



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ODONTOLOGIA (PPGO) - MESTRADO



ADRIANA PAULA BATISTA DA COSTA PASA

Efeitos da ovariectomia associada ao trauma dentoalveolar sobre a
movimentação dentária induzida de molares de ratos

Cascavel-PR
2019

ADRIANA PAULA BATISTA DA COSTA PASA

Efeitos da ovariectomia associada ao trauma dentoalveolar sobre a movimentação dentária induzida de molares de ratos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 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

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

Costa Pasa, Adriana Paula Batista da
Efeitos da ovariectomia associada ao trauma
dentoalveolar sobre a movimentação dentária induzida de
molares de ratos / Adriana Paula Batista da Costa Pasa;
orientador(a), João Paulo de Arruda Amorim;
coorientador(a), Mauro Carlos Agner Busato, 2019.
47 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste
do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em
Odontologia, 2019.

1. Ortodontia. 2. Ovariectomia. 3. Trauma dental. 4.
Periodonto. I. Amorim, João Paulo de Arruda. II. Busato,
Mauro Carlos Agner . III. Título.



unioeste

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

ADRIANA PAULA BATISTA DA COSTA PASA

Efeitos da ovariectomia associada ao trauma dentoalveolar sobre a movimentação dentária induzida de molares de ratos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra 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)

Sandra Lucinei Balbo

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

Laerte Luiz Bremm

Universidade Paranaense - UNIPAR (UNIPAR)

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

Cascavel, 7 de maio de 2019

DEDICATÓRIA

À minha mãe **Maria da Costa**, que sempre me apoiou incondicionalmente em todas as situações da vida e etapas de estudo.

Ao meu esposo **Rangel Adriano Pasa**, que por diversas vezes organizou a sua vida em função da minha.

À minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, **à Deus**, pelo dom da vida, por me permitir passar por mais esta etapa de estudos com saúde e por ter me dado energia e benefícios 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.

Ao meu esposo **Rangel Adriano Pasa** pela eterna disposição em me ajudar, pelo estímulo para eu prosseguir no mestrado, por todo carinho e dedicação e por viver cada momento deste trabalho do meu lado.

À minha mãe **Maria da Costa** por ter sempre me incentivado a continuar meus estudos, mesmo em adversidades. Por suportar minha ausência nesses dois últimos anos e por continuar me amando acima de tudo.

À **Unioeste**, pela oportunidade de realizar este curso de mestrado na mesma instituição que concluí a graduação e pela infraestrutura.

Aos professores das bancas de qualificação **Juliana Delben** e **Alexandre Bandeira**, por todas as considerações pertinentes e pelo comprometimento com a melhoria deste trabalho.

Aos meus familiares, pela paciência que tiveram comigo, por sempre acreditarem em mim e me apoiarem incondicionalmente.

Às minhas amigas de turma **Camilla Sanches** e **Elen Klein**, por serem a garantia das melhores risadas mesmo em meio às adversidades durante o curso.

À minha amiga **Anggie Martins** por acompanhar comigo os finais de semana no biotério e por sempre ter uma palavra de incentivo.

À profa. **Elaine Amorim**, e alunas **Bruna Mezzaroba**, **Bruna Rossi** e **Hellen Brandão** pelo auxílio no serviço de biotério.

“Mas os que esperam no Senhor
renovam as suas forças,
sobem com asas como águias,
correm e não se cansam,
caminham e não se fatigam.”

