

Modelos animais empregados em pesquisas que testam o efeito da aplicação de agentes químicos na mucosa bucal

Animal models employed in researches testing the effect of topical drugs on oral mucosa

Fernanda Gonçalves Salum*

Karen Cherubini**

José Miguel Amenábar*

Resumo

A ação tópica de drogas sobre a mucosa bucal de modelos animais vem sendo estudada há décadas. O presente estudo revisa a metodologia de experimentos que envolvem a aplicação de agentes químicos na mucosa bucal de modelos animais e descreve as características histológicas dessa estrutura anatômica. Como hamsters, ratos e coelhos são os modelos freqüentemente utilizados em tais experimentos, cortes histológicos de diferentes sítios bucais desses foram preparados para análise morfológica. Para a morfometria do epitélio de revestimento, foi utilizado o software Image-Pro Plus versão 3.0.1®. A bolsa retrofaríngeana do hamster foi o sítio cujos epitélio (28 a 50 µm) e camada córnea (4 a 40 µm) apresentaram menor espessura. Em razão de sua configuração anatômica, a bolsa proporciona retenção das drogas testadas, sendo um dos sítios mais empregados em estudos de biocompatibilidade de materiais. Além do sítio bucal, a correta seleção do veículo e do instrumento de aplicação da droga a ser testada é imprescindível em tais experimentos. Veículos com capacidade de aderir à mucosa permitem maior contato do agente químico com a superfície

tecidual. Por fim, cabe ao pesquisador cercar-se de todos os subsídios disponíveis para selecionar o modelo biológico adequado, o sítio de aplicação, bem como os instrumentos a serem empregados, garantindo que resultados científicos válidos sejam alcançados.

Palavras-chave: animais de laboratório, mucosa bucal, administração tópica, agentes químicos.

Introdução

O emprego de animais é necessário em pesquisas biomédicas quando se realizam experimentos que não podem ser feitos diretamente em seres humanos. Tais pesquisas desempenham importante papel no avanço do conhecimento, propiciando a prevenção e a cura de doenças (SVENDSEN e HAU, 1994). Por outro lado, tais experimentos envolvem um dilema ético importante, razão pela qual é necessária a garantia de que questões científicas válidas estejam sendo exploradas (BOWEN, 1994).

Em odontologia, nas suas diversas especialidades, há um grande número de publicações envolvendo animais. Cleaton-Jones e Austin (1978) realizaram uma revisão de publicações de pesquisas odontológicas utilizando animais na África do Sul até o ano de 1978. Os autores constataram que, nos estudos de cicatrização óssea, os animais mais emprega-

* Alunos do Programa de Doutorado em Estomatologia Clínica, Faculdade de Odontologia, PUCRS.

** Professora do Programa de Doutorado em Estomatologia Clínica, Faculdade de Odontologia, PUCRS.

Recebido: 29.10.2003 Aceito: 15.03.2004

dos naquela época eram ratos e coelhos, embora macacos também o fossem. Em cariologia, ratos e primatas eram os mais utilizados, pois cães, gatos e camundongos não desenvolvem a doença facilmente. Já os estudos de materiais dentários serviam-se, preferentemente, de primatas, em virtude do pronto acesso a esses animais. Nas pesquisas de crescimento das estruturas da cabeça empregavam-se ratos, hamsters e camundongos; os experimentos de câncer bucal e indução de tumores eram realizados em cães, cavalos, bovinos, ovinos, macacos e coelhos, mas o animal de excelência para tal era o hamster. Por fim, nos estudos de doença periodontal, utilizavam-se cães, ratos, macacos e hamsters, embora nenhum modelo preenchesse todas as exigências dos pesquisadores.

Em razão do uso de uma variedade considerável de modelos animais em pesquisa odontológica, Levy (1980) revisou os critérios de seleção de animais para estudos de doenças da cavidade bucal. Segundo o autor, modelos biológicos como ratos e hamsters não preenchem os critérios para estudos de doença periodontal, embora possam ser úteis no estudo da cárie; ratos, hamsters, camundongos e coelhos são os animais de escolha no estudo das alterações da mucosa bucal; cães, gatos, cavalos e bovinos são usados no estudo de tecidos mineralizados (ossos e dentes); por fim, os primatas podem ser utilizados para o estudo de doenças periodontais e cárie.

