p < 0,01$ teste Tukey.

DISCUSSÃO

Grande parte dos trabalhos desenvolvidos na área da Periodontia visa avaliar as variações de qualidade e quantidade de tecido ósseo de suporte, durante o desenvolvimento da doença periodontal. A mensuração da quantidade de tecido ósseo vem sendo realizada por meio de diferentes técnicas, análises histológicas, morfométricas e reações imuno-histoquímicas^{3,5,6}. No entanto, essas técnicas permitem apenas uma avaliação linear ou bidimensional (2D) das amostras, o que dificulta a padronização das imagens obtidas para análise, uma vez que a inclusão das peças de estudo em parafina pode variar o ângulo do qual será obtido o corte, e o longo processo de preparação das lâminas para análise pode gerar a presença de artefatos de técnica. Também são empregados procedimentos radiográficos, no entanto, como estes fornecem apenas imagens bidimensionais, há dificuldade para estabelecer um padrão radiográfico entre as imagens^{7,8}.

Para melhorar e complementar os resultados obtidos com os métodos convencionais, a microtomografia computadorizada (Micro-Ct) tem sido utilizada para avaliações dos tecidos duros. Trata-se de uma técnica não destrutiva que permite a reconstrução e avaliação de imagens em 3D, possibilitando maior reprodutibilidade e acurácia durante a avaliação de estruturas anisotrópicas como o tecido ósseo. Associada a isso, a análise de Micro-Ct permite obter informações sobre a geometria, porosidade, densidade mineral, área e volume dos ossos trabeculares e corticais^{9,10}. Cada vez mais, estudos in vivo utilizam imagens de alta resolução obtidas pela microtomografia computadorizada, para mensurar a perda óssea alveolar durante o processo de periodontite experimental em ratos¹⁸⁻²⁰. Entretanto, existem vários sistemas para Micro-Ct comercialmente disponíveis, cada um com diferentes abordagens para a aquisição de imagens, avaliação e relatórios de resultados. Essa falta de consistência torna difícil interpretar os resultados relatados e comparar os achados em diferentes estudos²¹. Sendo assim, o desafio no uso do Micro-Ct tem sido estabelecer e padronizar padrões adequados para escaneamento e tratamento das imagens, para que se obtenha o máximo desempenho do equipamento, e possibilitar a comparação dos achados entre diferentes estudos.

Quando diferentes valores de *thresholds* com 9 μm foram comparados, os intervalos de 130-50 e 130-60 apresentaram diferenças estatísticas comparados aos *thresholds* de 130-80, 130-90 e 130-100, e o *threshold* de 130-70 se mostrou diferente estatisticamente quando comparado ao *threshold* de 130-100. Semelhantemente quando as mesmas comparações foram feitas com 18

µm, resultados similares foram obtidos (130-50 apresentou diferenças quando comparado a 130-70,130-80, 130-90 e 130-100; 130-60 apresentou diferenças quando comparado a 130-80, 130-90 e 130-100; 130-70 apresentou diferenças quando comparado a 130-90 e 130-100; 130-80 apresentou diferenças quando comparado a 130-100). Esses resultados sugerem que valores mais extremos apresentam as maiores diferenças, possivelmente decorrentes de um falso positivo ou falso negativo (hiper ou subestimação) da quantidade óssea²². Os estudos realizados por Chang et al.²² e Gielkens et al.²³ sugerem que o Micro-Ct é um método que deve ser analisado cuidadosamente e preferencialmente associado a outras avaliações.

Podemos notar que em uma avaliação com 18 µm houve maiores diferenças quando comparado a 9 µm, sugerindo que cortes com espessura maior estão propensos a maiores variações estatísticas quando diferentes *thresholds* foram comparados. Isso pode também ser visto quando *thresholds* iguais são comparados com diferentes cortes, mostrando uma maior probabilidade de diferenças.

O intervalo do *threshold* representa uma escala de cinza que pode variar de 0-255, onde 0 representa uma densidade baixa e 255 uma densidade alta, distinguindo diferentes tecidos mineralizados. Então, quando utilizamos um intervalo com altos valores (ex. 130-80; 130-90; 130-100) podemos estar não contabilizando osso do tipo imaturo, e quando baixos valores são usados, quantidades a mais de tecido ósseo podem estar sendo adicionadas para a quantificação. Sendo assim, é de fundamental importância a obtenção de um *threshold* que mostre a real condição do tecido ósseo. Esta determinação do *threshold* pode se basear em uma predeterminação pelo próprio software (automático) ou manualmente, onde o operador determina visualmente qual melhor *threshold* pode ser aplicado.

