



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA – NÍVEL
MESTRADO

GABRIELLE LUCIETTO

Efeitos da ovariectomia sobre o tecido pulpar de dentes traumatizados e submetidos a movimentação dentária induzida

Cascavel-PR
2020

GABRIELLE LUCIETTO

Efeitos da ovariectomia sobre o tecido pulpar de dentes traumatizados e submetidos a movimentação dentária induzida

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em odontologia.

Área de concentração: Odontologia

Orientador: Prof. Dr. João Paulo de Arruda Amorim

Coorientador: Prof. Dr. Mauro Carlos Agner Busato

Assinatura do Orientador

Cascavel-PR
2020

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Lucietto, Gabrielle

Efeitos da ovariectomia sobre o tecido pulpar de dentes traumatizados e submetidos a movimentação dentária induzida / Gabrielle Lucietto; orientador(a), João Paulo de Arruda Amorim; coorientador(a), Mauro Carlos Agner Busato, 2020.

48 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Graduação em Odontologia Programa de Pós-Graduação em Odontologia Ciências Aplicadas à Saúde, 2020.

1. Movimentação ortodôntica. 2. Ovariectomia. 3. Trauma dental. 4. Polpa dentária. I. Arruda Amorim, João Paulo de. II. Agner Busato, Mauro Carlos. III. Título.



Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Cascavel CNPJ 78680337/0002-65
Rua Universitária, 2069 - Jardim Universitário - Cx. P. 000711 - CEP 85819-110
Fone:(45) 3220-3000 - Fax:(45) 3324-4566 - Cascavel - Paraná



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

GABRIELLE LUCIETTO

Efeitos da ovariectomia sobre o tecido pulpar de dentes traumatizados e submetidos a movimentação dentária induzida

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Odontologia, linha de pesquisa Patologia Aplicada À Clínica Odontológica, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

Orientador(a) - João Paulo de Arruda Amorim

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Jociélia Thums Konekat

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Laerte Luiz Biemini

Universidade Paranaense - UNIPAR (UNIPAR)

Cascavel, 21 de fevereiro de 2020

Efeitos da ovariectomia sobre o tecido pulpar de dentes traumatizados e submetidos a movimentação dentária induzida

RESUMO

A movimentação dentária induzida ortodonticamente produz alterações nos tecidos periodontais e no complexo detinopulpar. A normalidade estrutural e funcional desses tecidos parece ser influenciada por fatores locais e sistêmicos, e a detecção clínica de alterações depende do tipo, duração e intensidade do estímulo aplicado. Estudos revelam a ocorrência de várias reações biológicas durante a movimentação dentária induzida, incluindo aumento ou redução do fluxo sanguíneo e alterações de celularidade. Além disso, o status hormonal do paciente tem um grande impacto na conduta do profissional ortodontista, uma vez que pode influenciar diretamente o sucesso do tratamento. O estrógeno é o principal hormônio sexual esteróide feminino e sua redução está associada à diminuição da densidade mineral óssea alveolar, o que pode aumentar significativamente a velocidade da movimentação dentária e também pode influenciar a ocorrência de reabsorção radicular. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da ovariectomia associada ao trauma dental, e suas influências na estrutura histológica do complexo dentino pulpar durante a movimentação dentária induzida em ratas. Foram utilizadas 48 ratas (Wistar), separadas em oito grupos experimentais, com 6 animais em cada: Grupo 1 – controle (G1): composto por animais que não foram submetidos a nenhum procedimento experimental; Grupo 2 (G2): composto por animais submetidos ao trauma dentoalveolar (TD); Grupo 3 (G3): composto por animais submetidos a ovariectomia (OVX); Grupo 4 (G4): composto por animais submetidos ao TD e OVX; Grupo 5 (G5): composto por animais submetidos a movimentação dentária induzida (MDI); Grupo 6 (G6): composto por animais submetidos a MDI e TD; Grupo 7 (G7): composto por animais submetidos a MDI e OVX e Grupo 8 (G8): composto por animais que foram submetidos a MDI, TD e OVX. Ao final do período experimental, os animais foram eutanasiados e as maxilas retiradas, fixadas em formol a 10%, descalcificadas, incluídas em paraplast, cortadas a 5µm e coradas com hematoxilina e eosina. Foi verificada a taxa de movimentação dentária, medindo a distância entre a face mesial do 1º molar até a distal do 3º molar superior. Foram realizadas avaliações histopatológicas do tecido pulpar, através de análise histológica do padrão de celularidade, alterações distróficas, alterações hemodinâmicas e alterações dentinárias. A taxa de movimentação dentária foi significativamente maior nos animais do grupo MDI+TD+OVX quando comparado com os demais grupos ($p < 0,05$). Não foram observadas alteração no padrão de celularidade do tecido pulpar dos diferentes grupos experimentais. Na análise de alterações distróficas somente o grupo G7 (MDI + OVX) e G8 (MDI+TD+ OVX) apresentaram algumas áreas de hialinização. Em relação às alterações hemodinâmicas, a congestão vascular e a trombose foram semelhantes em todos os grupos, enquanto a hemorragia não foi observada em nenhum grupo. A única alteração na dentina observada foi a reabsorção radicular interna, presente nos animais nos grupos G4 (TD+OVX), G5 (MDI), G7 (MDI+OVX) e G8 (MDI+TD+OVX). O grupo MDI apresentou áreas de reabsorção maior que os grupos MDI+TD e MDI+TD+OVX e o grupo MDI+ OVX apresentou as maiores quantidades de áreas de reabsorção radicular quando comparado com todos os grupos experimentais. Concluímos que a movimentação dentária induzida associada ao traumatismo dentoalveolar e a ovariectomia, induz a uma maior taxa de movimentação dentária, e maiores ocorrências de hialinização do tecido pulpar, porém as maiores áreas de reabsorção radicular interna foram encontradas no grupo MDI+OVX.

Palavras-chave: Movimentação ortodôntica, ovariectomia, trauma dental, polpa dentária, ratos.

Effects of ovariectomy on the pulp tissue of traumatized teeth used for induced tooth movement

ABSTRACT

Orthodontically induced tooth movement produces changes in periodontal tissues and in the detinopulpar complex. The structural and functional normality of these tissues seems to be influenced by local and systemic factors, and the clinical detection of changes depends on the type, duration and intensity of the stimulus applied. Studies reveal the occurrence of several biological reactions during induced tooth movement, including increased or reduced blood flow and cellular changes. In addition, the patient's hormonal status has a great impact on the orthodontist's conduct, since it can directly influence the success of the treatment. Estrogen is the main female steroid sex hormone and its reduction is associated with a decrease in alveolar bone mineral density, which can significantly increase the speed of tooth movement and can also influence the occurrence of root resorption. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of ovariectomy associated with dental trauma, and its influences on the histological structure of the pulp dentin complex during induced tooth movement in rats.

48 rats (Wistar) were used, separated into eight experimental groups, with 6 animals in each: Group 1 - control (G1): composed of animals that were not submitted to any experimental procedure; Group 2 (G2): composed of animals submitted to dentoalveolar trauma (DT); Group 3 (G3): composed of animals submitted to ovariectomy (OVX); Group 4 (G4): composed of animals submitted to DT and OVX; Group 5 (G5): composed of animals submitted to induced tooth movement (ITM); Group 6 (G6): composed of animals submitted to ITM and DT; Group 7 (G7): composed of animals submitted to ITM and OVX and Group 8 (G8): composed of animals submitted to ITM, DT and OVX. At the end of the experimental period, the animals were euthanized and the jaws removed, fixed in 10% formaldehyde, decalcified, included in paraplast, cut at 5 μ m and stained with hematoxylin and eosin. The rate of tooth movement was verified, measuring the distance between the mesial surface of the 1st molar and the distal one of the upper 3rd molar. Histopathological assessments of pulp tissue were performed, through histological analysis of the cellular pattern, dystrophic changes, hemodynamic changes and dentinal changes. The rate of tooth movement was significantly higher in animals in the ITM + DT + OVX group when compared to the other groups ($p < 0.05$). There were no changes in the cellular pattern of pulp tissue in the different experimental groups. In the analysis of dystrophic changes, only the G7 (ITM + OVX) and G8 (ITM + DT + OVX) groups presented some areas of hyalinization. Regarding hemodynamic changes, vascular congestion and thrombosis were similar in all groups, while hemorrhage was not observed in any group. The only change in dentin observed was internal root resorption, present in animals in groups G4 (DT + OVX), G5 (ITM), G7 (ITM + OVX) and G8 (ITM + DT + OVX). The MDI group showed greater resorption areas than the ITM + DT and ITM + TD + OVX groups and the IDM + OVX group showed the highest amounts of root resorption areas when compared with all experimental groups. We conclude that the induced tooth movement associated with dentoalveolar trauma and ovariectomy, induces a higher rate of tooth movement, and greater occurrences of pulp tissue hyalinization, however the largest areas of internal root resorption were found in the ITM + OVX group.

Keywords: Orthodontic movement, ovariectomy, dental trauma, dental pulp, rats.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à **Deus**, pelo dom da vida, por me permitir passar por mais esta etapa de estudos com saúde para concluir todo esse trabalho.

Ao meu orientador **Prof. Dr. João Paulo de Arruda Amorim**, pelo esmero com que conduziu a orientação deste trabalho, pelo companheirismo e contribuição intelectual e científica em todas as etapas do mesmo. Pela empatia, pelo exemplo de profissional e ser humano que é, pela oportunidade de ser sua orientada e sobretudo pelo apoio, incentivo e despertar para prosseguir na carreira acadêmica.

Ao meu coorientador **Prof. Dr. Mauro Carlos Agner Busato**, por se colocar prontamente à disposição em todas as etapas deste trabalho e por todo ensinamento despendido.

Aos meus familiares, por ter sempre me incentivado a continuar meus estudos, especialmente minha irmã **Thaís Vitória Lucietto**, por sempre acreditarem em mim e me apoiarem incondicionalmente.

Ao meu noivo **Vinícius Sbardelotto Longo** por estar ao meu lado e compreendendo minha ausência muitas vezes nesse período de estudo.

Aos meus sogros, que me acolheram como filha me dando todo o apoio e moradia durante esse período.

À **Unioeste**, pela oportunidade de realizar este curso de mestrado e pela infraestrutura.

Aos professores das bancas de defesa **Laerte Luiz Bremm** e **Jocicleia Konerat**, por todas as considerações pertinentes e pelo comprometimento com a melhoria deste trabalho.

À minha amiga de turma **Silvia W. Dal'Maso Taha**, por ser a garantia das melhores risadas mesmo em meio às dificuldades durante o curso e por todo incentivo e companheirismo nessa jornada.

Aos meus colegas da 6ª Turma de Mestrado em Odontologia da Unioeste: **Silvia, Júnior, Thayná, Bruna, Francielle, Kaohana, Jussimar, Jaisson, Mariana, Michael** muita gratidão pelos momentos compartilhados.

