

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA ODONTOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

ILANNA MARA GOMES ESTANISLAU

**MODELO EXPERIMENTAL DE MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA INDUZIDA COM
ANCORAGEM ESQUELÉTICA: ESTUDO MORFOLÓGICO**

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

E1m ESTANISLAU, IANNA MARA GOMES.
MODELO EXPERIMENTAL DE MOVIMENTAÇÃO INDUZIDA EM RATOS: ESTUDO
MORFOLÓGICO / IANNA MARA GOMES ESTANISLAU. – 2019.
36 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e
Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. CAUBY MAIA CHAVES JÚNIOR.
Coorientação: Prof. Dr. ANA PAULA NEGUEIROS NUNES.

1. Técnicas de movimentação dentária. 2. Procedimentos de ancoragem ortodônticas. 3. Ratos. I. Título.
CDD 617.6
-

ILANNA MARA GOMES ESTANISLAU

**MODELO EXPERIMENTAL DE MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA INDUZIDA COM
ANCORAGEM ESQUELÉTICA: ESTUDO MORFOLÓGICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Cauby Maia Chaves
Júnior

FORTALEZA

2019

ILANNA MARA GOMES ESTANISLAU

**MODELO EXPERIMENTAL DE MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA INDUZIDA COM
ANCORAGEM ESQUELÉTICA: ESTUDO MORFOLÓGICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Clínica Odontológica.

Aprovada em: ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Cauby Maia Chaves Júnior
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dra. Lis Monteiro de Carvalho Guerra
Academia Cearense de Odontologia (ACO)

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Ao meu orientador, professor Cauby Maia Chaves Júnior, pela orientação nessa trajetória, pela abertura a esse projeto desafiador, por todos ensinamentos clínicos, e principalmente pelos ensinamentos de um verdadeiro educador.

À co-orientadora deste projeto, professora Ana Paula Negreiros Nunes Alves, por confiar que conseguiríamos, por não medir esforços para esclarecer, tirar dúvidas e auxiliar com sua experiência.

À professora Lis Monteiro Guerra, participante da Banca examinadora pelo tempo pelas valiosas colaborações e sugestões para aprimoramento deste trabalho.

Aos colegas da turma de mestrado, pelo excelente convívio ao longo desses dois anos.

A estudante de iniciação científica, Amanda Barroso, pelo esforço, dedicação e por estar sempre disposta a ajudar.

Aos funcionários técnicos-administrativos da Universidade Federal do Ceará e prestadores de serviço: Joana, Rafael, Heloneide, Leuda e Débora, pelo auxílio e zelo nas atividades cotidianas.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço a Deus por ter cuidado de mim em cada detalhe, por ser meu melhor amigo e fiel companheiro. Agradeço por ter colocado verdadeiros anjos ao meu lado para que esse sonho se concretizasse.

À minha mãezinha Maria, por todas orações e todos ensinamentos de amor, humildade e simplicidade, por ser minha fonte motivadora de buscar ir sempre adiante.

Ao Edinaldo, Neiliane e Juliana, meus queridos irmãos, por serem meus amigos de todas as horas, por me apoiarem e por tornarem meus dias mais felizes.

Aos meus sobrinhos, Yuri, Arthur, Heitor e Davi, por serem a alegria dos meus dias.

Ao meu noivo, Tomohiro Kimura, por ser um grande incentivador dos meus sonhos, pela companhia, pela leveza com que leva as situações do cotidiano.

À minha querida amiga Vilana Maria, pela amizade que se fortaleceu ao longo dos anos de graduação e pós-graduações, por ter acreditado em mim quando nem mesmo eu podia achar que daria certo, por estar ao meu lado em todas as fases de desenvolvimento da pesquisa e da vida e por toda ajuda que me prestou para consecução deste trabalho.

RESUMO

A movimentação dentária induzida (MDI) promove alterações morfológicas, as quais culminam em respostas celulares com a liberação de mediadores inflamatórios. Esses fenômenos podem ser induzidos pela aplicação de uma força ortodôntica com mola fechada de níquel-titânio (NiTi) em um modelo em ratos. Os mini-implantes ortodônticos promovem uma ancoragem esquelética sem os efeitos indesejáveis da perda de ancoragem, como ocorre na MDI com ancoragem dentária. Nesse contexto, objetivou-se analisar alterações morfológicas em um modelo experimental de MDI com ancoragem esquelética, usando mini-implantes ortodônticos em dois diferentes tempos. Para tanto, foram utilizados 20 ratos *Wistar*, pesando entre 180 a 220 gramas, divididos em dois grupos com tempo experimental de 7 e 14 dias. Em ambos os grupos, os animais foram submetidos a instalação de uma mola fechada de NiTi, a qual uma das suas extremidades foi fixada em torno do primeiro molar superior esquerdo e a outra extremidade fixada ao mini-implante. A hemiarcada contralateral de ambos os grupos foi utilizada como controle (GC). Após o período de MDI, os animais foram submetidos à eutanásia e suas hemiarcadas foram removidas e fixadas em formol tamponado 10%, para posterior desmineralização em EDTA. As amostras foram processadas para análises histopatológica, sendo avaliados alguns parâmetros inflamatórios, presença de hialinização, superfícies trabeculares irregulares com ou sem osteoclastos, presença de necrose tecidual e reabsorção radicular. O espaço da movimentação dentária foi mensurado através de uma régua histológica (Zeiss®). Ainda, foi mensurada através de um paquímetro digital (Messen®) a distância entre a face mesial do 1º molar superior esquerdo e o mini-implante, e entre a palatina do incisivo central superior direito e o mini-implante. Após 7 dias de MDI, detectou-se uma redução da massa corpórea, entretanto esta foi recuperada após 14 dias. Quanto à mensuração da movimentação, verificou-se que a instalação de dispositivo ortodôntico promoveu uma redução da distância entre o molar superior e mini-implante, indicando uma movimentação deste dente no sentido mesial. Quando avaliada em porcentagem essa redução foi de $(11,08 \pm 1,23)\%$ em 7 dias e $(17,68 \pm 1,97)\%$ em 14 dias. Ainda houve uma diferença significativa entre 7 e 14 dias, o que corroborou com as medidas histológicas, as quais mostraram que a distância inicial passou de $(31,06 \pm 1,41)\mu$ para $(61,71 \pm 2,59)\mu$ em 7 dias e $(74,75 \pm 4,94)\mu$ em 14 dias. Na análise histológica, observou-se que a MDI promoveu alterações periodontais e pulpares, em relação ao grupo controle, entretanto não houve diferença entre os diferentes grupos submetidos à movimentação com ancoragem esquelética. A MDI com ancoragem em mini-implantes é eficiente, tem reprodutibilidade e apresentou mesialização significativa do molar superior esquerdo. As alterações histológicas não variaram entre os tempos avaliados. Não houve envolvimento pulpar na MDI em 7 e 14 dias.

Palavras-chave: Técnicas de movimentação dentária, Ratos, Procedimentos de Ancoragem Ortodôntica

ABSTRACT

Induced tooth movement (MDI) promotes morphological changes, which culminate in cellular responses with the release of inflammatory mediators. These phenomena can be induced by the application of an orthopedic force with a closed nickel-titanium (NiTi) spring in a rat model. Orthodontic mini-implants promote a skeletal anchorage without the undesirable effects of anchorage loss, as occurs with MDI with dental anchorage. In this context, the objective was to analyze morphological alterations in an experimental model of MDI with skeletal anchorage, using orthodontic mini-implants in two different times. For this, 20 Wistar rats were used, weighing between 180 and 220 grams, divided in two groups with experimental time of 7 and 14 days. In both groups, the animals underwent the installation of a closed NiTi spring, one end of which was fixed around the left upper first molar and the other end attached to the mini-implant. The contralateral hemiarate of both groups was used as control (GC). After the MDI period, the animals were submitted to euthanasia and their hemiarates were removed and fixed in 10% buffered formalin for further EDTA demineralization. Samples were processed for histopathological analysis, and some inflammatory parameters, presence of hyalinization, irregular trabecular surfaces with or without osteoclasts, presence of tissue necrosis and root resorption were evaluated. The tooth movement space was measured using a histological rule (Zeiss®). In addition, the distance between the mesial aspect of the upper left 1st molar and the mini-implant was measured using a digital caliper (Messen®) and between the right upper central incisor palate and the mini-implant. After 7 days of MDI, a reduction in body mass was detected, however, this was recovered after 14 days. As to the measurement of the movement, it was verified that the installation of orthodontic device promoted a reduction of the distance between the upper molar and mini-implant, indicating a movement of this tooth in the mesial sense. When evaluated in percentage, this reduction was $(11.08 \pm 1.23)\%$ in 7 days and $(17.68 \pm 1.97)\%$ in 14 days. There was still a significant difference between 7 and 14 days, which corroborated with the histological measurements, which showed that the initial distance changed from $(31.06 \pm 1.41) \mu$ to $(61.71 \pm 2.59) \mu$ in 7 days and $(74.75 \pm 4.94) \mu$ in 14 days. In the histological analysis, it was observed that the MDI promoted periodontal and pulp alterations, in relation to the control group, however there was no difference between the different groups submitted to the movement with skeletal anchorage. MDI with anchorage in mini-implants is efficient, has reproducibility and presented significant mesialization of the upper left molar. The histological changes did not vary between the evaluated times. There was no pulp involvement in MDI at 7 and 14 days.