Um dos poucos trabalhos desenvolvidos com o objetivo de avaliar a influência de um desses parâmetros foi realizado por Chang et al.²². Neste estudo in vivo, os autores avaliaram qual seria o método de definição de tons de cinza (*threshold*) mais confiável e compatível com a análise histomorfométrica durante a avaliação da perda óssea periodontal. Após análise dos resultados, os autores concluíram que diferentes *thresholds* podem influenciar a correta quantificação de tecido ósseo presente e que a maior correlação entre o Micro-Ct e a análise histométrica foi obtida por meio de um *threshold* definido pelos autores como “local algorithm”, mas que, no entanto, não seria um método acessível. Lima et al.²⁴ avaliaram a influência de diferentes *thresholds* em análises lineares e volumétricas de biópsias de osso nativo e área enxertada com osso bovino desproteínizado provenientes de seios maxilares em humanos. Nesse estudo foi demonstrado que diferentes *thresholds* influenciam nesses parâmetros e que a presença de enxerto de osso bovino desproteínizado reduziu a acurácia do Micro-Ct na identificação do volume dessa área independentemente do *threshold* aplicado.

Os resultados parciais obtidos no presente trabalho demonstram que as variações na resolução do escaneamento, bem como a variação de *thresholds*, levam a resultados discrepantes para uma mesma amostra. Mesmo diante de tantos estudos publicados utilizando análise por microtomografia, não existem na literatura trabalhos que descrevam quais os melhores e mais confiáveis padrões desenvolvidos para a técnica de Micro-Ct, desde o escaneamento até o uso dos softwares disponíveis para quantificar e analisar o tecido ósseo presente em determinada região, sendo assim mais estudos nessa área devem ser feitos com o intuito de melhorar a fidelidade dos resultados obtidos.

CONCLUSÃO

Dentro das limitações deste estudo, pôde-se concluir que: a utilização de diferentes *thresholds* para quantificação óssea, em áreas onde houve doença periodontal, pode trazer resultados divergentes; a definição da área de interesse interfere com os resultados obtidos; e a obtenção de uma área de interesse com a remoção das raízes mostrou-se menos susceptível à variação dos parâmetros de escaneamento.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq no Programa *PIBIC/CNPq* (n° 37309).

REFERÊNCIAS

1. Baker PJ. The role of immune responses in bone loss during periodontal disease. *Microbes Infect.* 2000 Aug;2(10):1181-92. [http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)01272-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579(00)01272-7). PMID:11008108.
2. Løe H, Anerud A, Boysen H. The natural history of periodontal disease in man: prevalence, severity, and extent of gingival recession. *J Periodontol.* 1992 Jun;63(6):489-95. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1992.63.6.489>. PMID:1625148.
3. Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Clinical periodontology and implant dentistry.* 4^a ed. Oxford: Blackwell Publishing Company; 2003.
4. Sodek J, McKee MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol* 2000. 2000 Oct;24(1):99-126. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2240106.x>. PMID:11276877.
5. Trisi P, Rebaudi A, Calvari F, Lazzara RJ. Sinus graft with biogran, autogenous bone, and PRP: a report of three cases with histology and Micro-Ct. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006 Apr;26(2):113-25. PMID:16642900.
6. Wilkie JR, Giger ML, Chinander MR, Vokes TJ, Li H, Dixon L, et al. Comparison of radiographic texture analysis from computed radiography and bone densitometry systems. *Med Phys.* 2004 Apr;31(4):882-91. <http://dx.doi.org/10.1118/1.1650529>. PMID:15125006.
7. Genant HK, Engelke K, Fuerst T, Glüer CC, Grampp S, Harris ST, et al. Noninvasive assessment of bone mineral and structure: state of the art. *J Bone Miner Res.* 1996 Jun;11(6):707-30. <http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.5650110602>. PMID:8725168.
8. Slyfield CR, Tkachenko EV, Wilson DL, Hernandez CJ. Three-dimensional dynamic bone histomorphometry. *J Bone Miner Res.* 2012 Feb;27(2):486-95. <http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.553>. PMID:22028195.
9. Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, Guldberg RE, Jepsen KJ, Müller R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Miner Res.* 2010 Jul;25(7):1468-86. <http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.141>. PMID:20533309.
10. Molon RS, Avila ED, Nogueira AVB, Souza JAC, Avila-Campos MJ, Andrade CR, et al. Evaluation of the host response in various models of induced periodontal disease in mice. *J Periodontol.* 2014 Mar;85(3):465-77. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2013.130225>. PMID:23805811.
11. Ebina H, Hatakeyama J, Onodera M, Honma T, Kamakura S, Shimauchi H, et al. Micro-Ct analysis of alveolar bone healing using a rat experimental model of critical-size defects. *Oral Dis.* 2009 May;15(4):273-80. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-0825.2009.01522.x>. PMID:19320960.
12. Fernandes MI, Gaio EJ, Oppermann RV, Rados PV, Rosing CK. Comparison of histometric and morphometric analyses of bone height in ligature-induced periodontitis in rats. *Braz Oral Res.* 2007 Jul-Sep;21(3):216-21. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-83242007000300005>. PMID:17710286.
13. Ferrare N, Leite AF, Caracas HC, Azevedo RB, Melo NS, Figueiredo PTS. Cone-beam computed tomography and microtomography for alveolar bone measurements. *Surg Radiol Anat.* 2013 Aug;35(6):495-502. <http://dx.doi.org/10.1007/s00276-013-1080-x>. PMID:23400642.
14. Chackartchi T, Iezzi G, Goldstein M, Klinger A, Soskolne A, Piattelli A, et al. Sinus floor augmentation using large (1-2 mm) or small (0.25-1 mm) bovine bone mineral particles: a prospective, intra-individual controlled clinical, micro-computerized tomography and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res.* 2011 May;22(5):473-80. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0501.2010.02032.x>. PMID:21087317.