Às minhas amigas **Gabriela Bortoli, Debora Simoni, Tuane Mertz, Jessica Rafaeli, Karine Marmitt**, por todo apoio e por sempre ter uma palavra de incentivo.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELA	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	16
2.1 Objetivos Gerais	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3. REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 Complexo dentino Pulpar	17
3.2 Movimentação Dentária Induzida	18
3.3 Trauma dental ou traumatismo dentoalveolar	19
3.4 Reabsorção radicular	20
3.5 Estrógeno	22
4. METODOLOGIA	23
4.1 Delineamento experimental	23
4.1.1 Animais	23
4.1.2 Grupos experimentais	23
4.2 Procedimentos cirúrgicos e experimentais	24
4.2.1 Sedação dos animais	24
4.2.2 Ovariectomia	24
4.2.3 Aplicação do trauma de luxação extrusiva	26
4.2.4 Instalação do dispositivo para Movimentação Dentária Induzida	28
4.2.5 Eutanásia e coleta do material biológico	29
4.2.6 Análise quantitativa da movimentação dentária	30
4.2.7 Processamento laboratorial	30
4.2.8 Análise descritiva das lâminas histológicas	31
4.2.9 Análise morfométrica da reabsorção radicular interna	31
4.2.10 Análise estatística	31
5. RESULTADOS	32
5.1. Análise da movimentação dentária	32

5.2 Análise descritiva da estrutura pulpar	32
5.3 Análise morfométrica da reabsorção radicular interna	35
6. DISCUSSÃO	36
7. CONCLUSÃO	40
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
9. ANEXO	49

LISTA DE TABELA**Tabela 1.** Frequência de alterações dentinopulpare**Pág. 34****Tabela 2.** Área de reabsorção radicular interna**Pág. 35**

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fluxograma da sequência dos procedimentos experimentais **Pág. 24**
- Figura 2.** Fotografias da sequência da cirurgia de ovariectomia **Pág.25**
- Figura 3.** Fotografias da sequência do procedimento de trauma dentoalveolar **Pág.27**
- Figura 4.** Fotografias da sequência do procedimento de instalação do dispositivo de movimentação dentária induzida **Pág. 29**
- Figura 5.** Fotografias da sequência da análise da movimentação dentária **Pág. 30**
- Figura 6.** Fotomicrografia da polpa de animais de diferentes grupos experimentais **Pág. 33**

LISTA DE ABREVIATURAS

E1 - estrone

E2 - 17 β -estradiol

E3 - estriol

ER- α - Receptor de estrógeno alfa

ER- β - Receptor de estrógeno beta

FC - Força contínua

FCI - Força contínua interrompida

FI - Força intermitente

IL-6 - Interleucina-6

κ B - Kapa beta

LE – Luxação Extrusiva

LP – Ligamento Periodontal

MDI – Movimentação Dentária Induzida

OVX – Ovariectomia

OPG - Osteoprotegerina

RANKL - Receptor ativador do fator nuclear kapa beta ligante

RR – Reabsorção Radicular

TD – Trauma Dentoalveolar ou trauma dental

TNF- α - Factor de necrose tumoral alfa

CGRP - Gene da calcitonina

1. INTRODUÇÃO

O trauma dental (TD) deve ser investigado como a principal causa suspeita de alterações pulpares durante e após o tratamento ortodôntico (MASSARO *et al.*, 2009). Estudos demonstram que a prevalência do TD é alta na população, principalmente entre crianças e adolescentes (TONDELLI *et al.*, 2010; GLENDOR, 2008), sendo que o tratamento ortodôntico nestes pacientes representa uma atividade importante do trabalho do ortodontista. Isto mostra a importância da definição de condutas a serem adotadas pelo ortodontista em relação ao momento ideal para o início do tratamento em pacientes que sofreram TD, bem como o conhecimento das complicações que podem ocorrer durante o tratamento ortodôntico ou de pacientes com história prévia de TD.

O TD pode ser classificado conforme a sua intensidade em: concussão; subluxação; luxações extrusiva, lateral e intrusiva e avulsão. Dentre esses, a luxação extrusiva (LE), que pode ser definida como um deslocamento parcial do dente para fora do seu alvéolo, podendo ser também denominada de avulsão parcial, sendo caracterizada clinicamente pelo aspecto alongado, mobilidade excessiva e resposta negativa do dente ao teste de sensibilidade e, radiograficamente observa-se aumento do espaço do ligamento periodontal (ANDREASEN e ANDREASEN, 2001; DIANGELIS *et al.*, 2012).

Qualquer alteração no fluxo sanguíneo ou pressão vascular causada por um TD pode danificar o tecido pulpar (SANTAMARIA JR *et al.*, 2006). A literatura tem apresentado resultados controversos no que diz respeito às alterações pulpares causadas pelo movimento dentário ortodôntico, principalmente aqueles referentes à revascularização (ABI-RAMIA *et al.*, 2010). Alguns alegam danos permanentes, mas outros não encontraram efeitos significativos de longa duração (VON BÖHL *et al.*, 2016; ABI-RAMIA *et al.*, 2010). Sendo assim, as alterações teciduais decorrentes da movimentação dentária induzida (MDI), são constantemente estudadas, pois não estão completamente estabelecidas na literatura. Como consequência da movimentação ortodôntica, observam-se mudanças nos tecidos periodontais e pulpares decorrentes da exposição de forças que variam de acordo com a magnitude, frequência e duração, provocando alterações macroscópicas e microscópicas (KRISHNAN e DAVIDOVICH, 2006).

A polpa e os tecidos periodontais são extremamente celularizados e suas taxas metabólicas são adaptadas às suas necessidades funcionais. Investigações revelam a ocorrência de várias reações biológicas durante a MDI, incluindo aumento ou redução do fluxo sanguíneo

e da angiogênese (MASSARO *et al.*, 2009). As alterações vasculares da polpa causadas pelo movimento ortodôntico estão relacionadas à distúrbios na camada odontoblástica, obliteração pulpar, reabsorção radicular e necrose pulpar (ABI-RAMIA *et al.*, 2010).

Estudos sobre a movimentação dentária em ratos têm demonstrado hiperemia pulpar precoce e alterações teciduais compatíveis com processos inflamatórios, que são reversíveis se a agressão não ultrapassar o limite fisiológico de tolerância do tecido pulpar (ABI-RAMIA *et al.*, 2010). Estes resultados demonstram a alta capacidade de adaptação do tecido pulpar a uma agressão, desde que respeitados os limites biológicos de tolerância da polpa (SANTAMARIA JR *et al.*, 2006).

Durante o tratamento ortodôntico, os dentes se movem individualmente e em diferentes taxas, sendo que a quantidade de movimento dental causada pela remodelação óssea pode ser influenciada pelo uso de drogas ou fatores sistêmicos (GHONEIMA *et al.*, 2010). Um dos fatores sistêmicos mais comuns que podem resultar em perda óssea patológica é a osteoporose, a qual está relacionada com menopausa ou ovariectomia, resultando em perda óssea patológica (DEMPSTER e LINDSAY, 1993).

Os estrogênios são importantes reguladores do metabolismo ósseo e da odontogênese (MANOLAGAS *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2013). A deficiência de estrogênio resulta em perda de osso maxilar e aumento da remodelação óssea induzida por carga mecânica, bem como na remodelação do complexo dentino pulpar (YAN *et al.*, 2011; SIRISOONTORN *et al.*, 2011; BEZERRA *et al.*, 2013; MACARI *et al.*, 2015). Baixa concentração de estrógeno está associada com produção desequilibrada de factor de necrose tumoral alfa (TNF- α), do receptor ativador do fator nuclear kapa beta (κ B) (RANKL) e interleucina-6 (IL-6) no tecido periodontal e na diminuição da diferenciação das células-tronco da polpa dental (STRECKFUS *et al.*, 1997; ROGGIA *et al.*, 2001; SHU *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2013; MACARI *et al.*, 2015) entretanto, a reposição de estrógeno evita a liberação destas moléculas (SHU *et al.*, 2008; MACARI *et al.*, 2015). A maioria das ações do estrógeno são mediadas por receptor de estrógeno alfa (ER α) e beta (ER β), nos ossos e esta ação ocorre em parte via ER α , encontrados em osteoblastos e osteoclastos (NAKAMURA *et al.*, 2007; IMAI *et al.*, 2010; IKEDA *et al.*, 2011), porém nas células do polpa, especialmente nos odontoblastos o estrógeno tem ação principalmente através do ER β (ALHODHODI *et al.*, 2017).

Estudos sugerem que os tecidos pulpares são alvos da ação dos estrogênios e estes hormônios são importantes fatores nas patogêneses que afetam o complexo dentino-pulpar. Assim, justifica-se a realização deste estudo através do modelo experimental em molares de ratos, visando avaliar os efeitos da ovariectomia sobre a movimentação ortodôntica de dentes

traumatizados. Através desse modelo experimental será possível compreender fenômenos biológicos relacionados a MDI e suas variáveis incluindo a ação dos estrógenos durante a terapia ortodôntica de mulheres adultas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Avaliar os efeitos da ovariectomia sobre a organização do tecido pulpar (coronário e radicular) em dentes traumatizados e submetidos a movimentação dentária induzida.

2.2 Objetivos específicos:

Verificar se a ovariectomia associada ao trauma dentoalveolar interfere na taxa de movimentação dentária induzida, na organização histológica do tecido pulpar e na área reabsorção radicular interna durante a movimentação dentaria induzida.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Complexo dentino pulpar

A dentina e a polpa são tecidos que apresentam inter-relação estrutural e funcional durante toda a vida do órgão dental. Responsáveis pela síntese e deposição da matriz de dentina, as células da polpa, denominadas odontoblastos, permanecem com seus prolongamentos citoplasmáticos no interior dos túbulos dentinários. Conseqüentemente, as repercussões e os mecanismos de resposta tecidual ocorrem de forma integrada, o que determina que a dentina e a polpa sejam entendidas e reconhecidas como integrantes de um mesmo complexo, o complexo dentino pulpar (SOARES *et al.*, 2014).

A polpa dental é um tecido conjuntivo frouxo especializado encontrado no interior da cavidade pulpar (câmara pulpar e canal radicular) (LEONARDI *et al.*, 2011), estruturalmente dividido em camadas: odontoblástica; acelular; rica em células e a central. Na periferia da polpa, encontram-se células organizadas em paliçada logo abaixo da pré-dentina, conhecida como camada odontoblástica (SOARES *et al.*, 2014). Ela é derivada do mesênquima da papila dental e tem por função primordial formar dentina, sendo protegida dos agentes externos, pelo esmalte e por paredes da própria dentina que é formada ao seu redor, caracterizada por uma cavidade que a aloja (LEONARDO, 2005). Como todo tecido conjuntivo, é altamente diferenciada e vascularizada, contém grande número de vasos sanguíneos, vasos linfáticos, fibras nervosas e células. Entre estas, estão os odontoblastos, os quais diferenciam o tecido pulpar dos demais tecidos conjuntivos presentes em outras regiões do corpo. Por possuir um metabolismo intenso, a polpa dental apresenta boa capacidade de reparo (LEONARDI *et al.*, 2011) desde que as condições sejam favoráveis (LEONARDO, 2005).

A inflamação pulpar ocorre como reação tecidual à uma agressão e consiste na infiltração de células inflamatórias com formação eventual de abscesso e necrose. Este processo tem como resultado um tecido formado por células inflamatórias como os neutrófilos, linfócitos, plasmócitos, macrófagos e mastócitos (NAKAMURA *et al.*, 2002).

Uma característica singular da polpa dental, e que pode agravar o quadro inflamatório ali instalado, é o seu confinamento no interior da dentina. A câmara pulpar, assim como a luz do canal radicular é revestida por tecido dentinário, que por apresentar uma porção inorgânica e elevado grau de dureza, proporciona ao tecido pulpar uma área restrita definida por paredes inelásticas. Esse fato o coloca em um ambiente pouco favorável para a expansão, pois com a inflamação há um aumento de volume desse tecido, ocorrendo compressão de fibras nervosas, podendo gerar dor (LEONARDI *et al.*, 2011). Dessa forma, a vasodilatação e a elevada

permeabilidade vascular, características de uma reação inflamatória, promovem aumento da pressão hidrostática pulpar (VANHASSEL, 2007). Além disso, o aumento do volume pulpar pode dificultar a circulação sanguínea local e o retorno de sangue venoso via forame apical, o que prejudica a capacidade de defesa do tecido pulpar (LEONARDI *et al.*, 2011).

Assim, frente a qualquer agente agressor físico, químico ou bacteriano, cujos estímulos ultrapassem o limiar de tolerância fisiológica ocorrerá uma resposta inflamatória e/ou degenerativa que se caracteriza por um aumento de volume que pela própria condição morfológica vai gerar um aumento da pressão intra-pulpar (ESTRELA, 2004). E vão estar presentes dependendo do tipo, da frequência e da intensidade do agente irritante (LEONARDI *et al.*, 2011).

3.2 Movimentação dentária induzida (MDI)

Segundo Graber e Vanarsdall (2002), existem dois diferentes tipos de forças empregadas em Ortodontia, as forças contínuas e as intermitentes. O emprego de força contínua (FC) visa manter sua magnitude inicial durante um longo período, sendo desempenhada por fios e molas com características super-elásticas (alto limite de elasticidade). Porém, quando se utiliza fios ou molas com reduzida elasticidade e memória de forma, a magnitude da força é reduzida gradativamente e atinge um nível incapaz de estabelecer a continuidade da movimentação dentária, sendo então, classificada como força contínua interrompida (FCI). Por outro lado, a força intermitente (FI) se caracteriza pela atuação, durante um período reduzido, e é eliminada totalmente com a remoção do dispositivo gerador da força. Essa condição é possível com a utilização de aparelhos removíveis, elásticos e aparelhos extrabuciais.

Tondelli (2011) constatou por meio da avaliação histomorfométrica, as reações da MDI em ratos sob as condições de FC, FCI e FI e observou que o emprego de forças contínuas produz mais áreas hialinas e apresenta maior frequência de reabsorções radiculares. Por outro lado, as forças contínuas interrompidas foram as que produziram menos áreas hialinas. Além disso, demonstrou-se que as forças intermitentes produzem áreas hialinas semelhantes as interrompidas, porém permitem recidiva da movimentação dentária.