Keywords: Orthodontic anchorage procedures, Tooth movement techniques, Rats.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Desenho esquemático do modelo de movimentação dentária induzida com ancoragem em mini-implantes.	16
Figura 2	Fotomicrografias do corte longitudinal das hemiarcadas dos grupos experimentais e controle, no período de 7 e 14 dias, com aumentos de 50x e de 100x.	24
Gráfico 1	Diferença da massa corpórea dos animais registrada no dia da instalação da mola e do mini-implante e após 7 e 14 dias.	20
Gráfico 2	Distância entre molares esquerdos e mini-implantes em milímetros.	20
Gráfico 3	Movimentação dentária em porcentagem dos molares esquerdos dos animais submetidos a eutanásia em 7 e 14 dias.	21
Gráfico 4	Distância entre incisivos centrais e mini-implantes em milímetros	21
Gráfico 5	Mensuração histológica com régua histológica (Zeiss®) da distância entre as junções cimento-esmalte dos primeiros e segundos molares superiores.	22

LISTA DE ABREVIATURAS

MDI	Movimentação Dentária Induzida
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral
RANKL	Ligante do Receptor do Ativador do Fator Nuclear Kappa B
RANK	Receptor do Ativador do Fator Nuclear Kappa B
PGE-2	Prostaglandina E 2
OPG	Osteoprotegerina
LP	Ligamento Periodontal
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-17	Interleucina 17
FCG	Fluido Crevicular Gengival
NiTi	Níquel-Titânio
MI	Mini-implante

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. JUSTIFICATIVA	13
3. OBJETIVOS	14
3.1. Objetivo geral	14
3.2. Objetivos específicos.....	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
4.1. Animais.....	14
4.2. Delineamento do estudo.....	14
4.3. Instalação e ativação do mini-implante.....	16
4.4. Parâmetro de mensuração da peça ex-vivo.....	16
4.5. Confeção das lâminas histológicas	16
4.6. Análise histológica.....	17
4.7. Análise estatística.....	18
4.8. Aspectos éticos.....	18
5. RESULTADOS.....	19
6. DISCUSSÃO.....	25
7. CONCLUSÃO.....	28
ANEXO.....	29
REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

A movimentação dentária decorrente da aplicação de uma força ortodôntica é dependente da remodelação dos tecidos periodontais, incluindo polpa dentária, ligamento periodontal (LP), osso alveolar e gengiva (DOLCE; SCOTT MALONE; WHEELER, 2002). O movimento ortodôntico contínuo e equilibrado é caracterizado por reabsorção e deposição óssea nos locais de compressão e tensão, respectivamente (BROOKS et al., 2009).

Quando expostos aos vários graus de magnitude, frequência e duração da carga mecânica, os tecidos de sustentação adjacentes ao dente a ser movimentado apresentam alterações morfológicas que podem ser visualizadas microscopicamente. Ocorre alteração do fluxo sanguíneo e eletroquímico dos tecidos periodontais, resultando na síntese local e liberação de várias moléculas, como citocinas, fatores de crescimento, fatores estimuladores de colônia, enzimas e neurotransmissores (D'APUZZO et al., 2013). Estas alterações levam à geração e à propagação de cascatas de sinalização que culminam em reações bioquímicas e celulares nestes tecidos (REAL et al., 2009).

No lado de compressão, ocorre o recrutamento de monócitos da circulação sanguínea que são estimulados pelo ligante ativador do receptor do fator nuclear κ B (RANKL) a se fusionarem e formarem células gigantes semelhantes à osteoclastos, culminando em maior reabsorção óssea. Por outro lado, as forças de tensão estimulam síntese e liberação de citocinas que têm uma influência negativa sobre a expressão de Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α) e Interleucina 1 β (IL1- β). Assim, ocorre um estímulo da síntese de Osteoprotegerina (OPG), que inibe a diferenciação de osteoclastos e induz a deposição óssea (CORRÊA et al., 2017). Esse evento é acompanhado de rearranjo das fibras periodontais, onde as novas fibras de Sharpey são formadas e incorporadas as fibras periodontais existentes (BALOUL, 2016).

A compressão vascular decorrente da aplicação de forças ortodônticas, além dos limites fisiológicos de tolerância dos tecidos periodontais e do complexo dentinopulpar pode induzir a hipóxia pulpar, o que leva a uma resposta inflamatória e, assim, pode-se esperar que a polpa passe por um processo de remodelação após o movimento dentário (RÖMER et al., 2014). Ainda, podem ser observados uma redução do volume da cavidade pulpar, hemorragia, e necrose (SANTAMARIA JR et al., 2007).

Outros sinais indicam um processo adaptativo do tecido pulpar diante de forças compressivas. Entre estes, destacam-se a presença de macrófagos, alteração da camada odontoblástica, edema do tecido conjuntivo, aumento de células progenitoras e fibroblastos

(SANTAMARIA JR et al., 2007; GRÜNHEID; MORBACH; ZENTE, 2007), nódulos e calcificação total do espaço interno do canal radicular (COHEN; HARGREAVES, 2006).

A força de tração aumenta a produção de várias citocinas, o que pode levar à reabsorção radicular inflamatória durante o movimento dentário (KAKU et al., 2014). Embora não esteja totalmente esclarecido os fatores que causam reabsorção radicular, esta foi associada com a expressão diferencial de algumas moléculas, tais como IL-1 β , OPG, RANKL e osteocalcina, os quais regulam a função de osteoblastos e osteoclastos. RANKL é regulado em resposta a forças compressivas através da PGE₂. A osteoclastogênese e o movimento dentário mediados por RANKL são ambos inibidos pela transferência de genes de OPG. Assim, um aumento do RANKL e uma diminuição da osteoprotegrina tem um impacto negativo sobre a terapia do movimento dentário, pois pode causar reabsorção radicular grave (BALOUL, 2016).

A ancoragem ortodôntica é um dos aspectos mais desafiadores da Ortodontia, pois impedir o movimento indesejado dos dentes pode resultar em tratamento ortodôntico mais seguro e menos complicado (FERNÁNDEZ-GONZÁLES et al., 2016). Com o aprimoramento das técnicas de implante, foram desenvolvidos mini-implantes para serem utilizados como dispositivos que permitem uma ancoragem esquelética visando fornecer resistência ao movimento dentário indesejado. Ao contrário dos implantes convencionais, os mini-parafusos ortodônticos dependem da retenção mecânica, e não da osseointegração, para estabilidade, podendo receber carga imediata (COUSLEY, 2012).

Entre as numerosas vantagens desses dispositivos, estão o baixo custo, dimensões variáveis, facilidade nos procedimentos de inserção e remoção e possibilidade de aplicação de carga imediata, reduzindo o tempo de tratamento ortodôntico em comparação com dispositivos que requerem período de cicatrização (MOTOYOSHI et al., 2005; PRABHU; COUSLEY, 2006).

Embora alguns autores tenham utilizados os dispositivos de ancoragem esquelética como uma ferramenta para possibilitar estudos de movimentação dentária induzida com força de ativação mais constantes, não há padronização quanto à espécie animal e nem quanto às características do dispositivo de ancoragem (KAMEYAMA et al., 2002; KAMEYAMA et al., 2012; KAWAZOE et al., 2012; KAPAITUR et al., 2013; KAPAITUR et al., 2014; FERNÁNDEZ-GONZÁLES et al., 2016; MATSUMOTO et al., 2017).

O modelo animal em ratos *Wistar* tem se mostrado adequado para estudar as fases iniciais da movimentação dentária induzida (MDI) (IBRAHIM et al., 2017). Muitas são as vantagens de seu uso, pois podem ser obtidos por um baixo custo, são fáceis de manter e manipular, e permitem um bom controle genético (REN et al., 2004). Essas vantagens

contribuíram para que esses modelos substituíssem os modelos pioneiros que empregavam cachorros (SANDSTEDT, 1901) e macacos (OPPENHEIN, 1911).