Isaiás 40:31

Efeitos da ovariectomia associada ao trauma dentoalveolar sobre a movimentação dentária induzida de molares de ratos

RESUMO

O sucesso da movimentação dentária em dentes traumatizados depende da severidade da injúria, sendo a reabsorção radicular, uma consequência indesejável e possível de ocorrer antes, durante e após o tratamento ortodôntico. Além disso, o *status* hormonal do paciente tem um grande impacto na conduta do ortodontista, uma vez que pode influenciar diretamente a eficiência do tratamento. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da deficiência de estrógeno sobre a estrutura histológica dos tecidos periodontais e reabsorção radicular, durante a movimentação dentária induzida de molares de ratos submetidos à luxação extrusiva. Para isso foram utilizadas 48 ratas Wistar, separadas aleatoriamente em oito grupos experimentais, com 6 animais em cada, como segue: Grupo 1: controle; Grupo 2: animais submetidos ao trauma dentoalveolar (TD); Grupo 3: animais submetidos a ovariectomia (OVX); Grupo 4: animais submetidos ao TD+OVX; Grupo 5: animais submetidos a movimentação dentária induzida (MDI); Grupo 6: animais submetidos a MDI+TD; Grupo 7: animais submetidos a MDI+OVX e Grupo 8: animais que foram submetidos MDI+TD+OVX. A taxa de movimentação dentária foi significativamente maior nos animais do grupo MDI+TD+OVX quando comparado com os demais grupos. Os grupos MDI+TD e MDI+OVX apresentaram maior movimentação dentária quando comparados com o grupo MDI. Foram encontradas alterações periodontais, radiculares e ósseas principalmente nos grupos com movimentação dentária e trauma, e na associação movimentação, trauma e ovariectomia. Os grupos TD e TD+OVX apresentaram as maiores áreas de reabsorção radicular quando comparados com os grupos CTL e OVX. Todos os grupos com dispositivo de movimentação dentária apresentaram áreas de reabsorção radicular maiores que os animais dos grupos sem dispositivo de movimentação dentária. Não houve diferenças significativas de áreas de reabsorção radicular na comparação entre os grupos MDI+TD e MDI+OVX, porém, ambos apresentaram maiores áreas de reabsorção radicular quando comparados com o grupo MDI e menores na comparação com o grupo MDI+TD+OVX. O grupo MDI+TD+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 deficiência de estrógeno, induz a maior taxa de movimentação dentária e maior ocorrência de reabsorção radicular.

Palavras-chave: Movimentação ortodôntica, ovariectomia, trauma dental, reabsorção radicular.

Effects of ovariectomy associated with dentoalveolar trauma on induced tooth movement of rat molars

ABSTRACT

The success of tooth movement in traumatized teeth depends on the severity of the injury, with root resorption being an undesirable and possible consequence to occur before, during and after orthodontic treatment. In addition, the patient's hormonal status has a major impact on the orthodontist's behavior, as it can directly influence treatment efficiency. Thus, the objective of this study was to evaluate the influence of estrogen deficiency on the histological structure of periodontal tissues and root resorption during the induced tooth movement of molars of rats submitted to extrusive luxation. For this, 48 Wistar rats were used, separated into eight experimental groups, with 6 animals each, as follows: Group 1: control; Group 2: animals submitted to dentoalveolar trauma (DT); Group 3: animals submitted to ovariectomy (OVX); Group 4: animals submitted to DT+OVX; Group 5: animals submitted to induced tooth movement (ITM); Group 6: animals submitted to ITM+DT; Group 7: animals submitted to ITM+OVX and Group 8: animals that underwent ITM+DT+OVX. The tooth movement rate was significantly higher in the animals of the ITM+DT+OVX group when compared to the other groups. The ITM+DT and ITM+OVX groups presented higher tooth movement when compared to the OTM group. Periodontal, radicular and bone alterations were found mainly in the groups with tooth movement and trauma, and in the association of movement, trauma and ovariectomy. The DT and DT+OVX groups had the highest areas of root resorption when compared to the CTL and OVX groups. All groups with a tooth movement device presented areas of root resorption greater than the animals of the groups without tooth movement device. There were no significant differences in areas of root resorption in the comparison between the ITM+DT and ITM+OVX groups, however, both presented greater areas of root resorption when compared to the ITM group and smaller compared to the ITM+DT+OVX group. The ITM+DT+OVX group had the highest amounts of root resorption areas when compared to all experimental groups. We conclude that induced tooth movement associated with dentoalveolar trauma and estrogen deficiency induce a higher rate of tooth movement and a higher occurrence of root resorption.