Em pacientes que sofreram traumatismo dentoalveolar o tratamento ortodôntico deve ser realizado por meio de utilização de forças suaves de preferência intermitentes, evitando movimentos prolongados e limitando os objetivos a serem atingidos em um menor período de tempo. Todos os dentes a serem movimentados ortodonticamente sofrerão algum tipo de reabsorção radicular, identificado em radiografias ou não, e o traumatismo pode exacerbar esta

condição. O sucesso da movimentação dentária, em dentes traumatizados, depende da severidade da injúria, sendo a reabsorção radicular, seqüela possível de ocorrer antes, durante e após o tratamento ortodôntico. Portanto, um dente traumatizado pode ser movido ortodonticamente, desde que algumas medidas sejam tomadas, entre elas a realização de anamnese e exame clínico criterioso, acompanhamento com exames por imagem, utilização de forças leves e intermitentes e se necessário, replanejamento ou até mesmo interrupção do tratamento caso for preciso (BORTOLOTTI *et al.*, 2011).

3.3 Trauma dental ou traumatismo dentoalveolar

Entre as doenças relacionadas à saúde bucal, como cáries e câncer bucal, o traumatismo dentário se destaca como um dos principais problemas de saúde pública em todo o mundo (BOMFIM *et al.*, 2017).

Os períodos de alto risco para TD são a infância e adolescência, com cerca de 80% dos casos ocorrendo em pessoas com menos de 20 anos de idade. Durante este período sensível de desenvolvimento, podem ocorrer sérios problemas decorrentes do TD. Inicialmente, a conformidade e a cooperação do paciente são questões de principal preocupação para o dentista, enquanto a importância do envolvimento familiar é particularmente crítica desde os primeiros momentos após a lesão. Posteriormente, o monitoramento de longo prazo é necessário, particularmente em pacientes com dentição em desenvolvimento (ARKAHIS *et al.*, 2017).

O TD é uma ocorrência relativamente comum na infância, isso coloca um peso significativo no sistema de saúde pública por causa de sua alta frequência, impacto na qualidade de vida e no consumo de recursos (JAMES *et al.*, 2017). A Ortodontia possui grande preocupação com traumatismo dentoalveolar, principalmente os que envolvem o periodonto de sustentação, uma vez que o sucesso do tratamento ortodôntico depende da integridade destas estruturas.

De acordo com Bavaresco *et al.*, (2009) os tipos de TD que envolvem os tecidos periodontais, conforme a sua intensidade, são: concussão; subluxação; luxações extrusiva, lateral e intrusiva; e avulsão. A concussão é um traumatismo de pequena intensidade sobre os tecidos de sustentação dentária, sem alterar a posição ou provocar mobilidade dentária e não apresenta deslocamento ou aumento de mobilidade, ocorrendo apenas sensibilidade à percussão ou oclusão. A subluxação é um traumatismo de intensidade moderada nos tecidos de sustentação, que determina mobilidade dentária sem mudança de posição e o dente apresenta mobilidade leve, moderada ou severa, com presença de sangramento em torno do sulco gengival, indicando lesão aos tecidos periodontais e queixas de sensibilidade ao toque.

A luxação lateral é o deslocamento do dente no sentido palatino, vestibular, mesial ou distal e o dente assume nova posição na arcada, podendo haver mobilidade, sangramento e laceração dos tecidos periodontais adjacentes. A luxação intrusiva é o deslocamento do dente para o interior do seu alvéolo, em direção axial e o dente pode estar em leve infra-oclusão ou totalmente desaparecido com possível presença de abaulamento da tábua óssea vestibular, edema em tecidos moles, graus variados de mobilidade. Ao teste de percussão, observa-se som “metálico” alto. A luxação extrusiva é o deslocamento parcial do dente para fora do seu alvéolo, com presença de grande hemorragia. A avulsão é o deslocamento total do dente fora do seu alvéolo e com essa ausência do dente em posição (BAVARESCO *et al.*, 2009).

Segundo Verri (2015) a luxação extrusiva é caracterizada clinicamente pelo aspecto alongado do dente, mobilidade excessiva e resposta negativa ao teste de sensibilidade e, radiograficamente observa-se aumento do espaço do ligamento periodontal.

Busato *et al.*, (2014) citam que a subluxação é o trauma mais comum que afeta o periodonto de suporte, representando um quarto de todos os traumas que envolvem lesão no ligamento periodontal. Na subluxação, o dente não é deslocado da sua posição inicial, e após o trauma terá certo grau de mobilidade. Após o trauma de subluxação, os eventos histológicos envolvem, nas primeiras horas, hemorragia no espaço do ligamento periodontal, lesão nas fibras periodontais e morte celular. Posteriormente, aparecerão áreas hialinas e mediadores inflamatórios, que induzem reabsorção óssea e radicular. Dez dias após o trauma, com menor concentração de produtos inflamatórios, o reparo periodontal começa.

A literatura indica tempos diferentes para iniciar a movimentação dentária ortodôntica dependendo da intensidade do trauma. De acordo com Flores *et al.*, (2007) dentes que sofreram luxação extrusiva devem ser reposicionados suavemente para o seu alvéolo e estabilizados por meio de esplintagem flexível por 2 semanas. Deve-se aguardar um período de 6 meses para iniciar a movimentação dentária ortodôntica.

O traumatismo dentoalveolar é a principal causa da reabsorção radicular podendo levar à perda dentária. No entanto, do ponto de vista epidemiológico, a causa mais frequente de reabsorção é o tratamento ortodôntico (CONSOLARO *et al.*, 2014).

3.4 Reabsorção radicular

A reabsorção radicular em tratamentos ortodônticos é de origem inflamatória, possui fenômenos geneticamente gerenciados, mas não é transmitida hereditariamente. Existe uma relação direta entre o tipo, intensidade e frequência da força ortodôntica e a morfologia radicular e óssea local, com o grau de severidade da reabsorção radicular (CONSOLARO, 2009).

Consolaro *et al.* (2011) informaram que o mecanismo das reabsorções dentárias é conhecido e suas causas bem definidas, são assintomáticas, não induzem alterações pulpare periapicais e periodontais, são locais e adquiridas e não apresentam causas sistêmicas. As reabsorções ocorrem quando o cementoblasto é atingido, estes não possuem receptores para mediadores de remodelação óssea, mesmo estando muito próximos ao osso, eles não respondem as mensagens bioquímicas para reabsorver ou formar novo tecido mineralizado na superfície radicular, porém possuem receptores para outros mediadores essenciais a vida celular, como o hormônio do crescimento e a insulina. Todo e qualquer estímulo que ocorrer na área do cementoblasto e os remover da superfície radicular mineralizada, as células ósseas, muito próximas, promoverão a reabsorção radicular, mesmo que temporariamente. As reabsorções ocorrem pela eliminação do cementoblasto e não existe nenhuma causa sistêmica que desencadeie esse processo.

Em tratamentos ortodônticos a reabsorção pode ocorrer pelas forças aplicadas que podem fechar completamente a luz dos vasos sanguíneos, faltando-lhes nutrição, porém eventualmente o contato dente-osso promovido pela força excessiva pode, fisicamente, eliminar cementoblastos da superfície radicular por compressão em dentes não irrompidos como caninos superiores e terceiros molares, dentes com trauma prévio ao tratamento ortodôntico. Pacientes com raízes dentárias triangulares, ápices em forma de pipeta ou dilacerados, cristas ósseas retangulares são mais predispostos ou suscetíveis à reabsorção radicular durante o tratamento ortodôntico, mas sem qualquer natureza genética ou hereditária, e sim morfológica. A reabsorção dentária inflamatória pode ser controlada, restabelecida e tem um bom prognóstico (CONSOLARO, 2011).

Durante a aplicação da força ortodôntica, o movimento do dente ocorre como resultado da reabsorção óssea alveolar devido à atividade osteoclástica no lado de pressão e deposição óssea, resultado da indução osteoblástica no lado de tensão. As células do ligamento periodontal do lado da pressão passam por um processo de necrose, e após a formação da zona hialina, o movimento dos dentes cessa. O desequilíbrio entre osteoblastos e atividade osteoclástica nos lados da tensão e de pressão pode resultar em áreas de reabsorção na raiz. Durante o processo de eliminação da zona hialina, macrófagos mononucleares e células gigantes podem danificar a camada externa da raiz que consiste em cementoblastos. Em casos mais graves a dentina também pode ser afetada, a reabsorção da dentina é irreversível e considerado um dano grave à estrutura dentária. A reabsorção radicular induzida no tratamento ortodôntico é afetada por muitos fatores relacionados ao paciente, e estudos prévios demonstram que fatores sistêmicos,

incluindo deficiências hormonais e densidade óssea alveolar, poderiam influenciar a reabsorção radicular induzida (SEIFI *et al.*, 2015).

Os estrógenos e os andrógenos têm sido tradicionalmente conhecidos como reguladores do metabolismo ósseo em mulheres e homens. A osteoporose induzida por deficiências de estrógeno e progesterona no período pós-menopausa resulta em aumento do *turnover* ósseo, podendo ocorrer perda óssea alveolar e conseqüentemente causar à perda dentária. Nos tratamentos ortodônticos, o aumento do *turnover* ósseo induzido pela falta desses hormônios, resulta na progressão do movimento dentário em um padrão instável (SEIFI *et al.*, 2015).

3.5 Estrógeno

O estrógeno é um hormônio da classe dos esteróides, que exerce influência no crescimento, diferenciação e função de muitos tecidos, como os que compõem o sistema reprodutor tanto feminino quanto masculino, além de desempenhar importante papel na regulação óssea e no sistema cardiovascular (KUIPER *et al.*, 1997; RUGGIERO e LILIS, 2002). Produzido pelos ovários, pelo córtex da adrenal, e perifericamente através da conversão da gordura pela androstenediona, apresenta-se sob três principais formas. O 17 β -estradiol (estradiol ou E2), produzido pelos ovários, é o estrógeno encontrado em maior quantidade e o mais potente, pois apresenta maior afinidade pelos receptores de estrógeno. O estrone (E1) que é menos potente que o estradiol, e o estriol (E3), produzido pela placenta durante a gravidez, no entanto, encontrado em pequena quantidade em mulheres não grávidas (RUGGIERO e LIKIS, 2002). Os hormônios esteróides são essenciais para o desenvolvimento esquelético e manutenção da integridade óssea ao longo da vida adulta (COMPSTON, 2001).

Dois tipos de receptores de estrógeno (ER α e ER β) têm sido identificados, tanto em mulheres quanto em homens, apresentando distribuição diferente nos tecidos (RUGGIERO e LIKIS, 2002). Embora esses dois tipos de receptores compartilhem muitas funções similares há diferenças em seus mecanismos reguladores de transcrição, afinidades de ligação antagonista e de localização (CASSIDY, 1999). O ER α é expresso no útero, ovário, glândulas mamárias, testículo, epidídimo, fígado, rim, sistema cardiovascular, sistema nervoso central, trato urogenital, adrenal e ossos, sendo o maior responsável pelos efeitos do estrógeno no osso trabecular tanto em homens quanto em mulheres (RUGGIERO e LIKIS, 2002; TIVESTEN *et al.*, 2004). O ER β é encontrado no trato gastrointestinal, cérebro, pulmão, sistema cardiovascular, trato urogenital, osso, na polpa dental e também nos tecidos do aparelho reprodutor (KUIPER *et al.*, 1997; RUGGIERO e LIKIS, 2002; ALHODHODI *et al.*, 2017).

4. METODOLOGIA

4.1 Delineamento experimental

4.1.1 Animais

Uma amostra de 48 ratas (n=6) foi calculada considerando as variáveis ovariectomia, trauma dentoalveolar e MDI, com α de 5% e poder do teste de 80% (GPower 3.1 software, Universidade de Düsseldorf, Faul et al., 2007 e 2009).

Quarenta e oito ratas da variedade Wistar (45 dias de idade, pesando aproximadamente 150g), foram adquiridas do Biotério Central da Unioeste. Os animais foram adaptados e mantidos no Biotério Setorial do Laboratório de Fisiologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS, Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Cascavel-PR, em gaiolas coletivas de polietileno (43x30x15), sendo acomodadas individualmente ou em duplas, sob condições controladas de temperatura (22° - 25° C), umidade relativa próxima de 55% e fotoperíodo de 12 horas (período de luz 7:00 - 19:00h). Os animais foram adaptados por 15 dias e receberam durante todo o experimento a ração e água *ad libitum*. Os procedimentos experimentais estão de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Unioeste (anexo).