Um modelo amplamente empregado para estudar a movimentação dentária induzida foi introduzido por Heller e Nanda (1979), e modificado por Martins Ortiz (2004), que utiliza uma mola fechada de aço inoxidável amarrada ao primeiro molar superior esquerdo com fio de amarrilho e, após a ativação da mola, a outra extremidade é fixada aos incisivos centrais superiores por meio de fio de amarrilho. Ainda, é utilizada resina composta para criar uma retenção adicional (FRACALOSSI et al., 2009).

Como essa abordagem envolve um dente em erupção contínua, é difícil ou impossível manter uma força padronizada durante o período experimental. Consequentemente, existem dúvidas quanto à interpretação dos resultados com este método (REN et al., 2004; AMARAL, 2010).

Diante disso, é importante o desenvolvimento de um modelo experimental com o uso de ancoragem esquelética em animais para que o mesmo seja avaliado quanto aos possíveis benefícios para análise de alterações histológicas nos tecidos dentais e periodontais.

2 JUSTIFICATIVA

Grande parte dos estudos de movimentação dentária induzida em ratos *Wistar* utilizam incisivos superiores como ancoragem. No entanto, como estes dentes nesta espécie animal possuem erupção contínua, a posição do dispositivo se mantém incerta, uma vez que a força não se mantém estável, resultando em uma ancoragem menor. Este fato gera possíveis vieses quando a avaliação da movimentação ortodôntica é realizada em ratos, o que pode comprometer significativamente os resultados dos experimentos. A utilização de ancoragem esquelética em estudos em animais são muito escassos na literatura, uma vez que não existe uma padronização quanto ao dispositivo de ancoragem e à espécie animal a ser empregada.

Portanto, faz-se necessário o desenvolvimento de um modelo válido para realização de estudos experimentais com ancoragem esquelética, a fim de possibilitar metodologias que possibilitem a obtenção de resultados mais confiáveis na mensuração da taxa de movimentação do molar superior esquerdo no sentido mesial e a análise dos parâmetros morfológicos e histológicos dos tecidos dentários, ósseos e periodontais decorrentes da MDI sem os efeitos indesejáveis da perda de ancoragem.

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Estabelecer um modelo experimental para MDI em ratos com ancoragem esquelética com força controlada e estabilizada.

3.2. Objetivos específicos

- Mensurar o movimento dentário resultante da MDI em diferentes períodos;
- Medir a distância microscópica entre primeiro e segundo molar resultantes da MDI;
- Identificar as alterações histológicas na microestrutura óssea, no ligamento periodontal e no complexo dentinopulpar do molar superior esquerdo decorrentes da MDI nos dois períodos de movimentação;
- Comparar o grau de remodelação ocorrida nos os tecidos ósseos, periodontais e complexo dentinopulpar do molar superior esquerdo decorrentes da MDI em diferentes períodos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais

A amostra desse trabalho foi constituída de 20 ratos machos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus, albinus*), com peso entre 180 e 220 gramas, adquiridos no Biotério do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM). Durante todo o procedimento experimental os animais permaneceram acondicionados em gaiolas acrílicas transparentes contendo cada uma 3 a 5 animais. Cada gaiola com microisoladores, climatizadas e com controle da qualidade do ar, foi forrada com serragem e os animais possuíam acesso a comida *ad libitum* e a água, em temperatura de 24° C e ciclos de claro/escuro de 12 horas. Após a instalação do dispositivo para MDI os animais receberam a mesma ração, porém triturada durante as primeiras 48 horas para que os mesmos realizassem menor esforço mastigatório.

4.2. Delineamento do estudo

Os animais foram divididos de modo randomizado em dois grupos, o grupo submetido à MDI por um período de 7 dias (n=11) e outro por um período de 14 dias (n=10). O primeiro molar superior esquerdo de cada animal foi movimentado no sentido mesial com 50

gF de força. O primeiro molar superior direito dos animais não recebeu força ortodôntica, sendo utilizado como controle (GC) (n=21).

Cada animal recebeu um mini-implante ortodôntico instalado 2 mm distal do incisivo superior direito, que funcionou como unidade de ancoragem esquelética para o movimento mesial do primeiro molar superior esquerdo (KAMEYAMA et al., 2002).

Nos períodos de 7 e 14 dias após aplicação das forças ortodônticas, os animais de cada grupo foram submetidos à eutanásia por sobredosagem anestésica. Ainda, as hemiarcadas foram analisadas macroscopicamente, e em seguida, foram removidas para posterior análise histológica (FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ et al., 2012).

4.3. Instalação e ativação do mini-implante

Antes da instalação do dispositivo para realizar a MDI, os animais foram anestesiados, por via intraperitoneal, com uma combinação de Cloridrato de Quetamina 90mg/Kg, anestésico geral injetável, e Cloridrato de Xilasina 10mg/Kg, relaxante muscular e analgésico. Sob anestesia, um abridor de boca foi instalado com a finalidade de facilitar o acesso à cavidade bucal do animal durante os procedimentos operatórios. Como alguns estudos mostraram que anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) interferem na movimentação dentária, nenhum fármaco foi administrado no período pós-operatório para o controle de dor (AKHOUNDI et al, 2010; KNOP et al., 2012; CORREA et al., 2017).

O sistema de força aplicado nos dois grupos foi composto de duas seções de fio de amarelo 0,020” (Morelli®, Sorocaba, SP) e uma mola fechada de níquel-titânio (NiTi) 6 mm (Morelli®, Sorocaba, SP).

Em ambos os grupos um segmento de fio de amarelo de 0,020” com aproximadamente 7 cm de comprimento foi inserido abaixo da ameia distal do primeiro molar superior esquerdo com o auxílio de uma porta-agulha Mathieu (Golgran®), no sentido de lingual para vestibular, e a bochecha do animal foi afastada com auxílio de uma pinça clínica. O fio circundou toda a região cervical ao redor do primeiro molar superior esquerdo para fixar uma das extremidades da mola e a seguir foi trefilado.

Um mini-implante autoperfurante com diâmetro de 1,4mm e comprimento de 6,0mm sem perfil transmucoso (SIN® POT 1406) foi instalado 2 mm distal do incisivo superior direito com auxílio de uma chave de mão (SIN® CDM 02) e chave de mão para micro parafusos (SIN® CMPO 70). A extremidade livre da mola de seção fechada, que foi instalada no primeiro molar superior esquerdo, como descrito anteriormente, foi presa com fio de amarelo passando pelo orifício presente na cabeça do dispositivo de ancoragem e em seguida trefilado.

Em ambos os grupos o mini-implante recebeu carga imediata com ativação da mola com uma força de 50gF, mensurada por meio de um dinamômetro ortodôntico de forças leves, que mede forças no intervalo de 25gF a 250gF (Morelli®, Sorocaba, SP. Referência: 427172) (Figura 1).

Finalizada a instalação do dispositivo, os animais foram monitorados quanto a hipotermia e os sinais vitais aferidos até sua completa recuperação anestésica. Posteriormente, os animais foram acomodados novamente em suas caixas. Os animais receberam ração em pó nas primeiras 48 horas após o procedimento de instalação dos dispositivos para MDI.

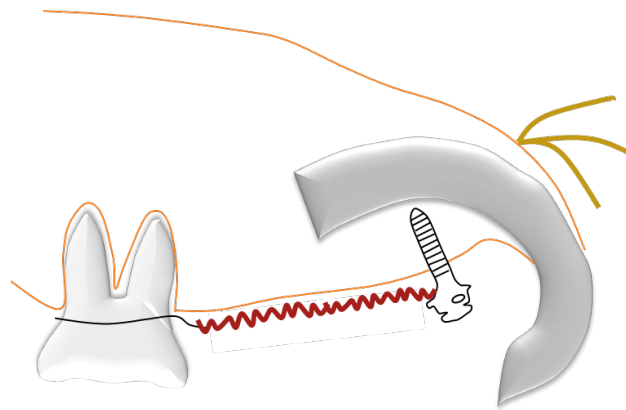


Figura 1. Desenho esquemático do modelo de movimentação dentária induzida com ancoragem em mini-implantes. Fonte: Adaptado de Kawazoe et al. (2012)

4.4. Parâmetro de mensuração da peça *ex-vivo*

A análise da peça *ex-vivo* foi realizada pela comparação das distâncias entre a face mesial do primeiro molar superior esquerdo e o mini-implante. A fim de observar a ancoragem e fixação dos MIs, foram verificadas as distâncias entre o incisivo superior direito e o MI. As mensurações foram executadas por um único examinador calibrado de forma cega, através de um paquímetro digital (Messen®) (MARQUEZAN; BOLOGNESE; ARAÚJO, 2010; CHOI et al, 2009).