Experimentos utilizando modelo animal são realizados para verificar alterações da mucosa bucal decorrentes da aplicação tópica de agentes químicos, tais como carcinógenos, dentifrícios e anti-sépticos. Para conduzir tais experimentos, é essencial que o pesquisador tenha subsídios tanto para selecionar o modelo adequado para a pesquisa quanto para delinear corretamente a investigação. A mucosa animal adequada para esses estudos deveria ter uma estrutura tecidual comparável à humana (TSUTSUMI et al., 1999); por isso, os modelos

biológicos mais utilizados em tais experimentos são hamsters, ratos e coelhos. O presente estudo revisa a metodologia de pesquisas que envolvem a aplicação de agentes químicos na mucosa bucal de animais de laboratório e descreve as suas características morfológicas nos diferentes modelos biológicos.

Revisão da literatura

Hamster (*Mesocricetus auratus*)

O hamster é uma espécie muito utilizada em experimentos que testam a aplicação de agentes químicos na mucosa bucal, por apresentar uma bolsa retrofaríngeana bilateral que favorece a retenção da substância que se deseja testar. Em 1972, o Conselho de Materiais e Aparelhos Odontológicos recomendou que testes de biocompatibilidade de materiais dentários fossem realizados na bolsa retrofaríngeana desses animais (HARSANYI et al., 1991). KUROSAKI et al. (1991) investigaram, *in vivo*, a permeabilidade da mucosa bucal de hamsters, relacionando-a com o nível de ceratinização. Cortes histológicos de seis regiões anatômicas revelaram que o epitélio de revestimento da mucosa bucal do hamster exibe graus variados de ceratinização na seguinte ordem crescente: mucosa sublingual, mucosa da bolsa retrofaríngeana (6,6 µm), mucosa labial, superfície ventral da língua, superfície dorsal da língua e mucosa jugal. A permeabilidade da mucosa é inversamente proporcional à espessura da camada de ceratina, isto é, nas regiões com camada córnea mais delgada, a absorção de substâncias é superior àquela das regiões mais ceratinizadas, sendo o grau de absorção de drogas dependente do sítio bucal utilizado.

Veys, Baert e De Boever (1994) testaram os efeitos do lauril sulfato de sódio (LSS), surfactante usado em dentifrícios, na morfologia do epitélio de revestimento da bolsa retrofaríngeana de hamsters. A substância testada foi friccionada diariamente na bolsa de 12 hamsters, por quatro dias consecutivos, com o auxílio de uma "bolinha" de algodão; na

bolsa do lado oposto, que servia como controle, era aplicada solução salina. O exame histopatológico revelou hiperceratose, acantose e níveis variados de hiperplasia basal nas bolsas-teste. Baert et al. (1996) investigaram se tais alterações induzidas pelo LSS seriam evitadas pela presença de triclosan nas formulações de dentifrícios. Os agentes químicos eram aplicados numa área de 1 cm² na parede medial da bolsa direita de 15 hamsters. Após quatro aplicações, as alterações morfológicas foram observadas independentemente da presença ou ausência de triclosan. Não foram observadas alterações teciduais nas bolsas que receberam dentífrico contendo somente triclosan, comprovando que a irritação é provocada pelo LSS e que o triclosan não protege a mucosa das mudanças estruturais induzidas por esse agente.

Cummins, Tabata e Suzuki (1996) investigaram o potencial de irritação do antiemético ramasetron sobre a mucosa da bolsa de hamsters. A substância foi aplicada uma vez ao dia na forma de tabletes que se desintegravam no interior da bolsa. Após 14 dias de experimento, não houve alterações clínicas ou microscópicas na mucosa dos modelos animais, indicando que os tabletes de ramasetron não agem como irritantes aos tecidos bucais.