4.1.2 Grupos experimentais

Os animais foram divididos aleatoriamente em oito grupos experimentais conforme descrito abaixo:

Grupo 1: Grupo controle (CTL) composto por 6 ratas que não foram submetidas a nenhum procedimento experimental;

Grupo 2: Grupo composto por 6 ratas que foram submetidas ao trauma dentoalveolar (TD);

Grupo 3: Grupo composto por 6 ratas que foram submetidas à ovariectomia (OVX);

Grupo 4: Grupo composto por 6 ratas que foram submetidas ao TD + OVX;

Grupo 5: Grupo composto por 6 ratas que foram submetidas a movimentação dentária induzida (MDI);

Grupo 6: Grupo composto por 6 ratas que foram submetidas a MDI + TD;

Grupo 7: Grupo composto por 6 ratas que foram submetidas a MDI + OVX;

Grupo 8: Grupo composto por 6 ratas que foram submetidas a MDI+TD+ OVX.

4.2 Procedimentos cirúrgicos e experimentais

Os procedimentos experimentais estão descritos no fluxograma em ordem cronológica (Figura 1).

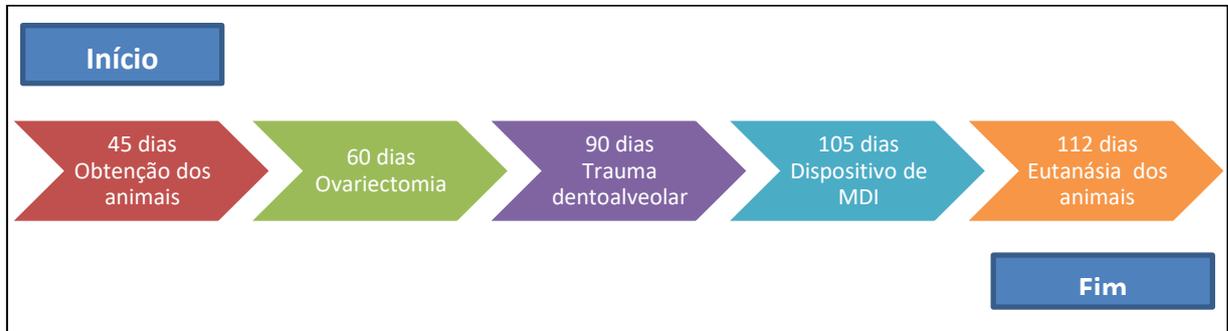


Figura 1. Fluxograma da sequência dos procedimentos experimentais.

4.2.1 Sedação dos animais

Os procedimentos cirúrgicos e experimentais foram realizados sob anestesia geral, por meio da aplicação de anestésico a base de Cloridrato de Ketamina com dosagem de 75 mg/Kg (DOPALEN[®], Sespo Indústria e Comércio, Paulínia-SP), e de relaxante muscular a base de Cloridrato de Xilazina com dosagem de 15mg/Kg (ANASEDAN[®], Sespo Indústria e Comércio, Paulínia-SP), ambos por via intraperitoneal.

4.2.2 Ovariectomia

Aos 60 dias de idade, os animais dos grupos OVX, TD+OVX, MDI+OVX e MDI+TD+OVX, foram submetidos à ovariectomia bilateral. Esses animais ficaram em jejum de 12 a 16 horas durante a noite anterior ao procedimento. Na manhã seguinte, cinco minutos antes do início dos procedimentos, foi administrada dose única de antibioticoprofilaxia com ceftriaxona intramuscular (50 mg/kg) (EMS, Brasil) e analgesia com dipirona sódica subcutânea (50 mg/kg) (EMS, Brasil).

Após anestesia os animais foram posicionados em plano cirúrgico em decúbito ventral e foi realizada a tricotomia da região abdominal seguida de anti-sepsia com álcool iodado. A pele e a musculatura foram incisadas longitudinalmente, na linha mediana da região abdominopélvica, e os ovários identificados e expostos. Foi realizado a hemostasia através da ligação da parte superior do útero com fio de seda nº 4 Ethicon – Johnson & Johnson e excisão ovariana juntamente com a gordura circundante, a tuba uterina e uma pequena parte do útero. Terminado o procedimento cirúrgico os planos foram suturados com fio absorvível catego nº 4 e a pele

com fio de seda nº 4. Os animais submetidos à ovariectomia receberam analgésico pós-operatório que foi realizada com Dipirona (50 mg/kg), por via intramuscular de 12/12 h durante 4 dias (Figura 2).

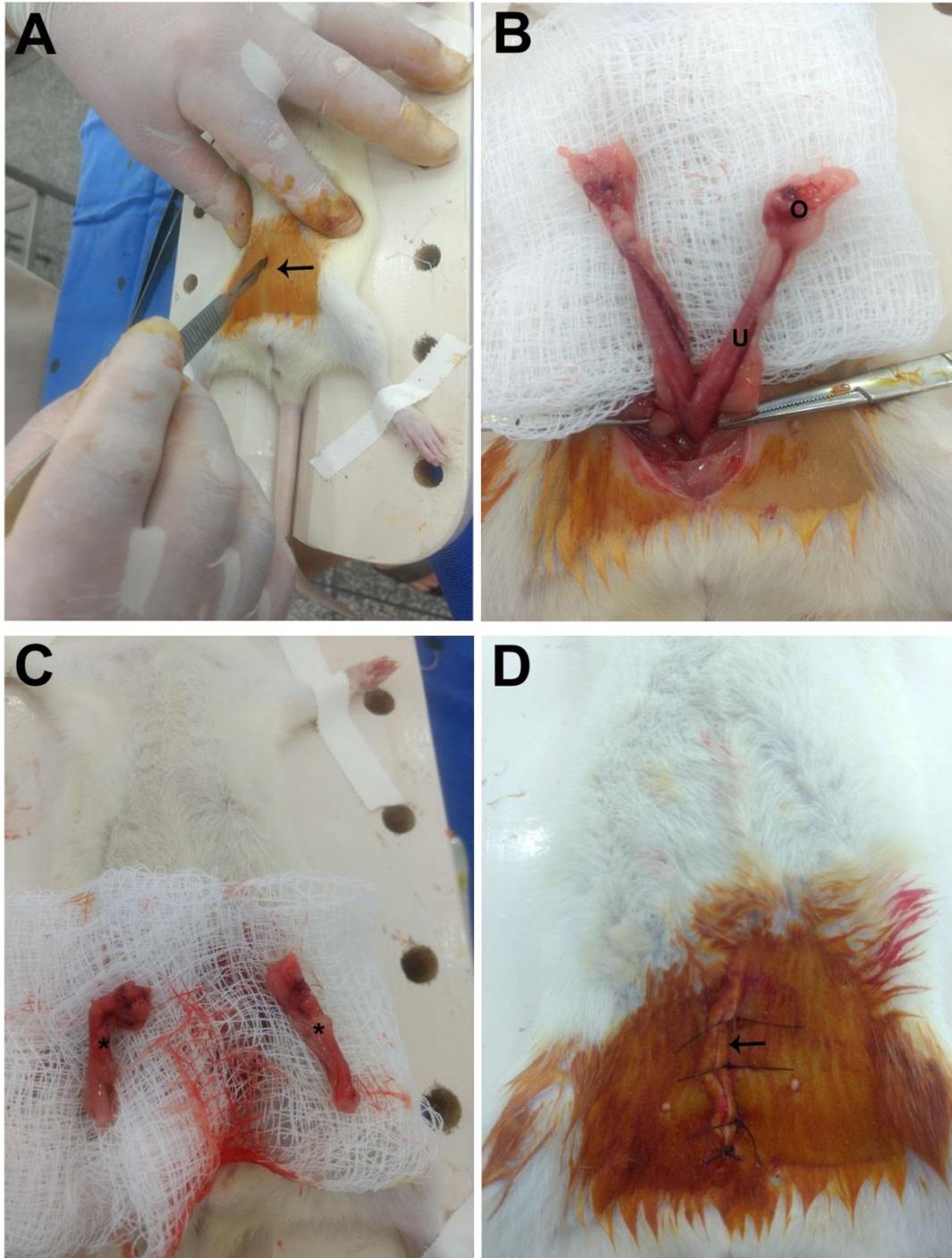


Figura 2. Fotografias da sequência da cirurgia de ovariectomia nos animais dos grupos OVX, TD+OVX, MDI+OVX e MDI+TD+OVX. A. Incisão mediana na região abdomino-pélvica (seta); B. Exposição do corno uterino (U), tuba uterina e ovários (O); C. Excisão ovariana juntamente com a gordura circundante, tuba uterina e uma pequena parte do útero (*); D. Região abdominal suturada (seta).

4.2.3 Aplicação do trauma de luxação extrusiva

Aos 90 dias de idade foi realizado trauma dentoalveolar de acordo com metodologia proposta por Costa *et al.*, (2018). Após a anestesia, foi realizada a assepsia da região com iodopovidona a 1% (Riodeine®; Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, SP, Brasil). Os animais dos grupos TD, TD+OVX, MDI+TD e MDI+TD+OVX, foram submetidos ao TD do tipo LE sobre o primeiro molar superior direito, sendo realizado pelo mesmo operador. Os animais foram posicionados em decúbito dorsal em mesa operatória, e a cavidade oral foi aberta e presa a um dispositivo. Para realizar a luxação extrusiva, usou-se o seguinte protocolo: um fio de amarrilho de 0,025 mm (Morelli®; Sorocaba, São Paulo, Brasil) foi inserido na direção palatina para vestibular entre o primeiro e o segundo molar superior direito. As duas extremidades do fio foram colocadas na face mesial do primeiro molar superior e torcido com o auxílio de um porta-agulha Mathieu de 17,0 cm (Quinelato; Rio Claro, São Paulo, Brasil), para fixação do fio ao redor do dente. Na extremidade distal do fio inserido, com o auxílio de um cabo de espelho, foi realizada uma dobradura em forma de alça, para criar um anel no qual o final ativo do tensiômetro foi colocado. O tensiômetro foi posicionado na alça e uma tração em ângulo de 60° em relação ao plano vertical foi realizada por 15 segundos na força de 1500cN. Após o posicionamento o fio de amarrilho foi removido (Figura 3).

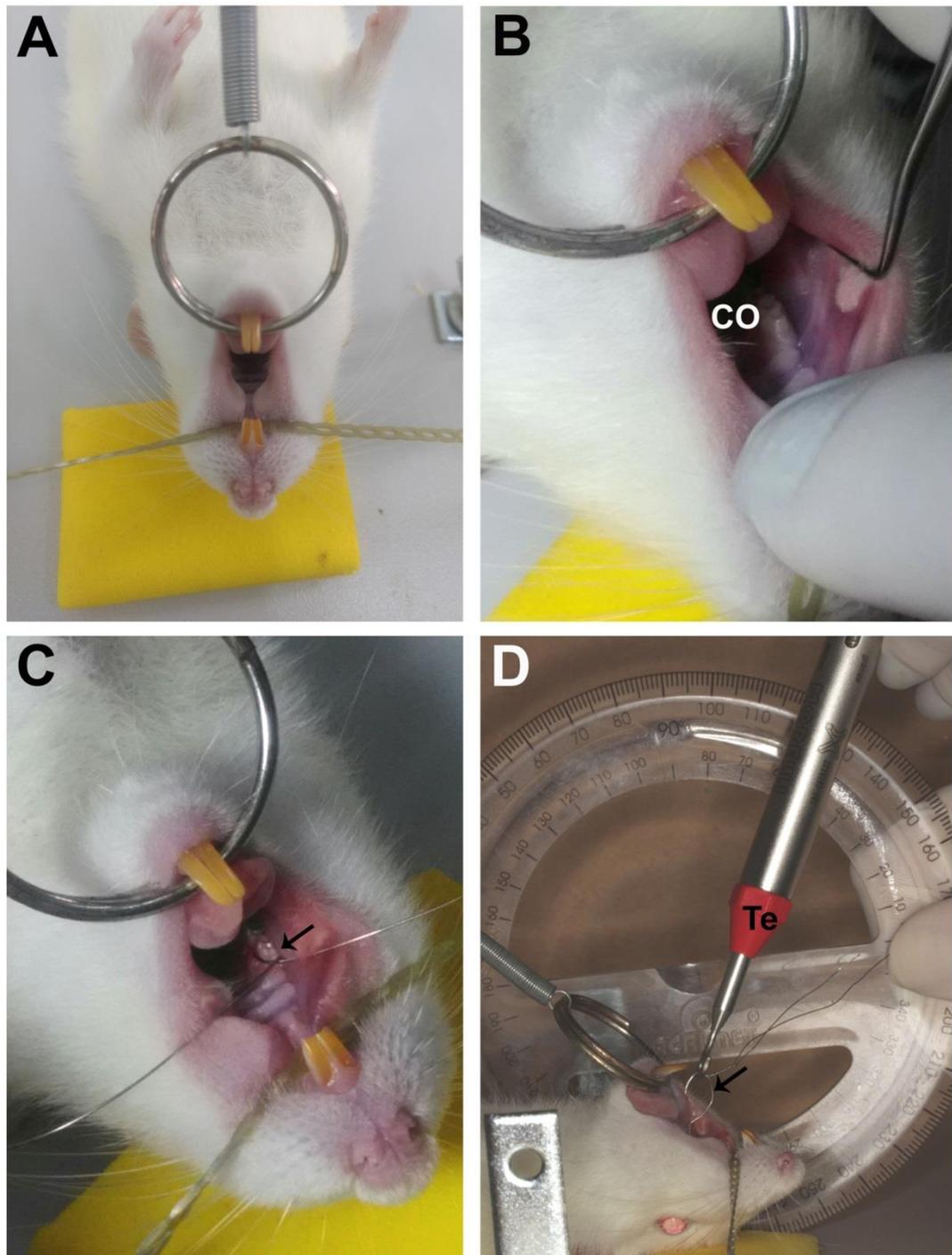


Figura 3. Fotografias da sequência do procedimento de trauma dentoalveolar nos animais dos grupos TD, TD+OVX, MDI+TD e MDI+TD+OVX. A. Posicionamento do animal em decúbito dorsal na mesa operatória; B. Abertura da cavidade oral do animal (CO); C. Fio de amarelo de inserido entre o primeiro e o segundo molar superior direito (seta); D. Tensiômetro (Te) posicionado na alça (seta) e tração em ângulo de 60°.