4.5. Confeção das lâminas histológicas

Após o período experimental, foi realizada a eutanásia dos animais com sobredosagem de solução anestésica de Quetamina e Xilasina. As maxilas foram removidas e seccionadas na sutura palatina para obtenção das hemiarcadas prontamente identificadas em

direita (controle) e esquerda (experimental) que foram imediatamente fixadas em formol 10% neutro durante um período de 24 horas.

Com uma lâmina de aço, foram realizados cortes para redução de tecido excedente das peças, sendo, inicialmente, a porção dos maxilares contendo os incisivos cortada e descartada, obtendo-se uma amostra composta apenas por fragmentos contendo os três molares superiores em ambos os lados. Estes fragmentos foram submetidos à descalcificação em suspensão de EDTA 10% por 30 dias, com trocas semanais da solução desmineralizante. Após este período de descalcificação, um corte no lado vestibular e paralelo ao longo eixo dos molares superiores foi realizado e as amostras foram processadas. Após o processamento as peças foram incluídas em parafina com a superfície vestibular voltada para o plano da microtomia. Os blocos de parafina foram seccionados em micrótomo semiautomático (Leica®), com cortes de 4 µm de espessura para confecção de lâminas histológicas coradas com hematoxilina-eosina de Haris. Após a montagem da lamínula de vidro e secagem as lâminas armazenadas numa caixa própria. As lâminas foram analisadas com o auxílio de microscópio óptico (Olympus® CX41), conforme protocolo adaptado de Junqueira e Junqueira, 1993.

4.6. Análise histológica

A análise histológica foi realizada no Laboratório de Patologia Bucal do Departamento de Clínica Odontológica da UFC, onde foram observadas e descritas as características histológicas detectadas em cada tempo da movimentação dentária. O espaço decorrente da movimentação dentária, compreendido entre o primeiro e o segundo molar superior esquerdo, foi mensurado através de uma régua histológica (Zeiss®) calibrada com 1 mm. Além disso, os primeiros molares superiores esquerdos foram examinados para diagnosticar o estado pulpar e periodontal de acordo com os seguintes achados (Adaptado de Fracalossi et al. (2009).

Fenômenos pulpares

- Desorganização da camada odontoblástica
- Vacuolização celular
- Edema
- Congestão vascular
- Hemorragia

- Infiltrado inflamatório (leucocitário com polimorfonucleares neutrófilos e mononucleares)

Foram atribuídos escores de acordo com a intensidade dos achados pulpares, sendo eles:

- 0: sem alterações pulpares (organização da camada de odontoblastos, formação de pré-dentina, congestão vascular ocasional, presença de células fusiformes).
- 1: desorganização da camada de odontoblastos, vacuolização celular, discreta congestão vascular, leve edema.
- 2: desorganização da camada de odontoblastos, vacuolização celular, moderado edema, moderada congestão vascular, hemorragia, presença de discreto a moderado infiltrado inflamatório.
- 3: desorganização da camada de odontoblastos, vacuolização celular, moderada a intensa congestão vascular, intenso edema, presença de intenso infiltrado inflamatório.

Fenômenos periodontais

- Congestão vascular
- Hemorragia
- Infiltrado inflamatório neutrofilo e/ou mononuclear
- Reabsorção óssea com ou sem visualização de osteoclastos
- Hialinização do ligamento periodontal
- Reabsorção dentinária e/ou cementária

Os escores periodontais foram atribuídos de acordo com a intensidade dos achados mencionados acima:

- 0: Ausência de alterações periodontais (fibras colágenas íntegras, crista óssea preservada, ocasionais vasos ectásicos, epitélio juncional constituído por poucas camadas celulares).
- 1: Migração e discreta hiperplasia do epitélio juncional, presença de discreto infiltrado de células mononucleares, preservação parcial e superficial das fibras colágenas, reabsorção parcial da crista óssea, ocasionais vasos ectásicos.
- 2: Migração e hiperplasia do epitélio juncional, presença de discreto a moderado infiltrado neutrofílico e de células mononucleares, destruição parcial das fibras colágenas, hialinização do ligamento periodontal, reabsorção óssea com ou sem visualização de osteoclastos, vasos ectásicos.

- 3: Migração e hiperplasia do epitélio juncional, presença de moderado a intenso infiltrado neutrofílico e de células mononucleares, destruição das fibras colágenas, hialinização do ligamento periodontal, reabsorção óssea com ou sem visualização de osteoclastos, vasos ectásicos, hemorragia, reabsorção dentinária e/ou cementária.

4.7. Análise estatística

Os dados foram submetidos os testes de normalidade de Kolmogotov-Smimov. Os dados paramétricos foram apresentados como média \pm EPM e foram avaliados pela Análise de Variância (ANOVA) seguida de pós-teste de Bonferroni. Os dados não paramétricos foram apresentados como mediana seguida de seus valores extremos, e foram aplicados os Testes de Kruskall-Wallis e Dunn. As medidas de animais obtidas antes e após a instalação da mola foram submetidas ao teste t pareado. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$. O software utilizado foi o GraphPad Prism® 6.0.

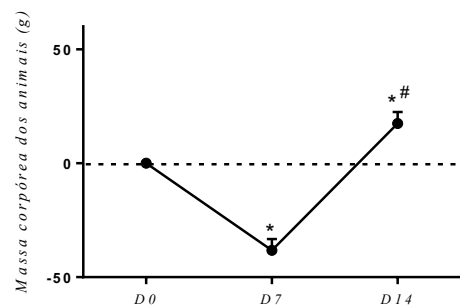
4.8. Aspectos éticos

A realização dos experimentos foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob número 7763310118 (ANEXO) e respeitou todas as diretrizes experimentais, buscando minimizar o sofrimento dos animais, causando danos mínimos. Como medicamentos anti-inflamatórios não esteroidais têm sido relatados na literatura como agentes capazes de interferir na movimentação dentária (KNOP et al., 2012), não utilizamos nenhuma medicação que fosse capaz de inibir a remodelação óssea na movimentação.

5. RESULTADOS

Nenhum dos animais apresentou complicações pós-operatórias, permanecendo saudáveis durante todo o experimento e não houve infecções perceptíveis em mucosa ou perda do dispositivo de ancoragem esquelética. No que concerne à massa corpórea dos animais, houve uma perda significativa ($p < 0,0001$) no período de 7 dias, entretanto, em 14 dias, o peso foi recuperado e houve um aumento significativo em relação ao período inicial da instalação da mola ($p = 0,0076$) (Gráfico 1).

Gráfico 1. Diferença de massa corpórea dos animais no dia da instalação da mola e do mini implante (D0), e após 7 e 14 dias

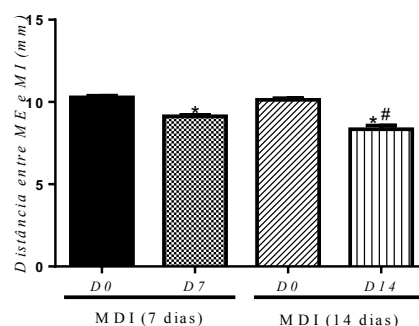


* $p < 0,05$ em relação a D0 (instalação da mola); # $p < 0,05$ em relação a 7 dias. ANOVA e pós-teste de Bonferroni.

A mensuração da distância em milímetros entre o primeiro molar superior esquerdo e o mini-implante foi realizada através de um paquímetro digital. Essas medidas foram comparadas antes da instalação da mola (D 0) e no momento da eutanásia nos dias 7 ($9,13 \pm 0,12$) e 14 ($8,34 \pm 0,22$). Houve uma diferença estatisticamente significante, quando comparado os grupos submetidos à movimentação, em relação ao período inicial ($p < 0,0001$).

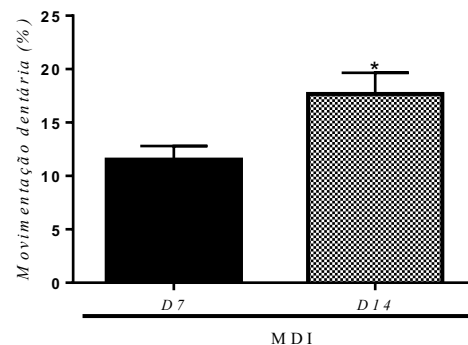
Ainda, entre os tempos de 7 e 14 dias, houve uma redução significativa da distância, caracterizando a mesialização do molar superior esquerdo ($p = 0,0052$) (Gráfico 2). Quando avaliada em porcentagem a movimentação do molar foi ($11,08 \pm 1,23$)% maior em 7 dias e ($17,68 \pm 1,97$)% maior aos 14 dias (Gráfico 3).

Gráfico 2. Distância entre molares esquerdos e mini-implantes em milímetros.