Considerando o potencial carcinogênico do tabaco sem fumaça e do álcool na mucosa bucal humana, Summerlin, Dunipace e Potter (1992) testaram os efeitos dessas substâncias na mucosa da bolsa de oitenta hamsters. Segundo os autores, a bolsa do hamster é um sítio inadequado para testar o potencial carcinogênico do fumo e do álcool, pois a utilização diária dessas substâncias durante 26 semanas foi incapaz de produzir alterações pré-neoplásicas ou neoplásicas. A única alteração histológica observada foi acantose nos grupos em que se utilizou o tabaco, isoladamente ou em associação com álcool. Grasso e Mann (1998) sugeriram que o tabaco sem fumaça não é carcinogênico à mucosa bucal de hamsters ou ratos nem causa tumores em outros órgãos desses animais.

A indução de tumores na mucosa da bolsa retrofaringeana de hamsters é um modelo bem caracterizado de carcinogênese química (GIMENEZ-CONTI, 1993). Wani et al. (2001) descreveram uma técnica de liberação lenta do carcinógeno químico 9,10-dimetil-1,2-benzantraceno (DMBA) na mucosa da bolsa de hamsters. Nesta técnica, fios de sutura impregnados com o referido agente e recobertos com elastômero de silicone foram colocados na mucosa da bolsa de hamsters a uma profundidade de 1 cm em região submucosa. Após 12 semanas de iniciação, as suturas foram removidas e a mucosa recebeu aplicações de arecaidina, um promotor de carcinogênese. Observou-se que 133 dos 165 hamsters utilizados no estudo desenvolveram carcinomas de 100 mm². O estudo demonstrou que o método empregado foi eficiente em produzir neoplasia num curto período de tempo e com pouca manipulação dos animais.

Por outro lado, Nauta et al. (1995) sugerem que a mucosa da bolsa retrofaringeana do hamster não seja um sítio adequado para tais estudos, porque (1) não está sujeita a influências ambientais, geralmente presentes na cavidade bucal; (2) não há nenhuma estrutura anatômica no homem semelhante à desta bolsa; (3) na bolsa, o epitélio é consideravelmente mais delgado do que em outras partes da mucosa bucal; (4) a bolsa é um sítio imunologicamente privilegiado, pois aceita enxertos de tecidos normais e neoplásicos. Além disso, estes autores contraindicam que se utilize como controle a bolsa oposta àquela em que se está trabalhando, pois o animal costuma levar alimento de uma bolsa para outra, podendo contaminar a região de controle, e tornar duvidosos os resultados obtidos.

Rato (*Rattus norvegicus*)

O rato é uma espécie muito utilizada em experimentos que avaliam alterações da mucosa bucal. Nesse modelo animal, a mucosa palatina é um sítio bastante

utilizado. Winning et al. (1994) testaram o efeito da aplicação tópica de ácido retinóico na mucosa palatina de ratos Wistar. A substância foi aplicada por meio de veículo orabase em diferentes concentrações, numa amostra de sessenta animais. Após uma, duas, quatro e oito semanas de estudo, constatou-se que, nas doses utilizadas, não houve alterações na atividade proliferativa da mucosa bucal dos modelos animais.

Maier et al. (1994) estudaram os efeitos do consumo de etanol na morfologia da mucosa bucal de ratos Wistar. Quarenta ratos receberam dieta líquida contendo 36% de etanol ou carboidratos isocalóricos por seis meses. A análise morfométrica mostrou que, nos ratos que receberam etanol, os núcleos e a camada de células basais do epitélio da mucosa do assoalho de boca, bordos e base de língua, estavam significativamente aumentados. A espessura do epitélio do assoalho bucal foi reduzida, indicando que o consumo de etanol causa atrofia da mucosa, que pode estar associada com aumento de suscetibilidade do epitélio a carcinógenos químicos.