4.2.4 Instalação do dispositivo para movimentação dentária induzida (MDI)

Aos 105 dias de idade foi instalado o dispositivo de MDI nos animais dos grupos MDI, MDI + TD, MDI + OVX, MDI+TD+ OVX. O dispositivo empregado neste estudo foi semelhante ao proposto por Heller & Nanda em 1979, com período total de MDI foi de 7 dias. Este dispositivo modificado foi constituído de uma mola de níquel-titânio (Sentalloy[®], GAC, NY, EUA), de secção fechada, com liberação de 50cN de magnitude de força. A magnitude da força da mola foi verificada previamente por meio de um tensiômetro Zeusan (Zeusan[®] Exporting Ltda Campinas, São Paulo, Brasil). Além disso, dois segmentos de fio de amarrilho, com espessura de 0,25 mm (Morelli, Sorocaba, SP, Brasil) foram conectados em cada extremidade da mola, um contornando o primeiro molar superior direito e o outro segmento o incisivo central superior direito do animal. Para a estabilidade do fio de amarrilho na face vestibular do incisivo foi realizado uma canaleta na região cervical e um travamento com resina composta fotopolimerizável (Amelogen[®] Plus, Ultradent Products Inc, USA) para evitar o deslocamento do fio de amarrilho (Figura 4).

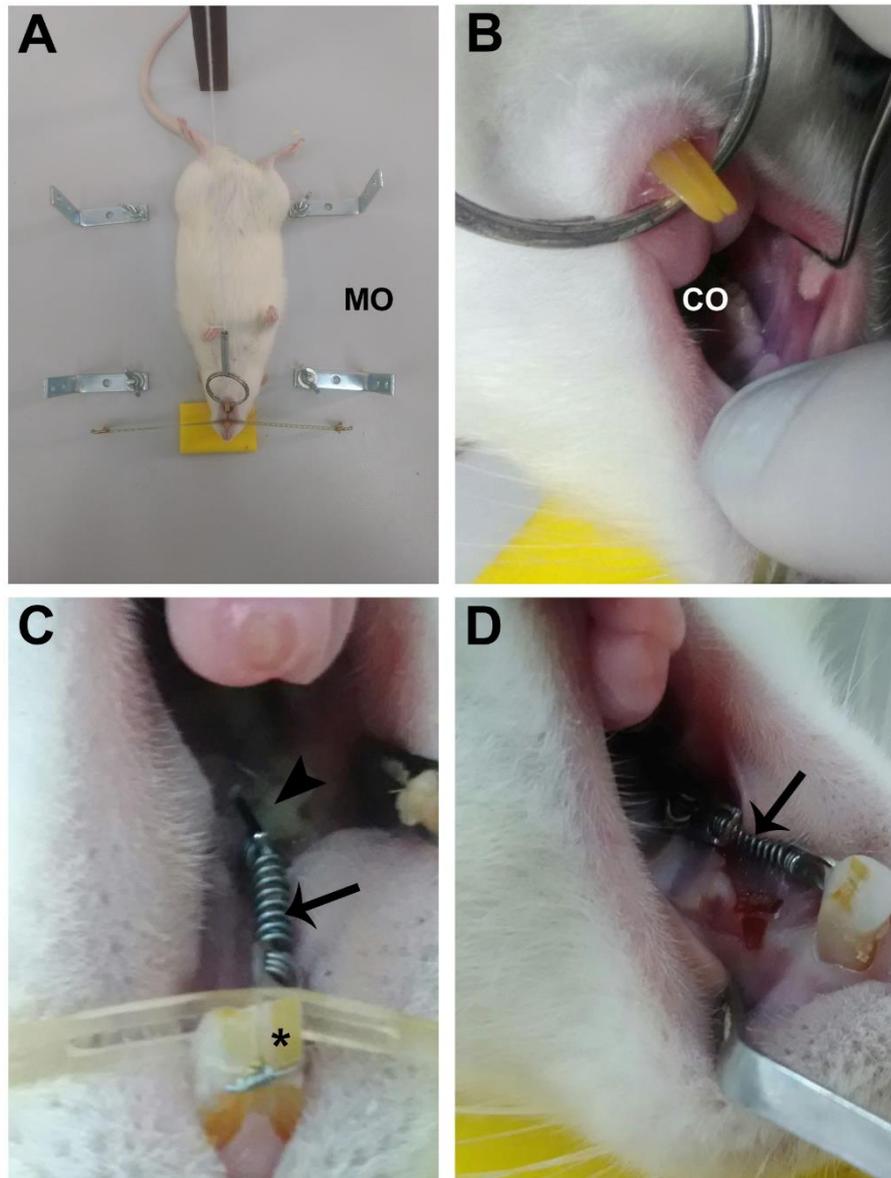


Figura 4. Fotografias da sequência do procedimento de instalação do dispositivo de MDI nos animais dos grupos MDI, MDI + TD, MDI + OVX, MDI+TD+ OVX. A. Posicionamento do animal em decúbito dorsal em mesa operatória (MO); B. Animal com a cavidade oral aberta (CO); C e D. Mola de níquel-titânio (seta) com as extremidades ligadas a dois segmentos de fio de amarelo, um contornando o primeiro molar superior direito (cabeça de seta) e o outro segmento o incisivo superior direito (*) do animal.

4.2.5 Eutanásia e coleta do material biológico

Ao final do período experimental (112 dias de idade), todos os animais foram pesados e sacrificados em câmara de CO₂ com posterior decapitação. As hemimaxilas do lado direito foram retiradas e fixadas em formol tamponado a 10% por 24 horas, lavadas em água corrente

por 48 horas e posteriormente descalcificadas em solução de ácido descalcificante (Allkimia®) por 19 horas e estocadas em álcool 70°.

4.2.6 Análise quantitativa da movimentação dentária

Imediatamente após a eutanásia, a quantidade de movimentação dentária foi obtida pela diferença entre as distâncias da face mesial do 1° molar superior até a distal do 3° molar superior do lado direito movimentado e esquerdo não movimentado (GAMEIRO *et al.*, 2008; HONG *et al.*, 1992). As mensurações foram obtidas em milímetros (mm), utilizando paquímetro digital (Mitutoyo, São Paulo, Brasil) e realizadas por 2 avaliadores devidamente calibrados (Figura 5).

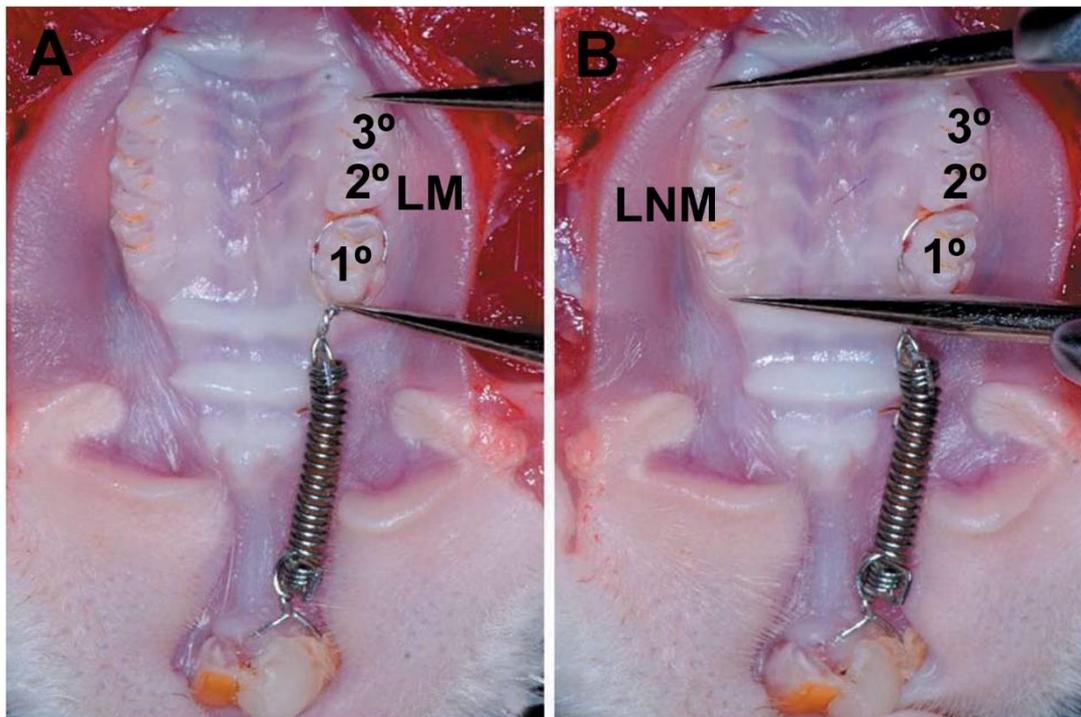


Figura 5. Fotografias da medida da quantidade de movimentação dentária obtida pela diferença entre as distâncias da face mesial do 1° molar superior até a distal do 3° molar superior (1°, 2°, 3° molares). A. paquímetro posicionado na hemimaxila direita – lado movimentado (LM). B. paquímetro posicionado na hemimaxila esquerda – lado não movimentado (LNM). Fonte: Tondelli, 2011.

4.2.7 Processamento laboratorial

Após a descalcificação, as peças foram desidratadas em série crescente de álcoois, diafanizadas em xilol e incluídas em Paraplast. Para as análises histológicas, foram realizados cortes seriados no plano longitudinal das raízes mesio-vestibular e disto-vestibular do primeiro molar superior direito, no sentido de mesial para distal, com 5µm de espessura, utilizando micrótomo rotativo manual (Olympus® 4060), equipado com navalha de aço. Os cortes obtidos

foram desparafinizados com xilol, hidratados com água destilada e submetidos à técnica de coloração com hematoxilina-eosina (HE) para análise.

Para a análise histológica foi utilizado microscópio óptico (Olympus BX61). Para obtenção das fotomicrografias com aumento de 200x e 400x foi utilizada câmera digital Olympus DP71 com o software DP Controller 3.2.1.276.

4.2.8 Análise descritiva das lâminas histológicas

Os primeiros molares superiores direitos foram examinados para diagnosticar as alterações pulpares quanto a sinais ou critérios morfológicos que denotem o envelhecimento precoce, de acordo com Massaro *et al.* (2009) e Cuogui *et al.* (2018). As seguintes características histológicas foram avaliadas: Presença ou ausência de infiltrado inflamatório, redução da celularidade, aumento da fibrose, hialinização pulpar, vacuolização, nódulos pulpares, calcificação difusa, necrose, congestão vascular, hemorragia, trombose, dentina reacional, túbulos com núcleo e reabsorção radicular interna.

4.2.9 Análise morfométrica da reabsorção radicular interna

Para análise quantitativa da reabsorção radicular interna, as fotomicrografias com aumento de 400X foram analisadas no programa Image Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Rockville, MD – USA), onde foi quantificada a área total de cada reabsorção em micrômetros quadrados (μm^2). Quando a região da raiz apresentou mais de uma área de reabsorção radicular, as áreas foram somadas para se obter a área total de reabsorção por animal.

