

# Protocolo detalhado de exodontia de molar inferior em ratos Wistar

*A detailed surgical procedure of mandibular molar extraction in Wistar rats*

- <sup>1</sup> Maíra Tavares  
- <sup>2</sup> Fabricio Passador Santos  
- <sup>3</sup> Rodrigo Freitas  

- 1 Centro Universitário de Volta Redonda, UniFOA  
2 Faculdade São Leopoldo Mandic  
3 Centro Universitário de Volta Redonda, UniFOA

## Resumo

Diversos procedimentos cirúrgicos têm sido utilizados para realizar extrações dentárias em ratos Wistar, para fins científicos. A grande maioria desses protocolos cirúrgicos não fornece um protocolo detalhado, passo a passo, tornando sua reprodução científica desafiadora, o que pode levar ao sofrimento e morte desnecessária dos animais. O objetivo deste estudo foi descrever um protocolo detalhado de procedimentos cirúrgicos para a extração do primeiro molar mandibular em ratos Wistar. As extrações dentárias foram realizadas sob anestesia geral em 52 ratos. Os animais foram imobilizados em um dispositivo construído pelos pesquisadores e as extrações dentárias foram realizadas, utilizando instrumentos dentários adaptados. Sete animais (13%) morreram durante o procedimento cirúrgico. Quarenta e cinco animais sobreviveram e foram acompanhados por 45 dias. Esses animais apresentaram aumento de peso durante o período de acompanhamento, mostrando que o procedimento cirúrgico foi bem tolerado por eles. Portanto, tal procedimento de extração do molar mandibular em ratos Wistar utilizado no estudo foi eficaz, bem tolerado pelos animais e pode ser utilizado para fins científicos.

## Palavras-chave:

Cirurgia bucal, ratos wistar, pesquisa, protocolos de pesquisa.

## Abstract

Different surgical procedures have been used to perform dental extractions in Wistar rats for scientific purposes. The vast majority of such surgical protocols do not provide a detailed, step-by-step protocol making its scientific reproduction challenging which may lead to unnecessary animal suffering and death. The aim of this study was to describe a detailed surgical procedures protocol for mandibular first molar extraction in Wistar rats. Dental extractions were performed under general anesthesia in 52 rats. The animals were immobilized in a device constructed by the researchers and dental extractions were performed using adapted dental instruments. Seven animals (13%) died during the surgical procedure. Forty-five animals survived and were followed up for 45 days. These animals presented increase in weight during the follow up period showing that the surgical procedure was well tolerated by them. Therefore, the surgical procedure of mandibular molar extraction in Wistar rats used in the study was effective, well tolerated by the animals and may be used for scientific purposes.

## Keywords:

Oral surgery, Wistar rats, Research, Guidelines as topic.

## 1 INTRODUÇÃO

A realização de exodontias em ratos vem sendo empregada com maior frequência em pesquisas na área da saúde, especialmente na Odontologia (Silva; Danese; Ferrazo, 2021).

Diferentes protocolos são utilizados para desenvolvimento de lesões, avaliações pré, trans e pós-operatórias da cicatrização alveolar, impacto das medicações na reparação tecidual e diferentes formas de reabilitação (Xu *et al.*, 2020; Koth *et al.*, 2020; Lima *et al.*, 2020).

Por ser considerada imoral e ilegal qualquer intervenção experimental em animais realizada sem justificativa legítima, na década de 1990, foram instituídas as primeiras comissões de ética no uso de animais (CEUA) e, em 2008, sancionada a Lei Federal 11.794, que no capítulo II, artigo 4º, criando o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concrea), com o objetivo de refinamento da pesquisa através de métodos inovadores, menos invasivos e mais eficazes, que evitem dor e sofrimento desnecessários aos animais. (Brasil, 2023).

A Lei Federal 11.794 que, em seu capítulo II, artigo 4º, criou o Concea, representa uma mudança de paradigma no que tange o uso de animais vertebrados para ensino e pesquisa no Brasil. Como Lei Federal, gerou condições para que se estabelecesse uma política nacional para o uso de animais no ensino e na pesquisa.

Apesar de aprovada, por ter como objetivo final pesquisas experimentais com resultados comparativos e pelo número limitado de páginas para publicação, grande parte dos trabalhos científicos não traz consigo uma explanação detalhada da metodologia de exodontias em ratos, dificultando sua reprodução sem sofrimento nos animais.