Nauta et al. (1995) compararam as alterações epiteliais da mucosa palatina de ratos, induzidas pelo carcinógeno químico 4-nitroquinolina 1-óxido (4NQO), com as alterações presentes em lesões cancerizáveis da mucosa bucal humana. Displasia epitelial foi induzida na mucosa palatina de 24 ratos Wistar pela aplicação de 4NQO a 0,5%, dissolvido em propilenoglicol, durante 26 semanas. Os autores constataram que a displasia epitelial induzida na mucosa de ratos é muito semelhante à displasia epitelial humana, comprovando a aplicabilidade desse modelo biológico em estudos de carcinogênese por agentes químicos.

Nauta et al. (1996) analisaram as alterações macroscópicas e microscópicas da mucosa palatina de sessenta ratos Wistar, os quais receberam aplicação tópica de 4NQO num período de 2 a 26 semanas. Em 26 semanas, todos os animais apresentaram carcinomas epidermóides, mesmo

aqueles nos quais a aplicação do carcinógeno foi suspensa após a segunda semana. As aplicações eram realizadas três vezes por semana com auxílio de pincel. Os autores sugeriram que os carcinomas induzidos em ratos possuem um grau de diferenciação maior, sendo menos agressivos do que os carcinomas humanos.

Coelho (*Oryctolagus cuniculus*)

O coelho também é um modelo animal empregado em pesquisa odontológica, e alguns estudos que testam a aplicação de substâncias na mucosa bucal desse modelo biológico são encontrados na literatura. Muller et al. (1988) realizaram um experimento testando a ação do ácido peracético na pele e nas mucosas bucal e vaginal de coelhos. As aplicações foram realizadas três vezes por semana durante 12 meses (153 doses em cada sítio). Os exames histológicos não mostraram inflamação ou displasia nos tecidos, permitindo concluir que, apesar da alta dose-aplicada, o ácido peracético a 0,2% é inócuo aos tecidos.

Alur et al. (1999) desenvolveram tabletes bucais mucoadesivos como um dispositivo de liberação lenta para calcitonina de salmão. Os tabletes eram preparados com *hakea*, uma substância adesiva, misturada com 40 µg de calcitonina de salmão. As aplicações eram realizadas na mucosa bucal de coelhos albinos da Nova Zelândia, demonstrando que o dispositivo adesivo utilizado foi capaz de sustentar a liberação da calcitonina de salmão por um período prolongado.

Metodologia

Com o objetivo de descrever a histomorfologia da mucosa bucal dos modelos animais freqüentemente empregados para testar o efeito tópico de drogas, foram selecionados um hamster (*Mesocricetus auratus*), um rato (*Rattus norvegicus*) e um coelho (*Oryctolagus cuniculus*). Após eutanásia dos animais em câmara de gás carbônico, procedeu-se à dissecação da bolsa retrofaringeana do hams-

ter, bem como das mucosas jugal, do ventre e do dorso da língua do rato e do coelho. Os espécimes foram fixados em solução de formalina a 10% e processados. Cortes histológicos de 5 µm de espessura foram preparados e corados com hematoxilina e eosina.

As imagens dos cortes histológicos foram capturadas utilizando-se microscópio óptico da marca Olympus AX 70®, acoplado a um sistema de captação de imagem digital Olympus U-PMTVC®. A morfometria foi realizada por meio do *software* para análise de imagens digitalizadas Image-Pro Plus versão 3.0.1®. As medidas foram obtidas a partir de três campos microscópicos em cada lâmina, correspondendo esses campos às áreas de espessura epitelial menor, intermediária e maior. As mensurações foram feitas traçando-se em cada campo uma linha reta perpendicular ao epitélio, a qual estendia-se desde a camada basal até a superfície epitelial externa. Uma vez traçada cada reta, o *software* fornecia a sua medida em micrômetros. Após essa mensuração, nas mesmas regiões, uma nova reta era traçada, estendendo-se da superfície da camada espinhosa até a superfície da camada córnea; assim, o *software* fornecia a medida correspondente à espessura da camada córnea. Todas as medidas obtidas foram registradas, fornecendo a espessura epitelial total e da camada córnea do tecido epitelial de cada animal.