4.2.10 Análise Estatística

Para análise dos dados foi utilizado o teste estatístico para análise de variância - ANOVA, com teste pós-teste de Tuckey ou o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, com pós-teste de Dunn, de acordo com a característica de cada variável. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas e os gráficos foram realizadas no programa SigmaPlot versão 11.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA).

5. RESULTADOS

5.1 Análise da movimentação dentária

A taxa de movimentação dentária foi significativamente maior nos animais do grupo MDI+TD+OVX quando comparado com os demais grupos ($p < 0,05$). Não foi observada diferença significativa na taxa de movimentação na comparação entre os grupos MDI+TD e MDI+OVX, porém ambos os grupos apresentaram maior movimentação dentária quando comparados com o grupo MDI ($p < 0,05$) (Gráfico 1).

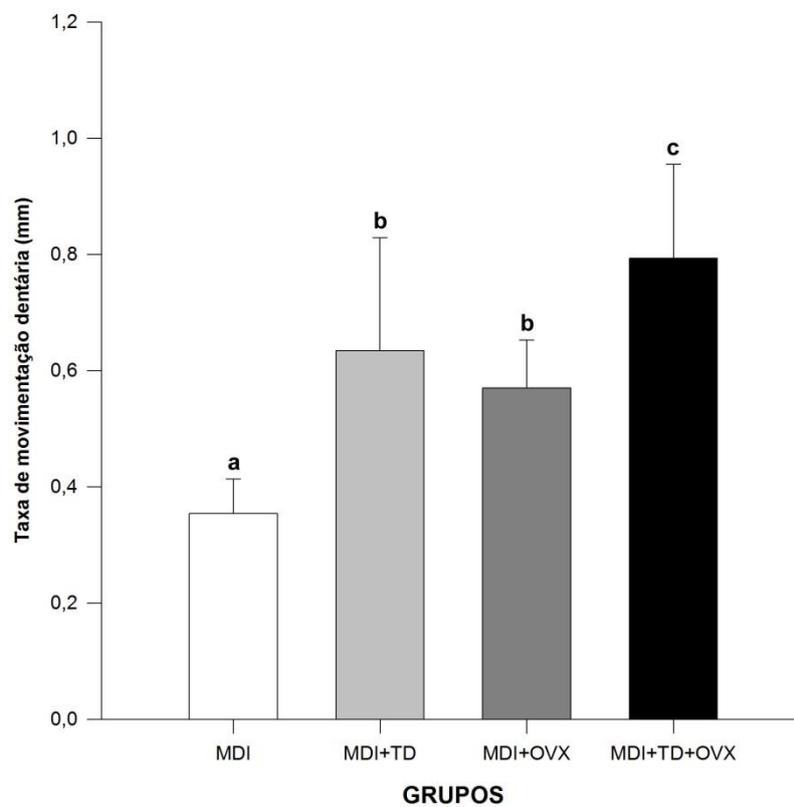


Gráfico 1. Taxa de movimentação dentária nos diferentes grupos experimentais submetidos a movimentação dentária induzida (MDI). Valores expressos em média \pm desvio padrão. N= 6 animais/grupo. Análise de variância (ANOVA One Way), com pós-teste de Tukey. Letras diferentes ^{a,b,c} = $p < 0,05$.

5.2 Análise descritiva da estrutura pulpar

A avaliação do grupo controle (G1) revelou morfologia uniforme da polpa dentária. Os vasos sanguíneos geralmente estavam congestionados (Fig. 6A-D) e cheios de componentes sanguíneos. Na parede dentinária interna, voltada para a polpa dentária, não houve espessamento da camada pré-dentinária, nem sinais morfológicos de dentina reparadora.

Não foram observadas alterações no padrão de celularidade, presença de vacuolinização, nódulo e necrose do tecido pulpar nos animais dos diferentes grupos experimentais. Foram observadas áreas de hialinização nos animais dos grupos G7 e G8 (Figura 6E-F). Foram verificadas alterações hemodinâmicas (congestão vascular e trombose) em todos os grupos experimentais (Figura 6C-D), enquanto hemorragia não foi observada em nenhum grupo. Alterações na dentina, como presença de túbulos e formação de dentina reacional, não foram observadas em nenhum grupo analisado. Porém, reabsorção radicular interna foi observada nos grupos G4, G5, G7, G8 (Figura 6 E-F) (Tabela 1).

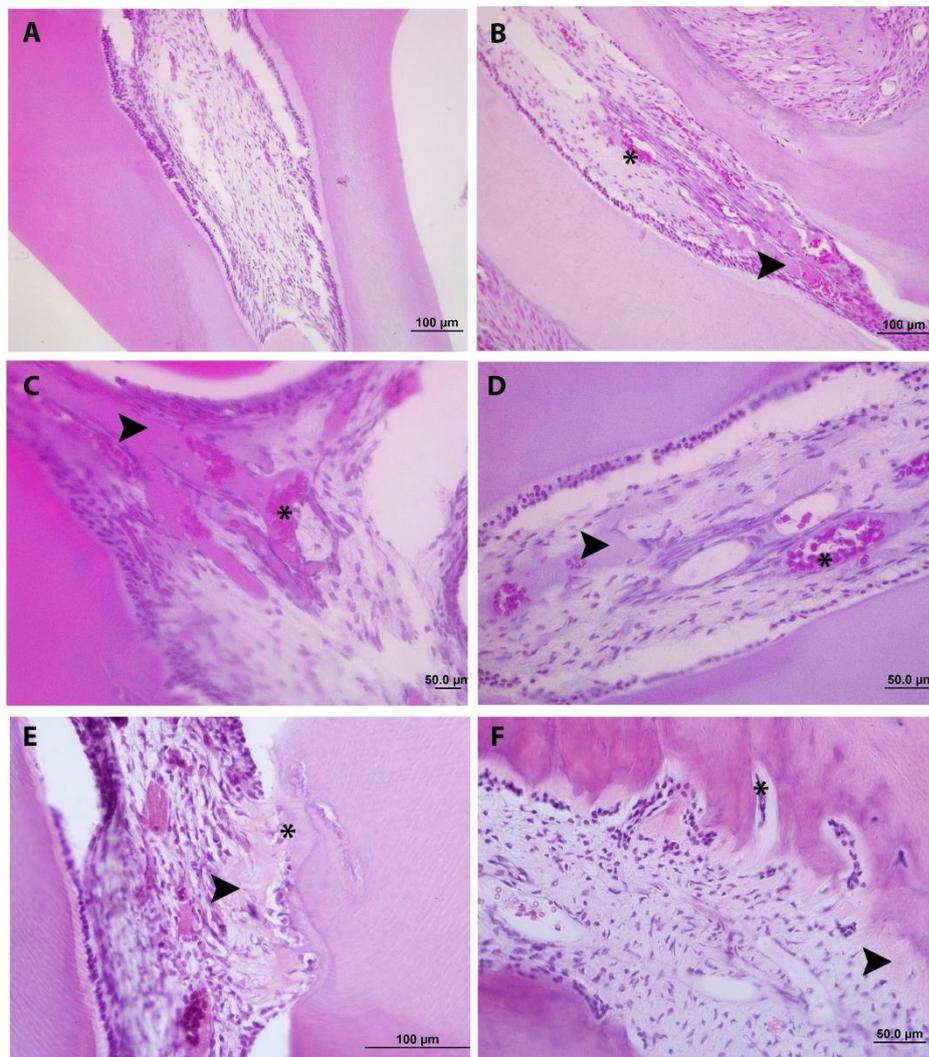


Figura 6. Fotomicrografia da polpa dentária de animais dos diferentes grupos experimentais. A. Polpa dentária do primeiro molar superior direito apresentando aspecto de normalidade; B- D. Polpa dentária com áreas de vasos congestionados (cabeça de seta) e trombose (asterisco); E e F. Presença de áreas hialinas (cabeça de seta) e reabsorção radicular interna (asterisco); Coloração= Hematoxilina e Eosina.

Tabela 1. Frequência de alterações dentinopulpare observadas nos diferentes grupos experimentais. N=6/grupo.

ALTERAÇÕES PULPARES	CTL	TD	OVX	TD+OVX	MDI	MDI+TD	MDI+OVX	MDI+TD+OVX
Padrão de celularidade								
Infiltrado Inflamatório	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Redução celularidade	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Aumento Fibrose	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Alterações Distróficas								
Hialinização	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	2/6	2/6
Vacuolização	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Nódulos	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Calcificação Difusa	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Necrose	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Alterações Hemodinâmicas								
Congestão vascular	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	4/6	6/6
Hemorragia	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Trombose	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	5/6	6/6
Alterações Dentinárias								
Dentina Reacionária	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Tubulos com núcleo	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Reabsorção Interna	0/6	0/6	0/6	1/6	2/6	0/6	1/6	1/6

5.3 Análise morfométrica da reabsorção radicular interna

Entre os animais dos grupos sem dispositivo de movimentação dentária, o grupo TD+OVX apresentou a maior taxa de áreas de reabsorção radicular interna quando comparados com os grupos CTL, TD e OVX ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Na análise dos grupos com dispositivo de movimentação dentária, os grupos MDI e MDI+OVX apresentaram áreas de reabsorção radicular interna maiores que todos os grupos sem dispositivo de movimentação dentária ($p < 0,05$). O grupo MDI apresentou áreas de reabsorção maior que os grupos MDI+TD e MDI+TD+OVX ($p < 0,05$). O grupo MDI+OVX apresentou as maiores quantidades de áreas de reabsorção radicular quando comparado com todos os grupos experimentais ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Área de reabsorção radicular interna nos diferentes grupos experimentais.

PARÂMETRO	CTL	TD	OVX	TD +OVX	MDI	MDI +TD	MDI +OVX	MDI +TD+OVX
Área de reabsorção radicular interna (μm^2)	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	667,43 $\pm 8,37^b$	2891,19 $\pm 794,92^c$	0,00 $\pm 0,00^a$	8564,74 $\pm 170,83^d$	780,36 $\pm 22,46^{bc}$

Valores expressos em média \pm erro padrão. N= 6 animais/grupo. Análise de variância (ANOVA One Way), com pós-teste de Tukey. Letras diferentes^{a,b,c,d,e} = $p < 0,05$.

6. DISCUSSÃO

Novos dados mostram aumento da expectativa de vida, assim, a frequência de pacientes idosos em tratamento ortodôntico tem aumentado, porém, com o avanço da idade as pessoas podem apresentar diminuição das concentrações hormonais, por exemplo, o estrógeno. A falta de estrógeno, como resultado da menopausa, acelera a reabsorção óssea, o que pode levar a sintomas semelhantes à osteoporose. Sendo assim, os efeitos da ovariectomia na movimentação ortodôntica atraiu grande atenção em estudos, uma vez que o movimento dentário ortodôntico depende da remodelação óssea alveolar na área de pressão e reabsorção e formação óssea na área de tensão. O modelo de ovariectomia em ratos é amplamente utilizado para simular a osteoporose humana na pós-menopausa (HASHIMOTO *et al.*, 2013; DAHHAS *et al.*, 2017; DAI *et al.*, 2017).

No presente estudo, os animais dos grupos ovariectomizados (MDI+OVX e MDI+TD+OVX) apresentaram maior movimentação dentária quando comparados com o grupo MDI. Sabe-se que, em ratas ovariectomizadas, a osteogênese e a condrogênese diminuem porque a deficiência de estrógeno altera a produção de proteínas osteoindutoras, como a osteogenina, e a proteína morfogenética óssea, resultando na ruptura da matriz óssea em formação (CESNJAJ *et al.*, 1991). Isso sugere que o efeito da ovariectomia está relacionado com a taxa de renovação óssea causada pela redução dos níveis de estrógeno no grupo OVX. A taxa de movimentação dentária nos grupos ovariectomizados foi maior que os grupos não ovariectomizados, sugerindo que a ovariectomia provavelmente aumentou o *turnover* ósseo e levou a aceleração do movimento dentário, conforme já registrado por outros estudos (TANAKA *et al.*, 2002; ARSLAN *et al.*, 2007; SIRISOONTORN *et al.*, 2011, 2012; XU *et al.*, 2013).

Outro aspecto importante sobre o aumento da taxa de movimentação dentária em ratas ovariectomizadas está relacionado à expressão diferencial de osteoprotegerina (OPG) e RANKL, que são os principais fatores que regulam a diferenciação dos osteoclastos. Esses fatores podem ter sido modulados pela ausência de estrógeno, causado pela ovariectomia, o que possivelmente aumentou a osteoclastogênese que promove reabsorção óssea durante a fase de movimentação ortodôntica, resultando em movimento dentário acelerado nas ratas ovariectomizadas (DAI *et al.*, 2017; DAHHAS *et al.*, 2017).