O objetivo desta pesquisa é descrever um protocolo detalhado de exodontia de primeiro molar inferior em ratos Wistar.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Animais (CEUA) do Centro Universitário de Volta Redonda – UniFOA, sob parecer 014/18. Foi realizada baseada no *guideline* para cuidados e uso de animais em laboratórios do Instituto Nacional de Saúde (NIH), assim como o da Sociedade Brasileira de Ciência de Animais Laboratoriais (COBEA).

Trata-se de um protocolo de exodontia utilizado em uma pesquisa experimental nomeada *Tratamento da Isquemia Óssea dos Maxilares Induzida pelo Uso de Bifosfonatos em Ratos com Luz de LED*, realizada entre fevereiro de 2019 e 2020.

Foram utilizados 52 ratos Wistar (*Rattus norvegicus, albinus*) machos com média de idade de 8 semanas de idade, pesando entre 250-400g, do biotério do Centro Universitário de Volta Redonda – UniFOA, Volta Redonda, Brasil.

Os animais ficaram durante 7 dias em adaptação (D1-D7), alojados em caixas plásticas revestidas com cama de madeira natural autoclavada (3 a 4 ratos em cada caixa, separados aleatoriamente), em um ambiente climatizado, com 12 horas de iluminação diária em ciclo claro/escuro, a uma temperatura de 21 a 30° C. Foram alimentados com ração-padrão do biotério e com acesso ilimitado à água potável filtrada. As gaiolas eram limpas por um funcionário do biotério e suas águas eram trocadas 2 vezes por

semana, durante toda a pesquisa. Os animais foram pesados 1 vez por semana para controle, desde o primeiro dia de experimento.

As exodontias dos primeiros molares inferiores esquerdos dos ratos foram realizadas pelos próprios pesquisadores, sob o protocolo previamente publicado (Weber *et al.*, 2017), com adaptações:

- Pesagem do animal para cálculo das doses;
- Anestesia geral com sedação, administrando-se, de forma intraperitoneal, uma mistura de 20 mg/mL de Cloridrato de Xilazina (0,05mL x 100g de peso) (Anasedan Ceva Saúde Animal Ltda, Paulínia, São Paulo, Brasil), com 100 mg / mL de Cloridrato de Cetamina (0,1 mL / 100 g peso; Dopalen, Ceva Saúde Animal Ltda, Paulínia, SP, Brasil);
- Da imobilização dos ratos: foi utilizado um dispositivo fabricado pelos próprios pesquisadores. O dispositivo é uma cama de madeira que apresentava um furo arredondado com um clipe para encaixe da cabeça dos animais e ganchos para abertura da boca com o auxílio de borrachas elásticas (Figuras 1 e 2);

**Figura 1 - Cama de madeira adaptada produzida pelos pesquisadores para abertura de boca dos animais**



Fonte própria

**Figura 2 - Iluminação da cama de madeira**



Fonte própria

- Dos instrumentais: foram utilizadas carpule, micro cinzel de Ochsenbein, pinça hemostática curva, 2 espátulas de manipulação nº 24, elásticos intermaxilares ortodônticos 3/16 médio e 1/8 pesado e elástico de látex amarelo (Figura 3);

Figura 3 - Instrumentais utilizados na exodontia



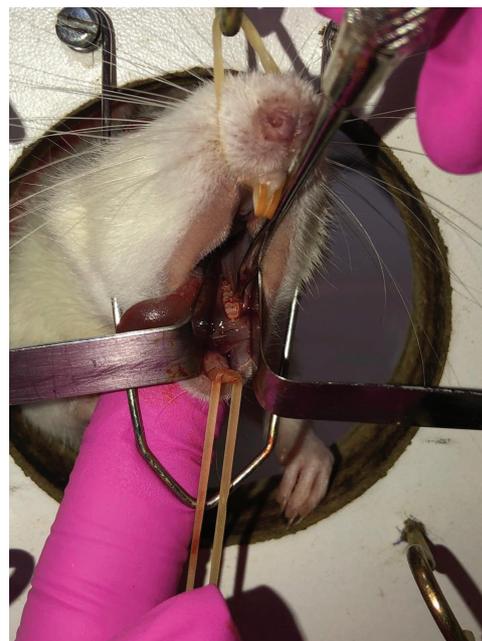
Fonte própria

- Do procedimento cirúrgico: foi realizada anestesia local infiltrativa no tecido gengival ao redor do dente com cloridrato de lidocaína com epinefrina (Alphacaine 100, DFL, Rio de Janeiro, Brasil), para controle do sangramento. As espátulas foram dobradas na ponta para afastamento e proteção de mucosa jugal e língua dos animais. Após a separação do tecido gengival circundante, o dente foi luxado com um micro cinzel de Ochsenbein e extraídos com uma pinça hemostática curvada (Figuras 4 e 5). Não foi realizada a sutura do tecido.