15. Smet E, Jaecques SV, Wevers M, Jansen JA, Jacobs R, Sloten JV, et al. Effect of controlled early implant loading on bone healing and bone mass in guinea pigs, as assessed by Micro-Ct and histology. *Eur J Oral Sci.* 2006 Jun;114(3):232-42. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0722.2006.00355.x>. PMID:16776773.
16. Feldkamp LA, Goldstein SA, Parfitt AM, Jesion G, Kleerekoper M. The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. *J Bone Miner Res.* 1989 Feb;4(1):3-11. <http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.5650040103>. PMID:2718776.
17. Macedo PD, Tsurumaki JN, Rossa-Junior C, Marcantonio RAC. Quantificação de volume ósseo em microtomografia computadorizada: comparação entre diferentes áreas de interesse (ROI). *Proceedings of the 30th SBPqO Annual Meeting; 2013 set 5-8; Águas de Lindoia, BR. Campinas: SBPqO; 2013. p. 294.*
18. Coimbra LS, Rossa C Jr, Guimarães MR, Gerlach RF, Muscará MN, Spolidorio DM, et al. Influence of antiplatelet drugs in the pathogenesis of experimental periodontitis and periodontal repair in rats. *J Periodontol.* 2011 May;82(5):767-77. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2010.100555>. PMID:21073332.
19. Liu YF, Wu LA, Wang J, Wen LY, Wang XJ. Micro-computerized tomography analysis of alveolar bone loss in ligature- and nicotine-induced experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2010 Dec;45(6):714-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0765.2010.01290.x>. PMID:20572916.
20. Park CH, Abramson ZR, Taba M Jr, Jin Q, Chang J, Kreider JM, et al. Three-dimensional micro-computed tomographic imaging of alveolar bone in experimental bone loss or repair. *J Periodontol.* 2007 Feb;78(2):273-81. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2007.060252>. PMID:17274716.
21. Basillais A, Bensamoun S, Chappard C, Brunet-Imbault B, Lemineur G, Ilharreborde B, et al. Three-dimensional characterization of cortical bone microstructure by microcomputed tomography: validation with ultrasonic and microscopic measurements. *J Orthop Sci.* 2007 Mar;12(2):141-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s00776-006-1104-z>. PMID:17393269.
22. Chang PC, Liang K, Lim JC, Chung MC, Chien LY. A comparison of the thresholding strategies of Micro-Ct for periodontal bone loss: a pilot study. *Dentomaxillofac Radiol.* 2013;42(2):66925194. <http://dx.doi.org/10.1259/dmfr/66925194>. PMID:22842634.
23. Gielkens PF, Schortinghuis J, Jong JR, Huysmans MC, Leeuwen MB, Raghoobar GM, et al. A comparison of Micro-Ct, microradiography and histomorphometry in bone research. *Arch Oral Biol.* 2008 Jun;53(6):558-66. <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2007.11.011>. PMID:18190892.
24. Lima JR, Bernardino SS, Pereira LSG, Pignatton TB, Spin-Neto R, Marcantonio-Junior E, et al. Effect of different thresholds on the accuracy of linear and volumetric analysis of native- and grafted-bone. *Braz Dent J.* 2022 Jul-Aug;33(4):40-6. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440202204823>. PMID:36043567.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

*AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Rosemary Adriana Chierici Marcantonio, UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Rua Humaitá, 1680, 14801-930 Araraquara - SP, Brasil, e-mail: adriana.marcantonio@unesp.br

Recebido: Novembro 16, 2022

Aprovado: Novembro 17, 2022