Os animais do grupo com movimentação e trauma (MDI+TD) apresentaram maior taxa de movimentação quando comparados com o grupo MDI do presente estudo. O traumatismo dentoalveolar está associado com processo inflamatório, deterioração da microestrutura e

aumento da reabsorção óssea alveolar, induzida por aumento da atividade de osteoclastos, principalmente na área de compressão (XU *et al.*, 2013; DAI *et al.*, 2014). Assim a maior taxa de movimentação dentária nos animais do grupo MDI+TD, está associada a maior atividade de osteoclastos, que induzem a maior reabsorção óssea alveolar, favorecendo o movimento ortodôntico.

A movimentação ortodôntica pode causar respostas inflamatórias e/ou degenerativas na polpa dentária. O impacto do movimento ortodôntico na polpa ocorre principalmente no sistema neurovascular, causando a liberação de neurotransmissores específicos (neuropeptídeos) que influenciam no fluxo sanguíneo e metabolismo celular. As respostas induzidas nestas polpas podem ter impacto sobre o início e perpetuação da remodelação ou reabsorção radicular apical durante a movimentação dentária. A incidência e a gravidade dessas alterações podem ser influenciadas por injúrias anteriores à polpa dentária, como por exemplo o traumatismo dentoalveolar (BORTOLOTTI, 2011).

Neuropeptídeos, como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), podem ser desencadeados por cáries, traumas e também pela ação de forças ortodônticas. O CGRP aumenta a expressão da proteína morfogenética óssea nas células pulpares humanas, estimulando a deposição de dentina por odontoblastos como mecanismo de defesa. Esse evento, juntamente com a hipóxia, induz a calcificação degenerativa da polpa dentária e pode causar a obliteração da polpa radicular (CUOGHI *et al.*, 2018). Entretanto, alterações na dentina, como deposição reacionária da dentina, presença de calcificações da polpa dentária não foram observadas no presente estudo.

As características histológicas dentárias do grupo controle revelaram morfologia uniforme da polpa. Os vasos sanguíneos geralmente estavam congestionados, cheios de componentes sanguíneos. Na parede dentinária interna, voltada para a polpa dentária, não houve espessamento da camada pré-dentinária, nem sinais morfológicos de dentina reparadora. Nossos resultados reforçam os achados da pesquisa realizada por MASSARO *et al.*, 2009.

Os resultados do nosso estudo foram semelhantes ao encontrado por CUOGHI, et al. (2018), onde foi observada alterações hemodinâmicas em todos os grupos, exceto a hemorragia, que não foi encontrada em nosso estudo. Forças leves podem causar uma pequena liberação de CGRP, levando a um congestionamento vascular inicial. Contudo, a congestão vascular pode ser compensada pela liberação de fatores angiogênicos, impedindo que danos irreversíveis ocorram na polpa. Polpas dentárias jovens são maiores, com um maior número de células e com pouca ou nenhuma fibrose. Com o tempo a polpa dentária reduz seu volume devido à deposição de dentina secundária ou reacional, aumentando a fibrose e a densidade celular, além de reduzir

os vasos sanguíneos. Essas alterações dinâmicas podem justificar as alterações pulpares observada em nosso estudo, uma vez que os animais eram jovens e a polpa dentária apresentava maior capacidade de reação às variações ambientais, como o estresse por força da MDI. Também, nódulos e calcificações pulpares fazem parte do processo natural de "envelhecimento" da polpa, mas, podem ocorrer mais precocemente diante de processos traumáticos na estrutura dentária. Esses eventos não foram observados no presente estudo, sugerindo que a idade dos animais e as variáveis aplicadas foram biologicamente aceitáveis (CUOGHI *et al.*, 2018).

Dentre as alterações distróficas, a hialinização foi encontrada nos grupos MDI+OVX E MDI+TD+OVX. A hialinização pode ser compreendida como uma inflamação exacerbada que resulta em dano aos componentes estruturais do tecido pulpar com transformação das proteínas intra e extracelular em material homogêneo, vítreo e de coloração rósea (SILVA *et al.*, 2018).

Entre os animais dos grupos sem dispositivo de movimentação dentária, o grupo TD+OVX apresentou a maior taxa de áreas de reabsorção radicular interna quando comparados com os grupos CTL, TD e OVX. As reabsorções dentárias representam o processo de desmontagem dos tecidos odontogênicos mineralizados pela ação de células clásticas, quando as estruturas de proteção dos dentes em relação à remodelação óssea são eliminadas, especialmente os cementoblastos, odontoblastos e restos epiteliais de Malassez (CONSOLARO, 2011). A superfície dentária está protegida da ação dos clastos por cementoblastos, externamente, e odontoblastos, internamente, pois estas células não possuem receptores para os mediadores da reabsorção óssea. O processo de reabsorção terá início quando algum fator atuar sobre a estrutura dentária eliminando tais células. O traumatismo dentoalveolar pode lesar esta camada de odontoblastos, tornando os dentes traumatizados mais propensos à reabsorção dentária frente a uma nova causa, como por exemplo, a movimentação dentária induzida (BORTOLOTTI, 2011).

Estudos revelam que a reabsorção radicular está envolvida não apenas na osteoclastogênese, mas também na odontoclastogênese pelo sistema OPG / RANK / RANKL. Esse sistema abrange o equilíbrio entre OPG e RANKL na tensão e no lado de compressão do dente durante o movimento ortodôntico. Em nosso estudo, esses fatores podem ter sido modulados pela perda de estrógeno por ovariectomia e possivelmente aumento da osteoclastogênese. O grupo MDI+OVX apresentou as maiores quantidades de áreas de reabsorção radicular interna quando comparado com todos os grupos experimentais. Sendo assim, podemos indicar que a ovariectomia afeta a reabsorção radicular induzida ortodonticamente, bem como o movimento dentário através do sistema hormonal, pela alteração

do metabolismo ósseo por meio de alguns biomarcadores e vias biológicas (SIRISOONTORN *et al.*, 2011).

Cabe ressaltar que há um predomínio de mulheres na busca por tratamento ortodôntico. Assim sendo, visando atendimento personalizado para este público, torna-se de fundamental importância o conhecimento dos fatores sistêmicos e como estes podem influenciar o resultado do tratamento ortodôntico oferecido, bem como a estabilidade dental pós-tratamento a longo-prazo (HARUYAMA *et al.*, 2002).

Com a crescente demanda de procura por tratamento ortodôntico de pacientes adultos e idosos, nossos resultados reforçam a importância do conhecimento e atualização, por parte do cirurgião dentista, dos fatores que podem impactar negativamente o sucesso do tratamento ortodôntico, tais como as alterações hormonais e o histórico de trauma dentário. Os resultados em modelos experimentais fornecem evidências, sendo bom guia de orientação, atenção e cuidados que deve ser destinado individualmente aos pacientes em tratamento ortodôntico.

7. CONCLUSÃO

Concluimos que a movimentação dentária induzida associada ao traumatismo dentoalveolar e/ou a ovariectomia, aumenta a taxa de movimentação dentária e eleva as ocorrências de hialinização do tecido pulpar e reabsorção radicular interna.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABI-RAMIA, L. B. P; STUANI, A. S; STUANI, A. S; STUANI, M. B. S; MENDES, A. M. Efeitos da Laserterapia de Baixa Intensidade e do Movimento Ortodôntico do Dente nas Polpas Dentárias em Ratos. **The Angle Orthodontist**. vol. 80, n.1, p. 116-122, 2010

ALHODHODI, A; ALKHAROBI, H; HUMPHRIES, M; ALKHAFAJI, H; EL-GENDY, R; FEICHTINGER, G; SPEIRS, V; BEATTIE, J. O estrogen receptor β (ER β) regulates osteogenic differentiation of human dental pulp cells. **J Steroid Biochem Mol Biol**. v.174, p.296-302, 2017.

ANDREASEN, J. O.; ANDREASEN, F. M. Texto e atlas colorido de traumatismo dental. **Artmed**. 3ª ed. Porto Alegre.p. 151-177, 2001.

ARKAHIS, A.; ATHANASIADOU, E.; VLACHOU, C. Social and Psychological Aspects of Dental Trauma, Behavior Management of Young Patients Who have Suffered Dental Trauma. **Open Dent J**. v.31, n.11, p. 41-47, 2017.

ARSLAN, S.G, ARSLAN H, KETANI, A, HAMANCI, O. Effects of estrogen deficiency on tooth movement after force application: an experimental study in ovariectomized rats. **Acta Odontol Scand**. v. 65, p. 319-23, 2007.

BAVARESCO, C.S.; FONTANIEVE, P. V.; DE CASTRO FILHO, E. D.; HARZHEIM, E. Guidelines for the treatment of traumatic injuries. **Dental Traumatol**. V. 23, p. 130-137, 2009.

BEZERRA, J. P.; SIQUEIRA, A.; PIRES, A. G.; MARQUES, M.R.; DUARTE, P. M.; BASTOS, M. F. Effects of estrogen deficiency and/or caffeine intake on alveolar bone loss, density, and healing: a study in rats. **J Periodontol**. v. 84, n. 6, p.839– 849, 2013.

BOMFIM, R. A.; HERRERA, D.R.; DE CARLI, A.D.Oral health-related quality of life and risk factors associated with traumatic dental injuries in Brazilian children: A multilevel approach. **Dent Traumatol**. May, 2017.

BORTOLOTTI, M.; LAIA, D.; QUINTANILHA, J. Movimentação dentária induzida em dentes permanentes traumatizados. **RGO - Rev Gaúcha Odontol.** v.59, n. 0, p. 153-159, 2011.

BUSATO, M. C. A.; PEREIRA, A. L. P.; SONODA, C.K.; CUOGHI, O. A.; MENDONÇA, M. R. Microscopic evaluation of induced tooth movement after subluxation trauma: an experimental study in rats. **Dental Press J Orthod.**v. 19, n. 1, p.92-99, 2014.

CASSIDY, A. Potential tissue selectivity of dietary phytoestrogens and estrogens. **Curr Opin Lipidol**, v.10, n.1, p.47-52, Feb. 1999.

CESNJAJ, M.; STAVLJENIC, A.; VUKICEVIC, S. Decreased osteoinductive potential of bone matrix from ovariectomized rats. **Acta Orthop Scand.** v.62, p. 471–475, 1991.

COMPSTON, J.E. Sex steroids and bone. **Physiolog Rev**, v.81, n.1, p.419-47, Jan. 2001.

CONSOLARO A. Inflamação e reparo: um sílabo para a compreensão clínica e implicações terapêuticas. **Dental Press**, 2009.

CONSOLARO A, CARDOSO L. B., KINOSHITA A. M.; FRANCISCHONE L. A.; SANTAMARIA J. R.; FRACALLOSSI A. C.; MALDONADO V. B. Indirect bone resorption in orthodontic movement: when does periodontal reorganization begin and how does it occur? **Dental Press J Orthod**; v.16, n. 5, p. 25-31. 2011.

CONSOLARO, A.; FURQUIM. L. Extreme root resorption associated with induced tooth movement: A protocol for clinical management. **Dental Press J Orthod.** v.19, n. 5, p.19-26, 2014.

COSTA, L.A.; CANTANHEDE, L.M.; PEREIRA, E.M.; CRIVELINI, M.M.; CUOGHI, O.A.; PEREIRA, A. L. P.; DE MENDONÇA, M.R. Validation of a new experimental model of extrusive luxation on maxillary molars of rats: a histological study. **Clinical Oral Investigations.** v. 22, p.1985-1994, 2018.

CUOGHI, O.A.; FARIA, L.P.; ERVOLINO, E.; BARIONI, S.R.P.; TOPOLSKI, F.; ARANA-CHAVEZ, V.E.; MENDONÇA, M.R.

Pulp analysis of teeth submitted to different types of forces: a histological study in rats. **Journal of Applied Oral Science**. 4; 26, e20170626, 2018.

DAHHAS, F. Y.; EL-BIALY, T.; AFIFY, A.; HASSAN, A. H. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on orthodontic tooth movement and orthodontically induced inflammatory root resorption in ovariectomized osteoporotic rats. **Ultrasound in Med. & Biol**, v. 42, n. 3, p. 808-814, 2016.

DAI, Q., et al. Force-induced increased osteogenesis enables accelerated orthodontic tooth movement in ovariectomized rats. **Scientific Reports**. p. 1-8, 2017.