Figura 4 - Imobilização do animais com boca aberta    Figura 5 - Descolamento gengival e luxação do dente



Fonte própria



Fonte própria

Sete animais foram a óbito durante o procedimento de exodontia, apesar de ter sido utilizado o mesmo protocolo. A avaliação do óbito foi realizada pela médica veterinária responsável, através do controle de reflexo pupilar e sinais vitais dos animais.

No pós-operatório, a analgesia foi realizada por 3 dias consecutivos, utilizando-se gotas de acetaminofeno (200 mg / mL) adicionadas à água de beber do animal (5 mg / mL de água; Tylenol, Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda., São José dos Campos, São Paulo, Brasil). Além disso, a ração foi misturada com água durante os primeiros 3 dias para facilitar a alimentação.

Os 45 ratos foram acompanhados, sendo pesados semanalmente por 8 semanas, sem perda de peso.

### 3 DISCUSSÃO

O controle do uso de animais em pesquisa tem como objetivo principal a conscientização da sociedade sobre o bem-estar do animal. Com isso, foram criadas leis e setores no governo federal para fiscalização e, especialmente, diminuição do sofrimento animal (Negrão; Mendes; Laurentino, 2024).

Diferentes protocolos de exodontias em ratos são publicados diariamente, objetivando análises experimentais variadas, tais como no desenvolvimento de lesões orais, como a osteonecrose dos maxilares induzida por medicamentos e seu tratamento (Rodrigues *et al.*, 2020), avaliações pós-operatórias de cicatrização alveolar em disfunções hormonais (Xu *et al.*, 2020), uso de reabsortivos ou impacto das medicações pós-operatórias na reparação tecidual (Lima *et al.*, 2020).

Em um trabalho desenvolvido por Yamasaki *et al.* (2021) que objetivou, dentre outros fatores, desenvolver um novo protocolo de indução de osteorradionecrose mandibular em ratos, foi realizada exodontia dos três molares inferiores do lado direito, lado oposto do presente trabalho, entretanto com indução anestésica geral com Xilazina e Cetamina nas mesmas proporções. De acordo com Dobbler *et al.* (2019), essa técnica anestésica é indicada para pequenas cirurgias, pois apresenta uma baixa ação analgésica, levando ao óbito do animal por hipotensão severa durante o procedimento.

Além de reduzir a perda de animais durante uma pesquisa, a combinação de uma boa técnica anestésica associada à analgesia pós-operatória protege o animal da dor e estresse, fatores primordiais do ponto de vista ético para um trabalho utilizando seres vivos não humanos (Neto; Lorenzo; Sanchez, 2017).

A escolha do dente a ser removido depende do objetivo da pesquisa. Incisivos superiores de ratos e camundongos podem ser utilizados em trabalhos desde a descoberta de diferenciações celulares a partir de célula tronco (Walker *et al.*, 2019), como em análise da reparação tecidual após exodontia (Ferreira *et al.*, 2020). Devido à anatomia, observamos, na literatura, uma maior escolha das exodontias de molares, sejam superiores ou inferiores, conforme utilizado no presente estudo (Weber *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2020; Koth *et al.*, 2020; Lima *et al.*, 2020; Rodrigues *et al.*, 2020; Yamasaki *et al.*, 2021).

A adaptação de instrumentais utilizados em seres humanos, como na presente pesquisa, também pode ser observada em outros trabalhos. Perin, Westphalen e Papalexou em 2012 criaram patentes de adaptação desses instrumentais para utilização em ratos com o objetivo de facilitar a exodontia de incisivo superior.

#### **4 CONCLUSÃO**

Concluimos, com o presente estudo que, devido ao baixo número de óbitos transoperatórios e à boa adaptação após o procedimento realizado, a técnica de exodontia em primeiros molares inferiores nos ratos foi eficaz.

Há necessidade de explanação mais detalhada das técnicas cirúrgicas nos artigos científicos, para que ocorra menor sofrimento dos animais e reprodução da técnica para aprimorar os protocolos dos trabalhos.

#### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao Centro Universitário de Volta Redonda, pela contribuição financeira e assistência técnica no desenvolvimento do trabalho.

## REFERÊNCIAS

- Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF, 2023.
- Dobbler, G. H.; Ferreira, M. G.; Bedendo, G. H. M.; Cruz, F. S. F. Considerações na anestesia de ratos de laboratório. **Revista Contexto & Saúde**, v. 19, n. 36, 2019. <http://dx.doi.org/10.21527/2176-7114.2019.36.100-106>.
- Ferreira, B. C.; Freire, A. R.; Araujo, R.; Amaral-Silva, G. K.; Okamoto, R.; Prado, F. B.; Rossi, A. C.  $\beta$ -catenin and Its Relation to Alveolar Bone Mechanical Deformation – A Study Conducted in Rats With Tooth Extraction. **Front. Physiol.**, v. 11, p. 549, 2020. doi: 10.3389/fphys.2020.00549.
- Koth, V. S.; Salum, F. G.; Figueiredo, M. A. S.; Cherubini, K. Morphological and immunohistochemical features of tooth extraction sites in rats treated with alendronate, raloxifene, or strontium ranelate. **Clinical Oral Investigations**, v. 25, p. 2705-2716, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03585-x>.
- Lima, T. S.; Ribeiro, A. O. P.; Santos, V. B. P.; Neto, O. C. C.; Marques, D. O.; Queiroz, T. P.; Visconti, M. A.; Esteves, J. C. **Arch Oral Biol**, v. 110, p. 104624, fev. 2020. doi:10.1016/j.archoralbio.2019.104624.
- Negrão, J. T. J.; Mendes, P. F.; Laurentino, T. A. Legislações em defesa dos animais: Avanços e desafios. **PUBVET**. v.18, n.05, e1599, p.1-11, 2024. Doi: 10.31533/pubvet.v18n05e1599
- Neto, J. L. C.; Lorenzo, C.; Sanchez, M. N. Influência de uma comissão de ética na proteção de animais. **Rev Bioet.**, v. 25, n. 3, 2017. <https://doi.org/10.1590/1983-80422017253220>.
- Perin, C. P.; Westphalen, V. P. D.; Papalexiou, V. Disposição técnica introduzida em instrumento para extração de dentes incisivos centrais superiores de ratos wistar. Brasil patente BR 10 2012 011567 0. 2012 May 16.
- Rodrigues, M. I. Q.; Martins, J. O. L.; Silva, P. G. B.; Souza, F. B.; Mota, M. R. L.; Alves, A. P. N. N. Tocilizumab, a potent interleukin-6 receptor inhibitor, decreases bone resorption and increases the rate of bacterial infection after tooth extraction in rats. **Dentoalveolar surgery**, v. 78, n. 12, p. 2138-2146, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2020.08.012>.
- Silva, L. B.; Danese, C. C.; Ferrazo, K. L. **Avaliação clínica e histológica de osteonecrose mandibular induzida por agentes modificadores ósseos em ratos Wistar**. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2021.
- Walker, J. V.; Zhuang, H.; Singer, D. et al. Transit amplifying cells coordinate mouse incisor mesenchymal stem cell activation. **Nat Commun**, v. 10, p. 3596, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11611-0>.
- Weber, J. B. B.; Camilotti, R. S.; Jasper, J.; Casagrande, L. C. O.; Maito, F. L. D. M. Effect of low-level laser therapy on tissue repair after dental extraction in rats administered zoledronic acid and dexamethasone. **Journal of Biomedical Optics**, v. 22, n. 5, 2017. doi: 10.1117/1.JBO.22.5.058001.
- Xu, L.; Mei, L.; Zhao, R.; Yi, J.; Jiang, Y.; Li, R.; Zhao, Y.; Pi, L.; Li, Y. The effects of intro-oral parathyroid hormone on the healing of tooth extraction socket: an experimental study on hyperglycemic rats. **J Appl Oral Sci**, v. 28, 2020. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2019-0690>.

Yamasaki, M. C.; Roque-Torres, G. D.; Peroni, L. V.; Nascimento, E. H. L. Does the administration of meloxicam before head and neck radiotherapy reduce the risk of mandibular osteoradionecrosis? An animal model study. **Clinical Oral Investigations**, v. 25, n. 6, p. 1-7, 2021. DOI:10.1007/s00784-020-03701-x.