Resultados

Hamster (*Mesocricetus auratus*)

A bolsa retrofaríngea do hamster é revestida por epitélio pavimentoso estratificado ortoceratinizado com poucas camadas celulares, sob o qual se observa fina faixa de tecido conjuntivo fibroso denso, onde estão localizados vasos sanguíneos e nervos. A espessura epitelial varia entre 28 e 50 µm, e a faixa de ceratina ocupa entre 4 e 10 µm dessas dimensões. Feixes de fibras musculares estriadas, subjacentes ao tecido conjuntivo fibroso, também fazem parte da parede da bolsa retrofaríngea (Fig. 1).



Figura 1 - Aspecto microscópico da mucosa da bolsa retrofaríngea do hamster (*Mesocricetus auratus*) (HE, 400x)

Rato (*Rattus norvegicus*)

No rato, a mucosa jugal é constituída por epitélio pavimentoso estratificado ortoceratinizado, subjacente ao qual se observam faixa de tecido conjuntivo fibroso e feixes de fibras musculares estriadas dispostas longitudinalmente. A espessura epitelial varia de 40 a 80 µm, dos quais 7 a 20 µm são ocupados pela faixa de ceratina (Fig. 2).



Figura 2 - Aspecto microscópico da mucosa jugal do rato (*Rattus norvegicus*) (HE, 400x)

O ventre da língua é revestido por epitélio pavimentoso estratificado ortoceratinizado, com dez a vinte camadas de células e espessura de, aproximadamente, 60 a 200 µm. A camada de ortoceratina ocupa entre 20 e 60 µm de tais dimensões. Fina faixa de tecido conjuntivo fibroso denso está presente entre o epitélio e o tecido muscular estriado subjacente (Fig. 3).

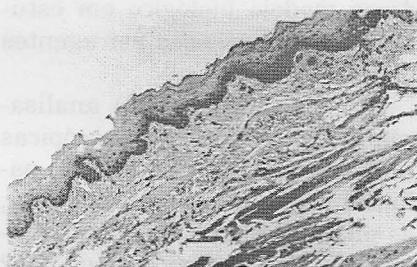


Figura 3 - Aspecto microscópico da mucosa do ventre da língua do rato (*Rattus norvegicus*) (HE, 100x)

A mucosa do dorso da língua do rato apresenta epitélio pavimentoso estratificado ortoceratinizado cujo arranjo forma as papilas filiformes. O tecido epitelial exibe espessura de 80 a 150 µm, dos quais 16 a 24 µm correspondem à ceratina. Subjacente ao epitélio, observam-se faixa de tecido conjuntivo fibroso e feixes de fibras musculares estriadas em disposição longitudinal (Fig. 4).



Figura 4 - Aspecto microscópico da mucosa do dorso da língua do rato (*Rattus norvegicus*) (HE, 100x)

Coelho (*Oryctolagus cuniculus*)

Na mucosa jugal do coelho, o epitélio pavimentoso estratificado de revestimento apresenta espessura entre 110 e 290 µm e tem superfície paraceratinizada, que ocupa de 20 a 100 µm de sua dimensão. Feixes de fibras musculares esqueléticas estão dispostos longitudinalmente ao epitélio, separados deste por uma faixa de tecido conjuntivo fibroso (Fig. 5).

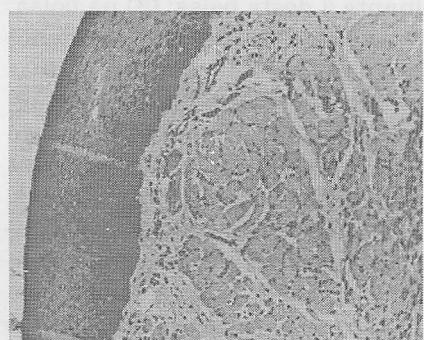


Figura 5 - Aspecto microscópico da mucosa jugal do coelho (*Oryctolagus cuniculus*) (HE, 100x)

O ventre da língua exibe epitélio pavimentoso estratificado de revestimento com espessura entre 40 e 90 µm, dos quais 18 a 27 µm correspondem à camada de ceratina. Da mesma forma que nos outros sítios, subjacente ao epitélio, observam-se faixa de tecido conjuntivo fibroso e feixes de fibras musculares estriadas (Fig. 6).