Após 7 ou 14 dias os animais foram submetidos à eutanásia, e foi obtido a distância em milímetros por meio de paquímetro digital. Teste t pareado * $p < 0,05$ em relação à D0 (dia da instalação da mola) # $p < 0,05$ em relação a 7 dias.

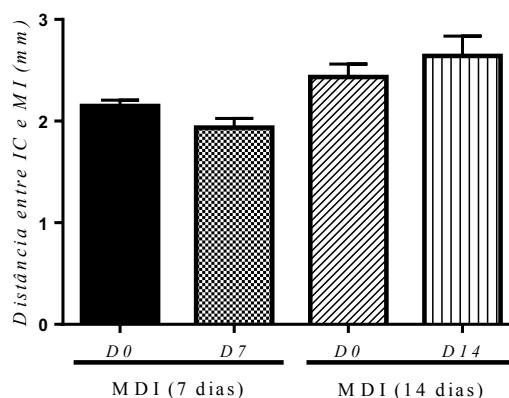
Gráfico 3. Movimentação dentária em porcentagem dos molares esquerdos de animais, os quais foram submetidos à eutanásia em 7 e 14 dias.



* $p < 0,05$ em relação à D7. Teste t não pareado.

A movimentação do dispositivo de ancoragem esquelética foi calculada pela distância entre a face distal do incisivo superior direito e o mini-implante. Houve mudança nas distâncias após 7 ($1,93 \pm 0,09$) e 14 dias ($2,64 \pm 0,19$), porém não foram estatisticamente significantes ($p > 0,05$), em relação ao período inicial da MDI (Gráfico 4). Logo, não foi considerada uma perda importante da ancoragem do dispositivo.

Gráfico 4. Distância entre incisivos centrais e mini-implantes em milímetros.

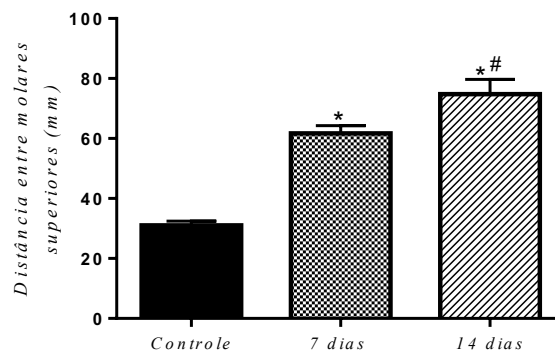


Após 7 ou 14 dias os animais foram submetidos à eutanásia, e foi obtido a distância em milímetros por meio de paquímetro digital. Teste t pareado entre o D0 (instalação da mola), D7 e D14.

A amplitude do movimento dentário utilizando régua histológica (Zeiss®) confirmou os achados da mensuração da mesialização do molar em relação mini-implante. Houve movimentação estatisticamente significativa do primeiro molar superior esquerdo no sentido mesial em 7 e 14 dias. A distância inicial correspondeu a ($31,06 \pm 1,41$) μ m. Em 7 dias,

houve um aumento significativo para $(61,71 \pm 2,59) \mu\text{m}$ ($p < 0,0001$), e no 14º dia, obteve-se uma medida de $(74,75 \pm 4,94) \mu\text{m}$, a qual foi significativamente maior, em relação ao controle ($p < 0,0001$) e ao período de 7 dias ($p = 0,0438$) (Gráfico 5).

Gráfico 5. Mensuração da distância entre as junções cimento-esmalte dos primeiros e segundos molares superiores, utilizando a régua histológica (Zeiss®).



ANOVA e pós-teste de Bonferroni. * $p < 0,05$ em relação à instalação da mola; # $p < 0,05$ em relação a 7 dias.

A análise histológica, realizada por meio da análise da região interproximal entre primeiros e segundos molares e da região interradicular do primeiro molar, mostrou no grupo controle integridade dos tecidos dentários e periodontais, o que classifica todos os espécimes no escore pulpar e periodontal 0. As seguintes características de normalidade foram observadas, presença de epitélio juncional intacto, com poucas camadas celulares, fibras colágenas íntegras, crista óssea preservada e ocasionais vasos ectásicos. Na polpa, visualizou-se pré-dentina formada, camada de odontoblastos organizada, presença de células fusiformes e congestão vascular esporádica.

Nos períodos experimentais de 7 e 14 dias observou-se que ocorreu em ambos os grupos migração e hiperplasia do epitélio juncional, infiltrado neutrofílico que variou de discreto/moderado a moderado/intenso, destruição de fibras colágenas, hialinização do LP, reabsorção óssea com ou sem visualização de osteoclastos, vasos ectásicos, hemorragia e reabsorção cementária e/ou dentinária. Sendo particularmente importante a grande reabsorção encontrada na região mesial da raiz distovestibular. A classificação em escores periodontais não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos sendo que houve variação das características entre os escores 2 e 3.

Quando observado os parâmetros pulpares a intensidades dos achados variou entre os as características que compõem os escores 1 e 2. A desorganização da camada odontoblástica

foi observada em todos os animais do grupo experimental, assim como a vacuolização celular, congestão vascular e edema. Em alguns animais também foi observada hemorragia e presença de discreto a moderado infiltrado inflamatório. Não foi encontrado em nenhum dos animais sinais intensos de inflamação pulpar. Em apenas um animal no grupo controle foi encontrada calcificação distrófica.

A análise estatística mostrou que houve diferença significativa dos escores atribuídos aos parâmetros pulpares e periodontais entre o grupo controle e os grupos experimentais, porém a diferença entre os grupos experimentais de 7 e de 14 dias não foi estatisticamente significativa embora a mediana do grupo com MDI de 14 dias fosse menor que a do grupo 7 dias (Tabela 1).

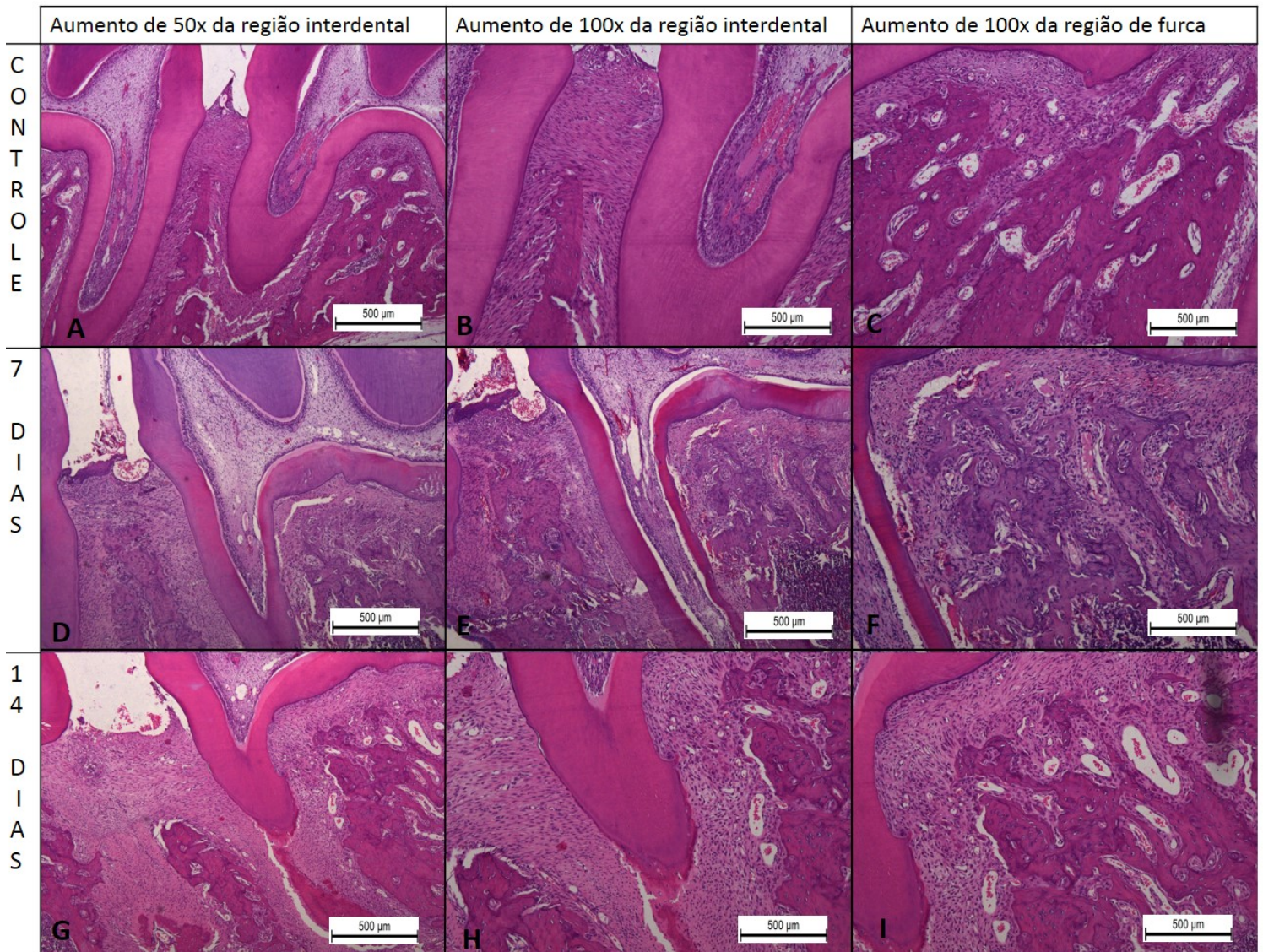
Tabela 1 – Escores histológicos referentes aos parâmetros pulpares e periodontais da movimentação dentária com ancoragem esquelética.