Keywords: Orthodontic movement, ovariectomy, dental trauma, root resorption.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Fluxograma da sequência dos procedimentos experimentais	24
Figura 2 Fotografias da sequência da cirurgia de ovariectomia	25
Figura 3 Fotografias da sequência do procedimento de trauma dentoalveolar	27
Figura 4 Fotografias da sequência do procedimento de instalação do dispositivo de movimentação dentária induzida	28
Figura 5 Fotografias da mensuração da quantidade de movimentação dentária	29

LISTA DE ABREVIATURAS

E1	Estrone
E2	17 β -Estradiol
E3	Estriol
ER- α	Receptor de Estrógeno alfa
ER- β	Receptor de Estrógeno beta
IL-6	Interleucina-6
κ B	Kapa beta
LE	Luxação Extrusiva
LP	Ligamento Periodontal
MDI	Movimentação Dentária Induzida
NAD ⁺	Coenzima Dicotinamida Adenina dinucleotídeo oxidada
NHANES	The National Health and Nutrition Examination Survey
OPG	Osteoprotegerina
OVX	Ovariectomia
RANKL	Receptor Ativador do Fator Nuclear Kapa beta Ligante
RR	Reabsorção Radicular
TD	Trauma Dentoalveolar
TNF- α	Factor de Necrose Tumoral alfa

SUMÁRIO

1 Introdução:.....	12
2 Objetivos:	14
2.1 Objetivos Gerais:	14
2.2 Objetivos Específicos:	14
3 Revisão de Literatura:.....	15
3.1 Periodonto de sustentação:	15
3.1.1 Cimento:.....	15
3.1.2 Ligamento Periodontal:	15
3.1.3 Osso alveolar:	16
3.2 Movimentação Dentária Induzida:	17
3.3 Trauma dental ou traumatismo dentoalveolar:	18
3.4 Reabsorção radicular:	20
3.5 Estrógeno:.....	21
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:.....	27
4.2.5 Eutanásia e coleta do material biológico:	29
4.2.6 Análise quantitativa da movimentação dentária:.....	29
4.2.7 Processamento laboratorial:.....	30
4.2.8 Análise descritiva das lâminas histológicas:	30
4.2.9 Análise histomorfométrica da reabsorção radicular externa:	30
4.2.10 Análise estatística:	31
5 Resultados:	32
5.1. Análise da movimentação dentária:.....	32
5.2 Análise descritiva das lâminas histológicas:	33

5.3 Análise histomorfométrica da reabsorção radicular:	35
6 Discussão	36
7 Conclusão	39
8 Referências Bibliográficas.....	40
9 Anexo	47

1 Introdução

Ortodontistas possuem grande preocupação com o traumatismo dentoalveolar (TD), principalmente os que envolvem o periodonto de sustentação, pois o sucesso do tratamento ortodôntico depende da integridade destas estruturas (ANDREASEN *et al.*, 2002; BUSATO *et al.*, 2014). Estudos demonstram que a prevalência do TD é alta na população, principalmente entre crianças e adolescentes (TONDELLI *et al.*, 2010; GLENDOR, 2008). 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.

Andreasen *et al.* (2001), classificaram os tipos de TD, que envolvem os tecidos periodontais, 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 *et al.*, 2001; DIANGELIS *et al.*, 2012). Além disso, é um dos tipos de traumatismos mais comuns e está associado com risco de complicações periodontais e de reabsorção radicular (HERMANN *et al.*, 2012; GULINELLI *et al.*, 2008).

A reabsorção radicular é uma das principais sequelas estudadas, tanto em relação ao TD, quanto à movimentação dentária induzida (MDI), bem como na associação do trauma e movimentação ortodôntica. Este evento pode ocorrer pela ativação de células clásticas que reabsorvem os tecidos mineralizados por um mecanismo semelhante ao da reabsorção óssea, levando a perda do elemento dentário em casos extremos (BUSATO *et al.*, 2014, ROTHBARTH *et al.*, 2014; KIKUTA *et al.*, 2015).