DEMPSTER, D. W.; LINDSAY, R. Pathogenesis of osteoporosis. **Lancet**. v. 341, p. 797–801, 1993.

DIANGELIS, A. J.; ANDREASEN, J. O.; KENNY, E. D. J. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 1. Fractures and luxations of permanent teeth. **Dental Traumatol**. v. 28, p. 2-12, 2012.

ESTRELA, C. Ciência Endodôntica. 1ª ed., **Artes Médicas**, 2004.

FAUL, F.; ERDFELDER, E.; LANG, A.G.; BUCHNER, A. G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. **Behavior Research Methods**. v. 39, p. 175-191, 2007.

FAUL, F.; ERDFELDER, E.; BUCHNER, A.; LANG, A.G. Statistical power analyses using G*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. **Behavior Research Methods**. v. 41, p. 1149-1160, 2009.

FLORES, M. T.; ANDERSSON, L.; ANDREASEN, J. O.; BAKLAND, L. K.; MALMGREN, B.; BARNETT, F. Guidelines for the management of traumatic dental injuries. I. Fracture and luxations of permanent teeth. **Dental Traumatol**. v. 23, p. 66-71, 2007.

GAMEIRO, G. H.; NOUER, D. F.; PEREIRA-NETO, J. S.; SIQUEIRA, V. C.; ANDRADE, E.D.; NOVAES, P. D.; VEIGA, M. C. F. Effects of short- and long-term celecoxib on orthodontic tooth movement. **Angle Orthod**. v. 78, p. 860-865, 2008.

GHONEIMA, A. A.; ALLAM, E. S.; ZUNT, S. L.; WINDSOR, L. J. Bisphosphonates treatment and orthodontic considerations. **OrthodCraniofac Res.** v. 13, p.1-10, 2010.

GLENDOR, U. Epidemiology of traumatic dental injuries - a 12 year review of the literature. **DentTraumatol.** v. 24, p.603-611, 2008.

GRABER, T. M.; VANARSDALL JR, R. L. Ortodontia: princípios e técnicas atuais. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

HARUYAMA, N., IGARASHI, K., SAEKI, S., OTSUKA-ISOYA, M., SHINODA, H., MITANI, H. Estrous-cycle-dependent variation in orthodontic tooth movement. *J Dent Res*, Washington, v.81, p.406410, 2002.

HASHIMOTO, M.; HOTOKEZAKA, H.; SIRISOONTORN, I.; NAKANO, T.; ARITA, T.; TANAKA, M.; YOSHIDA, N. Effect of bone morphometric changes on orthodontic tooth movement in an osteoporotic animal model. **Angle Orthod.** V. 83, n. 5, p.766-773, 2013.

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, 1979.

HONG, R. K.; YAMANE, A. KUWAHARA, Y.; CHIBA, M. The effect of orthodontic retention on the mechanical properties of the periodontal ligament in the rat maxillary first molar. **J Dent Res.** v.71, p.1350-1354, 1992.

IKEDA, K.; TSUKUI, T.; HORIE-INOUE, K.; INOUE, S. Conditional expression of constitutively active estrogen receptor alpha in osteoblasts increases bone mineral density in mice. **FEBS Lett.** v. 585, n. 9, p.1303–1309, 2011.

IMAI, Y.; KONDOH, S.; KOUZMENKO, A.; KATO, S. Minireview: osteoprotective action of estrogens is mediated by osteoclastic estrogen receptor–alpha. **MolEndocrinol.** v.24, n. 5, p. 877–885, 2010.

JAMES, V.; VANDERSLUIS, Y. R.; ZHANG, E.; W.; J.; SCOLNIK, D. Dental injuries in younger emergency department patients. **CJEM. Canadian Journal of Emergency Medicine**. p. 1-7, 2017.

KRISHNAN, V; DAVIDOVICH, Z. Cellular, molecular and tissue-level reactions to orthodontic forces. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**. v. 32, p.129-469, 2006.

KUIPER, G.G.J. M. et al. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. **Endocrinol**, v.138, n.3, p.863-70, 1997.

LEONARDI, D. P; GIOVANINI, A. F; ALMEIDA, S; SCHRAMM, C. A; BARATTO-FILHO, F. Pulp and periapical pathologies. **RSBO**. 2011, 8, 4, pp. 47-61. ISSN 1984-5685.

LEONARDO, M. R. Endodontia. Tratamento de canais radiculares – princípios técnicos e biológicos. Artes Médicas, São Paulo, 2005.

MACARI, S.; DUFFLES, L. F.; QUEIROZ-JUNIOR, C. M.; MADEIRA, M. F.; DIAS, G. J.; TEIXEIRA, M. M.; SZAWKA, R. E.; SILVA, T. A. O estrogen regulates bone resorption and cytokine production in the maxillae of female mice. **Arch Oral Biol**. v. 60, n. 2, p.333–341, 2015.

MANOLAGAS, S. C.; O'BRIEN, C. A.; ALMEIDA, M. The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease. **Nat Rev Endocrinol**. v. 9, n. 12, p. 699-712, 2013.

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

NAKAMURA, K.; YAMASAKI, M.; NISHIGAKI, N.; IWAMA, A.; IMAIZUMI, I.; NAKAMURA, H.; KAMEYAMA, Y. Effect of Methotrexate-induced neutropenia on pulpal inflammation in rats. **J. Endod.**, v. 28, n. 4, p. 287-290, 2002.

NAKAMURA, T.; IMAI, Y; MATSUMOTO, T.; SATO, S.; TAKEUCHI, K.; IGARASHI, K.; HARADA, Y.; AZUMA, Y.; KRUST, A.; YAMAMOTO, Y. Estrogen prevents bone loss via

estrogen receptor alpha and induction of Fas ligand in osteoclasts. **Cell**. v. 130. n. 5, p.811–823, 2007.

ROGGIA, C.; GAO, Y.; CENCI, S.; WEITZMANN, M. N.; TORALDO, G.; ISAIA, G.; PACIFICI, R. Up-regulation of TNF-producing T cells in the bone marrow: a key mechanism by which estrogen deficiency induces bone loss in vivo. **Proc Natl AcadSci U S A**.v. 98, n. 24, p. 13960–13965, 2001.

RUGGIERO, R. J.; LIKIS, F.E. Estrogen: physiology, pharmacology and formulations for replacement therapy. **J Midwifery Women's Health**, v.47, n.3, May/June 2002.

SANTAMARIA, M. Jr; MILAGRES, D; STUANI, A. S; STUANI, M. B. S; RUELLAS, A. C. O. Initial changes in pulpal microvasculature during orthodontic tooth movement: a stereological stud. **European Journal of Orthodontics** 28 (2006) 217–220 doi:10.1093/ejo/cji117 Advance Access publication 4 May 2006.

SANTAMARIA, M. JR; MILAGRES, D; IYOMASA, M. M; STUANI, M. B. S; RUELLAS, A. C. O. Initial pulp changes during orthodontic movement: histomorphological evaluation. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 1, p. 34-39, 2007.

SEIFI, M. EZZATI, B. SAEDI, S. MEDI, H. The effect of Ovariectomy and Orchiectomy on Orthodontic Tooth Movement and Root Resorption in Wistar Rats. **Dent Shiraz Univ Med Sci**.v. 16; n. 4; p. 302-309; 2015.

SHU, L.; GUAN, S. MAN, S. M.; FU, S. M.; GUO, T.; CAO, M.; DING, Y. Estrogen modulates cytokine expression in human periodontal ligament cells. **J Dent Res**. v. 87, n. 2, p. 142–147, 2008.

SIRISOONTORN, I; HOTOKEZAKA, H; HASHIMOTO, M; GONZALES, C; LUPPANAPORNARP, S; DARENDELILER, M. A; YOSHIDA, N. Tooth movement and root resorption; the effect of ovariectomy on orthodontic force application in rats. **AngleOrthod**. v. 81, n. 4, p. 570–577, 2011.

SIRISOONTORN, I.; HOTOKEZAKA, H.; HASHIMOTO, M.; GONZALES, C.; LUPPANAPORNLARP, S.; DERENDELILER, M. A.; YOSHIDA, N. Orthodontic tooth movement and root resorption in ovariectomized rats treated by systemic administration of zoledronic acid. **Am J Orthod Dentofacial Orthop.** V. 141, n.5, p.563-73. 2012.

SILVA, M. B; LIMA, C. A. C; LIMA, L. A. C. Reabsorção radicular na movimentação ortodôntica: implicações clínicas. *Rev. Cient. Mult.* v.3 n.2 p.26-33 jul-dez 2018.

SOARES, D. G; RIBEIRO, A. P. D; BRISO, A. L. F; HEBLING, J; COSTA, C. A. S. Complexo dentino-pulpar: fisiologia e resposta às injúrias. **Artes Médicas.** Cap: 1 p. 01-24, 2014.

STRECKFUS, C. F.; JOHNSON, R. B.; NICK, T.; TSAO, A.; TUCCI, M. 1997. Comparison of alveolar bone loss, alveolar bone density and second metacarpal bone density, salivary and gingival crevicular fluid interleukin-6 concentrations in healthy premenopausal and postmenopausal women on estrogen therapy. **J Gerontol ABiolSci Med Sci.** v.52, n. 6, p. M343–M351, 1997.

TANAKA, M.; EJIRI, S.; TOYOOKA, E.; KOHNO, S.; OZAWA, H. Effects of ovariectomy on trabecular structures of rat alveolar bone. **J Periodontal Res.** v. 37, p. 161–165, 2002.

TIVESTEN, A. et al. Additive protective effects of estrogen and androgen treatment on trabecular bone in ovariectomized rats. **J Bone Miner Res,** v.19, n.11, p.1833-9, 2004.

TONDELLI, P. M.; MENDONÇA, M. R.; CUOGHI, O. A.; PEREIRA, A. L. P.; BUSATO, M. C. A. Knowledge on dental trauma and orthodontic tooth movement held by a group of orthodontists. **Braz Oral Res.** v. 24, p. 76–82, 2010.

TONDELLI, Pedro Marcelo. Avaliação histomorfométrica da movimentação dentária induzida em ratos com força contínua, contínua interrompida e intermitente. **Tese** (Doutorado em odontologia, área de concentração: ortodontia). Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Araçatuba, 2011.

VERRI, Ana Caroline Gonçalves. Avaliação histomorfométrica dos efeitos da movimentação dentária induzida sobre molares de ratos submetidos a luxação extrusiva. **Tese** (Doutorado em Odontologia, área de concentração: ortodontia) Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Unesp, Araçatuba, 2015.

VON BÖHL, M; REN, Y; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M; FUDALEJ, P. S; MALTHA, J. C. Age-related changes of dental pulp tissue after experimental tooth movement in rats. **PeerJ**. P. 01-14, 2016.

XU, T.; ZHAO, T.; XU, W.; DING, Y. Periodontal microstructure change and tooth movement pattern under different force magnitudes in ovariectomized rats: An in-vivo microcomputed tomography study. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 143, n. 6, p. 828-836, 2013.

WANG, Y; YAN, M; YU, Y; WU, J; YU, J; FAN, Z. Estrogen deficiency inhibits the odonto/osteogenic differentiation of dental pulp stem cells via activation of the NF-kappaB pathway. **Cell Tissue Res**. v.352, n.3, p.551–559, 2013.

YAN, M; YU, Y; ZHANG, G; TANG, C; YU, J; A journey from dental pulp stem cells to a bio-tooth. **Stem Cell Rev**. v.7, n.1, p.161–171, 2011.

9. ANEXO

Parecer de protocolo do Comitê de Ética no Uso de Animais da UNIOESTE.

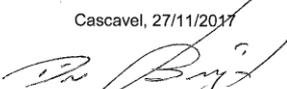


Autorização

O protocolo intitulado “Avaliação dos efeitos da deficiência de estrógeno sobre a estrutura do periodonto e reabsorção radicular durante a movimentação dentária induzida em molares de ratos submetidos à luxação extrusiva”, sob a responsabilidade de **João Paulo de Arruda Amorim** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata*, para fins de pesquisa científica encontra-se **Aprovado** para execução, está de acordo com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do UNIOESTE em reunião de 24/11/2017.

FINALIDADE	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	05/02/2018 - 30/06/2018
Espécie/linhagem/raça	Rato: <i>Ratus norvegicus</i> , Wistar
N. de animais	80
Peso/Idade	180g/50 dias
Sexo	Feminino
Origem	Biotério central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE - Campus Cascavel - PR.

Cascavel, 27/11/2017


Prof. Dr. Dirceu Baumgartner
Vice coordenador do CEUA
Portaria nº 3730/2016 - GRE