Parâmetros	Polpa	Periodonto
Grupos		
Controle	0 (0-0)	0 (0-0)
MDI (7 dias)	2 (1-2)*	3 (2-3)*
MDI (14 dias)	1 (1-2)*	3 (2-3)*

Na eutanásia, foram obtidas lâminas histológicas, e a partir da observação destas, foi obtido escores de acordo com os parâmetros analisados na polpa e no periodonto. Os valores representam mediana, seguido dos valores máximos e mínimos dos escores de hemiarçadas direitas (controle), e de hemiarçadas submetidas à movimentação dentária em 7 dias e 14 dias.

*p<0,05 em relação ao Controle. Teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn.

Figura 2. Fotomicrografias do corte longitudinal das hemiarcadas do lado direito, grupo controle (imagens A, B e C) e do lado esquerdo nos períodos de 7 (imagens D, E e F) e 14 dias (G, H e I). Aumento de 50x da região interproximal dos molares superiores (imagens A, D e G). Aumento de 100x da região interproximal dos molares superiores (imagens B, E e H). Aumento de 100x da região de furca dos primeiros molares superiores (imagens C, F e I).



6. DISCUSSÃO

O desenvolvimento de uma sistema de ancoragem é particularmente importante na Ortodontia, pois uma vez que uma força é aplicada a um dente ou grupo de dentes, uma força oposta de igual intensidade é gerada. O sistema de mini-implantes é um método de ancoragem amplamente empregado para suprir o efeito das forças reativas indesejáveis. Estes dispositivos resistem às forças que variam entre 50 e 250 gF e são estáveis quando forças horizontais ou verticais são aplicadas, desde que essas ativações causem momentos rotacionais mínimos (COSTA; RAFFAINI; MELSEN, 1998).

Embora a retenção mecânica seja o principal fator para estabilidade, este dispositivo pode receber carga imediata (LIN et al., 2010; MELSEN; COSTA, 2000) ou após um período de cicatrização de 2 semanas (COUSLEY, 2012). Outros autores apontam que a carga aplicada durante as primeiras 2 semanas de tempo de cicatrização danificaria a estabilidade do mini-implante, sendo somente após 4 semanas, a fixação do mini-implante ao osso, forte o suficiente para suportar sua ativação (WU; BAI; WANG, 2009).

O desenvolvimento do modelo de MDI com ancoragem em mini-implantes em ratos mostrou evidências que este dispositivo pode ser usado como meio para fornecer uma ancoragem eficaz com um nível de força ideal para obtenção do movimento dentário e estatisticamente significativo (KAMEYAMA et al., 2002; KAMEYAMA et al., 2003; KAPAITUR et al., 2014), ainda que a ancoragem com mini-implante não seja absoluta, podendo sofrer deslocamentos e decréscimo na quantidade da força (KAPAITUR et al., 2014)

Nossos resultados mostraram que houve um deslocamento mesial do primeiro molar superior esquerdo, com elevada taxa de sucesso, semelhante a obtida por Fernández-Gonzales et al. (2016) no período de 14 dias e superior a encontrada por Kaipatur et al. (2014). Os nossos resultados mostraram que houve uma mudança, embora não significativa, na posição do dispositivo de ancoragem. Esse achado está em concordância com outros autores, cuja análise de elementos finitos em MDI com ancoragem esquelética em ratos *Sprague-Dawley* detectou o deslocamento do dispositivo de ancoragem de 0,014 mm do dia zero à 4^a semana, não sendo estatisticamente significante (KAPAITUR et al., 2014). Isto pode ser explicado pela ativação com carga imediata no osso pouco denso do animal, uma vez que foi demonstrado que a ancoragem é criticamente dependente do osso peri-implantar (GABET et al., 2010).

Quanto à aplicação de força utilizada, vários estudos divergem quanto à ativação melhor deste dispositivo. Os trabalhos com ancoragem esquelética mostram forças variáveis entre 2 (KAMEYAMA et al., 2002) a 50 gF (FERNANDEZ-GONZÁLES et al., 2016; MATSUMOTO; SRINGKARNBORIBOON; ONO, 2017). Neste trabalho, a força de 50 gF foi usada para produzir o movimento mesial do molar, pois é uma força consolidada em outros estudo com MDI tanto os que usaram ancoragem esquelética (FERNANDEZ-GONZÁLES et al., 2016; MATSUMOTO; SRINGKARNBORIBOON; ONO, 2017) quanto os que usaram ancoragem dentária (NAKANO et al., 2011; COUGHI et al., 2014; RÖMER et al., 2014). A eficácia da força aplicada foi demonstrada pela mesialização significativa nos dois períodos de movimentação dentária, e pelas alterações microscopicamente observáveis nos tecidos periodontais, incluindo a significativa hialinização e reabsorção óssea e radicular.

Sabe-se que a movimentação dentária pode promover efeitos no periodonto de proteção e sustentação, uma vez que interfere nos processos de remodelação óssea e inflamatórios. Embora os efeitos pulpares decorrentes da MDI não estejam totalmente elucidados, sugere-se que a força ortodôntica durante a movimentação dentária pode induzir a hipóxia pulpar que ativam respostas adaptativas e gerar processo inflamatório (RÖMER et al., 2014). Os traumas transitórios gerados em decorrência da MDI podem gerar respostas pulpares evidenciada por invasão de macrófagos, proliferação celular, alterações vasculares, desorganização da camada de odontoblasto (GRUNHEIN, MORBACH, ZENTENER, 2007; SANTAMARIA JR et al., 2007; VON BONL et al., 2012; YU et al., 2016) e calcificações pulpares (KINDELAN et al., 2014).

Massaro et al. (2009) avaliaram alterações pulpares ao longo de 7 dias de MDI com ancoragem nos incisivos superiores de ratos *Wistar*. Os autores não encontraram na polpa sinais degenerativos ou inflamatórios, não houve espessamento da camada pré-dentinária e sinais morfológicos que pudessem mostrar qualquer efeito pulpar, embora ocasionalmente visualizassem vacuolização celular e perda de continuidade da camada de odontoblastos.

A análise histológica do presente estudo mostrou reações pulpares inflamatórias que variaram de leves à moderados em ambos os grupos experimentais em relação ao grupo controle. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os parâmetros pulpares entre os grupos experimentais, contudo a mediana variou entre eles, sendo 2 para o grupo de MDI em 7 dias e 1 para o grupo de MDI em 14 dias. Von Böhl et al. (2014) também não encontraram diferenças histológicas significativas entre a 1ª e 2ª semanas de MDI, sendo a presença de células inflamatórias no tecido pulpar, assim como número e diâmetro dos vasos sanguíneos, maiores no grupo experimental do que no grupo controle. Neste trabalho, foi

possível visualizar formação de pré-dentina, desorganização da camada de odontoblastos e vacuolização celular, congestão vascular e edema, que variaram de leve a moderado, hemorragia e presença de discreto a moderado infiltrado inflamatório.

Não encontramos em nossos resultados necrose ou calcificação pulpar decorrente da MDI com ancoragem esquelética no período de 7 e 14 dias, resultado semelhante ao encontrado por Consolaro, Consolaro (2018).

Forças mecânicas frequentemente causam a hialinização, culminando em uma necrose no ligamento periodontal e reabsorção radicular e óssea (ARIFFIN et al., 2011). Estudos também mostraram que, o aumento da força não aumenta a movimentação dentária, porém pode aumentar a taxa de reabsorção radicular. Além do mais, uma maior reabsorção radicular aparece com o uso de forças ortodônticas mais pesadas, com distorções do arranjo normal de fibras periodontais (NAKANO et al., 2015; VON BOHL et al., 2004).