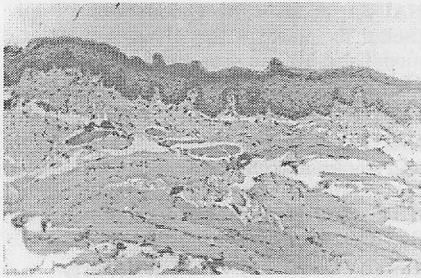


Figura 6 - Aspecto microscópico da mucosa do ventre da língua do coelho (*Oryctolagus cuniculus*) (HE, 100x)

A mucosa do dorso da língua apresenta espessa faixa de epitélio pavimentoso estratificado ortoceratinizado, que forma as papilas linguais, separado do tecido muscular estriado subjacente por tecido conjuntivo fibroso. O epitélio possui espessura entre 340 e 390 µm, sendo de 70 a 100 µm ocupados pela camada de ceratina (Fig. 7).

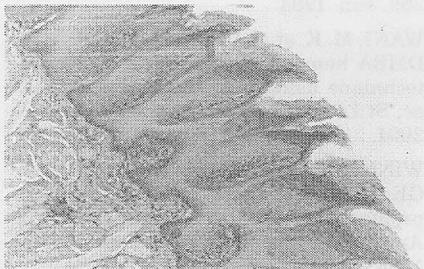


Figura 7 - Aspecto microscópico da mucosa do dorso da língua do coelho (*Oryctolagus cuniculus*) (HE, 100x)

Discussão

A ação tópica de drogas sobre a mucosa bucal de modelos animais vem sendo estudada há décadas. Diferentes modelos são utilizados nessas pesquisas e vários desenhos experimentais são encontrados na literatura. Considerando-se a variação anatômica dos modelos biológicos, bem como de suas mucosas bucais, torna-se necessária a determinação de sítios que ofereçam melhores condições à realização de um experimento de avaliação da aplicação de drogas na mucosa.

A bolsa retrofaringeana do hamster foi o sítio cujo epitélio apresentou menor espessura, que variou entre 28 e 50 µm, dos quais entre 4 e 10 µm correspondiam à camada córnea. No entanto, Nauta et al. (1995) alegam que a bolsa do hamster não constitui um sítio

adequado para estudos por ser imunologicamente privilegiada, já que não apresenta drenagem linfática. Apesar disso, em razão de sua configuração anatômica e da ausência de glândulas salivares, a bolsa proporciona maior retenção das drogas testadas, o que a classifica como um dos sítios mais empregados em estudos de biocompatibilidade de materiais (HARSANYI et al., 1991).

A indução de tumores na mucosa da bolsa retrofaringeana de hamsters é um modelo bem caracterizado de carcinogênese química, que tem sido empregado em estudos de quimioprevenção e quimioterapia, bem como em estudos bioquímicos e moleculares (GIMENEZ-CONTI, 1993; WANIS et al., 2001). No entanto, o tabaco sem fumaça não demonstrou potencial carcinogênico na mucosa bucal de hamsters ou de ratos (GRASSO E MANN, 1998). Summerlin, Dunipace e Potter (1992) sugeriram que a bolsa do hamster é um sítio inadequado para testar o potencial carcinogênico do tabaco sem fumaça e do álcool, já que, em seu estudo, a administração diária dessas substâncias durante 26 semanas foi incapaz de produzir alterações pré-neoplásicas ou neoplásicas.