Este evento envolve diferenciação, fusão e ativação de osteoclastos recrutados e ativados pelo aumento da produção de citocinas inflamatórias no ligamento periodontal, devido ao estresse mecânico ou necrose do ligamento periodontal. Um estudo de MDI com ancoragem em mini-implante, usando uma força de 10gF, mostrou reabsorção radicular, relacionada ao estresse mecânico contínuo e hialinização do ligamento periodontal (KAMEYAMA et al., 2003).

Ainda, foi visualizada reabsorção óssea com atividade osteoclástica no lado mesial da raiz distovestibular do primeiro molar superior esquerdo, correlacionando-se bem com a direção do movimento. Achado semelhante foi encontrado por Bakathir et al. (2016), em um estudo com MDI e ancoragem dentária no período de 14 dias. Um estudo que usou a mesma força para produzir o movimento mesial, em um modelo de MDI com ancoragem em incisivos, encontrou áreas de reabsorção notórias no período de 7 dias. Essas zonas reabsortivas aumentaram de maneira significativa até o 10º dia e diminuíram no 14º dia (ZHOU et al., 2018). Isto sugere que após o 10º dia de MDI com ancoragem em incisivos ocorre um decréscimo na movimentação dentária. Outro estudo, que usou 20 gF de força para produzir o movimento mesial do molar com ancoragem em mini-implante, não observou reabsorção radicular, porém identificou migração para apical do epitélio juncional na área de compressão (KAWAZOE et al., 2013).

No estudo com MDI ancorada em mini-implante realizado por Fernandez-González et al. (2016), sinais inflamatórios no epitélio juncional e grandes compartimentos de remodelação óssea contendo osteoclastos foram observados na zona de compressão, sendo

raramente encontrados na zona de tensão, sendo a movimentação significativa em 7, 14 e 21 dias.

Enquanto os estudos com MDI com ancoragem dentária mostra uma redução na movimentação do molar, o modelo de MDI com ancoragem em mini-implantes, parece prolongar o tempo de movimentação dentária, assemelhando-se mais com o ciclo de 21 dias de movimentação dentária em humanos. Nossos resultados mostraram a ocorrência de mesialização significativa em 14 dias, outros estudo como os de Kapaitur et al. (2013) e Fernández-González et al. (2015) mostraram movimento apreciável em 8 e 3 semanas respectivamente.

A ancoragem esquelética em ratos *Wistar* é uma alternativa viável, visto que a quantidade da mesialização do molar superior foi estatisticamente significativa com uma taxa de sucesso absoluta após instalação do dispositivo de mini-implante em duas semanas, embora o dispositivo tenha mudado de posição, essa não foi estatisticamente significando. Além disso, foi possível observar reabsorção cementária e óssea com presença de osteoclastos na zona de compressão. As alterações teciduais pulpare foram limitadas a eventos hemodinâmicos, sem evoluir para degeneração irreversível, independentemente do tempo de movimentação.

7. CONCLUSÃO

O modelo de MDI com ancoragem em mini-implante é eficiente, tem reprodutibilidade e apresenta mesialização significativa do primeiro molar superior esquerdo. As alterações histológicas verificadas no ligamento periodontal não variaram entre os dois tempos de movimentação. Não houve envolvimento pulpar decorrente da MDI nos tempos avaliados.

ANEXOS 1



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Estudo morfológico e imunohistoquímico de dois tipos diferentes de ancoragem em modelo experimental para a movimentação dentária induzida em ratos", protocolada sob o CEUA nº 7763310118 (00000000), sob a responsabilidade de **Ana Paula Negreiros Nunes Alves** e equipe; Ilanna Mara Gomes Estanislau; Vilana Maria Adriano Araújo - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 27/03/2018.

We certify that the proposal "Morphological and immunohistochemical study of two different types of anchorage in an experimental model for induced tooth movement in rats", utilizing 66 Heterogenics rats (66 males), protocol number CEUA 7763310118 (00000000), under the responsibility of **Ana Paula Negreiros Nunes Alves** and team; Ilanna Mara Gomes Estanislau; Vilana Maria Adriano Araújo - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 03/27/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **03/2018** a **01/2020** Área: **Departamento de Clínica Odontológica**

Origem: **Biotério Central da UFC**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **2 a 4 meses**

N: **66**

Linhagem: **Wistar**

Peso: **180 a 220 g**

Local do experimento: Os procedimentos de instalação dos dispositivos de ancoragem para movimentação dentária induzida (MDI) serão realizados no centro cirúrgico do Núcleo de Pesquisa em Medicamentos (NPPM). Após a eutanásia dos animais suas maxilas serão submetidas a análise histopatológica no Laboratório de Patologia Bucal do Departamento de Clínica Odontológica da UFC.

Fortaleza, 04 de abril de 2018

Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Virginia Cláudia Carneiro Girão

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará

REFERÊNCIAS

AKHOUNDI, M.S.; DEHPOUR, A.R.; RASHIDPOUR, M.; ALAEDDINI, M.; KHARAZIFARD, M.J.; NOROOZI, H. The effect of morphine on orthodontic tooth movement in rats. **Aust Orthod J.**, v.26, n.2, pp.113-118, 2010.

AMARAL, C.F. Análise da organização de colágeno no ligamento periodontal de incisivos de ratos sob condições funcionais normal e hipofuncional. Monografia de conclusão de curso – Faculdade de Odontologia de Pircicaba. São Paulo, 2010.

ARIFFIN,S.H.Z.; YAMAMOTO, Z.; ABIDIN, L.Z.Z.; ROHAYA MEGAT ABDUL WAHAB, R.M.A.; ARIFFIN, Z.Z. Cellular and Molecular Changes in Orthodontic Tooth Movement. **The Scientific World J**, v.11, pp. 1788–1803, 2011.

BAKATHIR, M.A.; LINJAWI, A.I.; OMAR, S.S.; ABOQURA, A.B.; HASSAN, A.H. Effects of nicotine on bone during orthodontic tooth movement in male rats. Histological and immunohistochemical study. **Saudi Med J**. v.37, n.10, pp. 1127-35, 2016.

BALOUL, S.S. Osteoclastogenesis and Osteogenesis during Tooth Movement.**Front Oral Biol.**, v. 18, pp.75-79, 2016.

BROOKS, P. J.; NILFOROUSHAN, D.; MANOLSON, M. F.; SIMMONS, C. A.; GONG, S. G. Molecular markers of early orthodontic tooth movement, **Angle Orthodontist**, v. 79, n. 6, pp. 1108–1113, 2009.

CHOI, J.H.; PARK, C.H.; YI, S.W.; LIM, H.J.; HWANG, H.S. Bone density measurement in interdental areas with simulated placement of orthodontic miniscrew implants. **Am J Orthod Dentofacial Orthop.**, v. 136, n. 6, pp. 766.e1–766.e12, 2009.

COHEN, K.M. Hargreaves Pathways of the Pulp (9th ed.), **Mosby, St Louis**, pp. 464-486, 2006.

CONSOLARO, A.; CONSOLARO, R.B. There is no pulp necrosis or calcific metamorphosis of pulp induced by orthodontic treatment: biological basis. **Dental press journal of orthodontics**, v. 23, n. 4, pp. 36-42, 2018.

CORRÊA, A.S.; ALMEIDA, V.L.; LOPES, B.M.V.; FRANCO A.; MATOS, F.R.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; RODE, S.M.; PARANHOS, L.R. The influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol used for pain control of orthodontic tooth movement: a systematic review. **An Acad Bras Cienc.**, v. 89, n. 4, pp. 2851-2863, 2017.

COSTA, A.; RAFFAINI, M.; MELSEN, B. Miniscrews as orthodontic anchorage: a preliminary report. **Int J Adult Orthod Orthognath Surg**, v.13, pp. 201-209, 1998.

COUSLEY, R.R.J. Changing the face of orthodontics with mini-implants. **Faculty Dent J**, v.3, pp. 34-41, 2012.

D'APUZZO, F.; CAPPABIANCA, S.; CIAVARELLA, D.; MONSURRÒ, A.; ARMANDO SILVESTRINI-BIAVATI, A.; PERILLO, L. A.; COZZA, P.; GERAMY, A. Biomarkers of Periodontal Tissue Remodeling during Orthodontic Tooth Movement in : Overview and Clinical Relevance. **The Scientific World Journal**, v. 2013, pp.1-8, 2013.

DOLCE, C.; SCOTT MALONE, J.; WHEELER, T. T. Current concepts in the biology of orthodontic tooth movement, **Seminars in Orthodontics** , v. 8, n. 1, pp. 6-12, 2002.

FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, F.J.; CAÑIGRAL, A.; LÓPEZ-CABALLO, J.L.; BRIZUELA, A.; COBO, T.; CARLOS, F.; SUAZO, I.; PÉREZ-GONZÁLEZ, Y.; VEGA, J.A. Recombinant osteoprotegerin effects during orthodontic movement in a rat model. **European Journal of Orthodontics**, v. 38, n. 4, pp. 379-385, 2016.

FRACALOSSO, A. C. C.; SANTAMARIA, J. R. M.; CONSOLARO M. F. M. O.; CONSOLARO, A. Movimentação dentária experimental em murinos: período de observação e plano dos cortes microscópicos. **Rev. Dent. Press Ortodon. Ortop. Facial**, v. 14, n. 1, pp.143-157, 2009.

GABET, Y.; KOHAVI, D.; VOIDE, R.; MUELLER, T.L.; MÜLLER, R.; BAB, I. Endosseous implant anchorage is critically dependent on mechanostructural determinants of peri-implant bone trabeculae. **J Bone Miner Res.**, v.25, n.3, pp. 575-83, 2010.

GRÜNHEID, T.; MORBACH, B.A.; ZENTNER, A. Pulpal cellular reactions to experimental tooth movement in rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 104, pp.434-441, 2007.

HELLER, I.J.; NANDA, R. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontic tooth movement. An experimental study. **Am. J. Orthod.**,v. 75, n. 3, p. 239-258, Mar. 1979.

IBRAHIM, A.Y.; GUDHIMELLA, S.; PANDRUVADA, S.N.; HUJA, S.S. Resolving differences between animal models for expedited orthodontic tooth movement. **Orthod Craniofac Res.**, v. 1, pp. 72-76, 2017.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo: Santos Editora, pp.50-75, 1983.

KAIPATUR, N.; MAJORA, P.; STEVENSONB, T.; PEHOWICHB, D.; ADEEBC, S.; DOSCHAKD, M. Impact of selective alveolar decortication on bisphosphonate burdened alveolar bone during orthodontic tooth movement. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**. v.144, pp.557-67,2013., v. 60, pp. 1681–1689, 2015.

KAIPATUR,N., WU, Y.; ADEEB, S.; STEVENSON, T.; MAJOR, P.; DOSCHAK, M. A Novel Rat Model of Orthodontic Tooth Movement Using Temporary Skeletal Anchorage Devices: 3D Finite Element Analysis and In Vivo Validation. **International Journal of Dentistry**, pp.1-11, 2014.

KAKU, M.; MOTOKAWA, M.; TOHMA, Y.; TSUKKA, N.; KOSEKI, H.; SUNAGAWA, H.; HERNANDES, R.A.M.; OHTANI, J.; FUJITA, T.; KAWATA, T.; TANNE, K. VEGF and M-CSF levels in periodontal tissue during toothmovement. **Biomedical Research**, v. 29, n. 4, pp. 181–187, 2008.

KAMEYAMA, T.; MATSUMOTO, Y.; WARITA, H.; OTSUBO K.; SOMA, K. A mechanical stress model applied to the rat periodontium. Using controlled magnitude and direction of orthodontic force with an absolute anchorage. **Oral Med Pathol.**, v. 7, pp.1-7, 2002.

KAMEYAMA, T.; MATSUMOTO, Y.; WARITA, H.; SOMA, K. Inactivated periods of constant orthodontic forces related to desirable tooth movement in rats. **J Orthod.** v. 30, pp. 31–37, 2003.

KINDELAN, S.A.; DAY, P.F.; KINDELAN, J.D.; SPENCER, J.R.; DUGGAL, M.S. Dental trauma: an overview of its influence on the management of orthodontic treatment. Part 1. **J Orthod.** v. 35, n. 2, pp. 68–78, 2008.

KNOP, L.A.; SHINTCOVSK, R.L.; RETAMOSO, L.B.; RIBEIRO, J.S.; TANAKA, O.M. Non-steroidal and steroidal anti-inflammatory use in the context of orthodontic movement. **Eur J Orthod.**, v.34, n.5, pp. 531–535, 2012.

LIN, C.L.; YU, J.H.; LIU, H.L.; LIN, C.H.; LIN., Y.S. Evaluation of contributions of orthodontic mini-screw design factors based on FE analysis and the Taguchi method. **JBiomech.**, v. 43, n. 11, pp. 2174-2181, 2010.

MARQUEZAN, M.; BOLOGNESE, A.M.; ARAÚJO, M. T. S. Effects of Two Low-Intensity Laser Therapy Protocols on Experimental Tooth Movement. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 28, n. 6, 2010.

MARTINS-ORTIZ, M.F. **Influência dos bisfosfonatos na movimentação dentária induzida, na frequência e nas dimensões das reabsorções radiculares associadas.** Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2004.

MASSARO, C.S.; CONSOLARO, R.B.; SANTAMARIA M, JR.; CONSOLARO, M.F.; CONSOLARO, A. Analysis of the dentin-pulp complex in teeth submitted to orthodontic movement in rats. **J Appl Oral Sci.**, v.17, pp. 35–42, 2009.

MATSUMOTO, Y.; SRINGKARNBORIBOON, S.; ONO, T. Proinflammatory mediators related to orthodontically induced periapical root resorption in rat mandibular molars. **Eur J of Orthod**, v.39, n.6, pp. 686–691, 2017.

MELSEN, B.; COSTA, A. Immediate loading of implants used for orthodontic anchorage. **Clin Orthod Res**, v.3, pp.23-28, 2000.

MOTOYOSHI, M.; YANO, S.; TSURUOKA, T.; SHIMIZU, N. Biomechanical effect of abutment on stability of orthodontic mini-implant: a finite element analysis. **Clin Oral Implants Res**, v.16, n. 4, pp. 480–485, 2005.

NAKANO Y, YAMAGUCHI M, SHIMIZU M, KIKUTA J, YOSHINO T, TANIMOTO Y, KASAI K. Interleukin-17 is involved in orthodontically induced inflammatory root resorption in dental pulp cells. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 148, n.2, pp. 302-9, 2015.

OPPENHEIM, A. Tissue changes, particularly of the bone incident to tooth movement. **Eur J of Orthod**, v. 3, n. 2, pp. 57-67, 1911.

PRABHU, J.; COUSLEY, R.R. Current products and practice: bone anchorage devices in orthodontics. **J Orthod**, v.33, n.4, pp.288–307, 2006.

REAL, L. A. S. V.; RAMOS, A. L.; ZANONI, J. N. Modificações no periodonto de ratos diabéticos após a movimentação ortodôntica. **Rev. Dent. Press Ortodon. Ortop. Facial**, v. 14, n. 1, 2009.

REN, YREN, Y.; MALTHA, J.C.; KUIJPERS-JAGTMAN, A.M. The rat as a model for orthodontic tooth movement--a critical review and a proposed solution. **Eur J Orthod**. v. 26, n. 5, pp. 483-90, 2004.

RÖMER, P.; WOLF, M.; FANGHÄNEL, J.; REICHENEDER, C.; PROFF, P. Cellular response to orthodontically-induced short-term hypoxia in dental pulp cells. **Cell Tissue Res**, v. 355, pp. 173–180, 2014.

RÖMER, P.; WOLF, M.; FANGHÄNEL, J.; REICHENEDER, C.; PROFF, P. Cellular response to orthodontically-induced short-term hypoxia in dental pulp cells. **Cell Tissue Res**, v.355, pp. 173–180, 2014.

SANDSTEDT, C.E. **Några bidrag till tandregleringens teori**. Stockholm: Kungl Boktryckeriet; Nordstedt & Söner; 1901.

SANTAMARIA JR, M.; MILAGRES, D.; IYOMASA, M.M.; STUANI, M.B.; RUELLAS, A.C. Initial Pulp Changes During Orthodontic Movement: Histomorphological Evaluation. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 1, pp. 34-39, 2007.

VON BÖHL, M.; MALTHA, J.C.; VON DEN HOFF, J. W.; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M. Focal hyalinization during experimental tooth movement in beagle dogs. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 125, n. 5, pp. 615–623, 2004.

WU, J.; BAI, Y.X.; WANG, B.K. Biomechanical and histomorphometric characterizations of osseointegration during mini-screw healing in rabbit tibiae. **The Angle orthodontist**, v.79, n.3, pp. 558-63, 2009.

YU, W.; ZHANGA, Y.; JIANGA, C.; HEA, W.; YIA, Y.; WANGA, J. Orthodontic treatment mediates dental pulp microenvironment via IL17A. **Archives of Oral Biology**, v. 66, pp. 22–29, 2016.

ZHOU, J.; YANG, F.; XU, X.; FENG, G.; CHEN, J.; SONG, J.; DAI, H. Dynamic Evaluation of Orthodontically-Induced Tooth Movement, Root Resorption, and Alveolar Bone Remodeling in Rats by in Vivo Micro-Computed Tomography. **Med Sci Monit**, v. 18, n. 24, pp. 8306-8314, 2018.