Outro modelo animal empregado nos referidos estudos é o coelho, no entanto, provavelmente, por ser um modelo de tamanho maior, é menos utilizado que os outros animais citados. A análise morfológica do presente estudo demonstrou que a mucosa bucal do coelho é revestida por epitélio pavimentoso estratificado paraceratinizado, diferindo dos epitélios das mucosas bucais do hamster e do rato, que são ortoceratinizados.

Além do sítio bucal, é imprescindível a seleção adequada do veículo e do instrumento de aplicação da droga a ser testada. Veículos com capacidade de aderir à mucosa, como o orabase (WANNING, CAMERON e SAVAGE, 1994) e tabletes mucoadesivos (ALUR et al., 1999), permitem maior contato do agente com a superfície tecidual. A facilidade de administração de substâncias no

interior da bolsa retrofaringeana do hamster permite que veículos sólidos e líquidos sejam empregados nesse sítio, tais como tabletes bucais dissolúveis (CUMMINS, TABATA e SUZUKI, 1996), discos de polímero (HARSANYI et al., 1991) e drogas diluídas em propilenoglicol.

Conclusões

O estudo de alterações da mucosa bucal causadas por agentes químicos aplicados topicalmente oferece uma série de dificuldades ao pesquisador, pois exige o contato das substâncias em estudo com o local de aplicação pelo maior tempo possível. O êxito desse procedimento é dificultado pelos movimentos mastigatórios e pela constante "lavagem" das superfícies bucais pela saliva. Para determinar a exequibilidade do projeto científico, identificar dificuldades potenciais, verificar se o modelo animal selecionado é adequado e evitar o sacrifício de animais em demasia, estudos-piloto cuidadosamente conduzidos são fundamentais. A seleção do modelo biológico, do sítio de aplicação, bem como dos instrumentos a serem empregados depende dos objetivos da pesquisa em questão, cabendo ao pesquisador utilizar todos os subsídios disponíveis para que metodologia adequada seja aplicada em seu estudo.

Abstract

This paper presents a review of the methodology employed in experiments testing the effect of topical drugs on the oral mucosa of animal models. Also, the features of hamsters' cheek pouch and oral mucosa of rats and rabbits, which are the laboratory animals usually employed in these experiments, are described. Histological sections from sites of oral mucosa of each animal were prepared to analyze the tissular morphology. For the morphometric analysis of the epithelium, the software Image-Pro Plus version 3.0.1® was used. Hamster's cheek pouch was the site in which epithelium (28 to 50µm) and stratum cor-

neum (4 to 40 μ m) presented less thickness. Because of its anatomic conformation, hamster's cheek pouch propitiates the retention of drugs, being one of the most employed anatomical sites in studies of material biocompatibility. Besides, the correct choice of the oral site, the proper selection of both vehicle and device for drug application are essential. Vehicles that adhere to oral mucosa allow longer contact between drug and tissue surface. Researchers must respect all available criteria to properly select the biologic model, the site of drug administration and the devices to be employed for warranting the achievement of valid scientific results.

Key words: laboratory animals, oral mucosa, topical administration, chemical compounds.

Referências

- ALUR, H. H. et al. Evaluation of a novel, natural oligosaccharide gum as a sustained-release and mucoadhesive component of calcitonine buccal tablets. *J Pharm Sci*, New York, v. 88, n. 12, p. 1313-1319, Dec. 1999.
- BAERT, J. H. et al. The effect of sodium lauryl sulphate and triclosan on hamster cheek pouch mucosa. *Int J Exp Pathol*, Oxford, v. 77, n. 2, p. 73-78, Apr. 1996.
- BOWEN, W. H. Ethical Use of Animals. *J Dent Res*, Chicago, v. 73, n. 11, p. 1773-1777, Nov. 1994.
- CLEATON-JONES, P.; AUSTIN, J. C. The role of laboratory animals in dental research. *J S Afr Vet Assoc*, Pretoria, v. 49, n. 3, p. 239-241, Sep. 1978.
- CUMMINS, H. A.; TABATA, H.; SUZUKI, H. Two-week oral mucosal irritation study with ramosetron orally disintegrating tablets in Syrian hamsters. *Arzneimittelforschung*, Aulendorf, v. 46, n. 7, p. 673-676, Jul. 1996.
- GIMENEZ-COINTI, I. The hamster cheek pouch carcinogenesis model. *Acta Odont Latinoam*, Buenos Aires, v. 7, n. 1, p. 3-12, 1993.
- GRASSO, P.; MANN, A. H. Smokeless tobacco and oral cancer: an assessment of evidence derived from laboratory animals. *Food Chem Toxicol*, Oxford, v. 36, n. 11, p. 1015-1029, Nov. 1998.
- HARSANYI, B. B. et al. Hamster cheek-pouch testing of dental soft polymers. *J Dent Res*, Chicago, v. 70, n. 6, p. 991-996, Jun. 1991.
- KUROSAKI, Y. et al. Regional variation in oral mucosal drug absorption: permeability and degree of keratinization in hamster oral cavity. *Pharmacol Res*, Stuttgart, v. 8, n. 10, p. 1297-1301, Oct. 1991.
- LEVY, B. M. Animal analogues for the study of dental and oral diseases. *Dev Biol Stand*, Basel, v. 45, p. 51-59, 1980.
- MAIER, H. et al. Effect of chronic alcohol consumption on the morphology of the oral mucosa. *Alcohol Clin Exp Res*, New York, v. 18, n. 2, p. 387-391, Apr. 1994.
- MULLER, P. et al. Action of chronic peracetic acid (wofasteril) administration on the rabbit oral mucosa, vaginal mucosa, and skin. *Exp Pathol*, Jena, v. 34, n. 4, p. 223-228, 1988.
- NAUTA, J. M. et al. Comparison of epithelial dysplasia - the 4NQO rat palate model and human oral mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg*, Copenhagen, v. 24, n. 1, p. 53-58, Feb. 1995.
- NAUTA, J. M. et al. Epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma of the wistar rat palatal mucosa: 4NQO model. *Head Neck*, New York, v. 18, n. 5, p. 441-449, Sep./Oct. 1996.
- SUMMERLIN, D. J.; DUNIPACE, A.; POTTER, R. Histologic effects of smokeless tobacco and alcohol on the pouch mucosa and organs of the Syrian hamster. *J Oral Pathol Med*, Copenhagen, v. 21, n. 3, p. 105-108, Mar. 1992.
- SVENDSEN, P.; HAU, J. *Handbook of Laboratory Animal Science*, v. I, Selecting and handling of animals in biomedical research., CRC Press, 1994. p. 1-191.
- TSUTSUMI, K.; et al. Permeation of several drugs through keratinized epithelial-free membrane of hamsters cheek pouch. *Int J Pharm*, Amsterdam, v. 177, n. 1, p. 7-14, Jan. 1999.
- VEYS, R. J.; BAERT, J. H.; DE BOEVER, J. A. Histological changes in the hamster cheek pouch epithelium induced by topical application of sodium lauryl sulphate. *Int J Exp Pathol*, Oxford, v. 75, n. 3, p. 203-209, Jun. 1994.
- WANI, M. K. et al. Cancer induction in the DMBA hamster cheek pouch: a modified technique using a promoter. *Laryngoscope*, St Louis, v. 111, n. 2, p. 204-206, Feb. 2001.
- WINNING, T. A.; CAMERON, J.; SAVAGE, N. W. The effect of vitamin A on the proliferation of oral epithelium in the rat. *Aust Dent J*, Sydney, v. 39, n. 2, p. 121-125, 1994.

Estudo realizado no Serviço de Estomatologia e Prevenção do Câncer Bucomaxilofacial do Hospital São Lucas - PUCRS.

Endereço para correspondência

Karen Cherubini
Hospital São Lucas – PUCRS
Serviço de Estomatologia, Sala 231
– 2º andar
Av. Ipiranga, 6690,
90610-000 - PORTO ALEGRE - RS
Fone: 33203000, Ramal: 2554
E-mail: kebini.ez@terra.com.br