Durante a movimentação ortodôntica, geralmente a reabsorção radicular não acontece, pois os cementoblastos não apresentam receptores para os mediadores da reabsorção óssea. Porém, um dente que sofreu traumatismo dentário pode ter lesionado a camada de cementoblastos. Assim, a superfície radicular é recoberta por osteoblastos vizinhos, que assumem as funções dos cementoblastos, sendo denominados de “cementoblastos-like”. Caso exista uma situação em que há grande acúmulo de mediadores da reabsorção óssea no ligamento periodontal, os osteoblastos tipo “cementoblastos-like” funcionam como uma

unidade osteorremodeladora, já que apresentam receptores que captam as mensagens bioquímicas para tal função (CONSOLARO, 2005). A MDI em dentes traumatizados pode representar essa situação, aumentando o risco da reabsorção radicular e até mesmo de anquilose dentária (KINDELAN *et al.*, 2008).

Durante o tratamento ortodôntico, a quantidade de movimentação dentária causada pela remodelação óssea é influenciada pelo uso de drogas ou fatores sistêmicos (GHONEIMA *et al.*, 2010). Um dos fatores sistêmicos mais comuns é a osteoporose, relacionada com menopausa ou ovariectomia, resultando em perda óssea patológica (DEMPSTER & LINDSAY, 1993). A osteoporose seguida pela retirada de estrogênio e progesterona afeta o osso alveolar, promove doenças periodontais e é a principal causa da perda dentária (SEIFI *et al.*, 2015).

Os estrogênios são importantes reguladores do metabolismo ósseo (MANOLAGAS *et al.*, 2013). A maioria das ações do estrógeno são mediadas por receptor de estrógeno alfa ($ER\alpha$) e beta ($ER\beta$). Nos ossos esta ação ocorre em parte via $ER\alpha$, encontrados em osteoblastos e osteoclastos (NAKAMURA *et al.*, 2007; IMAI *et al.*, 2010; IKEDA *et al.*, 2011). Sabe-se que a ativação de $ER\alpha$ em osteoblastos estimula a produção de osteoprotegerina (OPG), aumentando a densidade óssea mineral (IKEDA *et al.*, 2011). A deficiência de estrogênio resulta em perda de osso maxilar e aumento da remodelação óssea induzida por carga mecânica (SIRISOONTORN *et al.*, 2011; BEZERRA *et al.*, 2013; MACARI *et al.*, 2015). Baixa concentração de estrógeno está associada com produção desequilibrada do factor de necrose tumoral alfa ($TNF-\alpha$), de receptor ativador do fator nuclear kapa beta (RANKL) (κB) e interleucina-6 (IL-6) no tecido periodontal, podendo ser revertido com a reposição de estrógeno (STRECKFUS *et al.*, 1997; ROGGIA *et al.*, 2001; SHU *et al.*, 2008; MACARI *et al.*, 2015).

Estas observações sugerem que os tecidos periodontais são alvos da ação dos estrogênios e juntamente com o trauma dentoalveolar, são importantes fatores nas patologias que afetam o periodonto e o osso alveolar. Assim, justifica-se a realização desta pesquisa para avaliar os efeitos da deficiência de estrogênio sobre a movimentação ortodôntica de dentes traumatizados.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral:

Avaliar a estrutura histológica dos tecidos periodontais e reabsorção radicular, durante a movimentação dentária induzida de molares de ratas submetidas a ovariectomia e trauma dentoalveolar.

2.2 Objetivos Específicos:

- a) Avaliar se a ovariectomia associada ao trauma dentoalveolar interfere na taxa de movimentação dentária induzida;
- b) Avaliar se a ovariectomia associada ao trauma dentoalveolar interfere na organização histológica dos tecidos periodontais durante a movimentação dentaria induzida.
- c) Avaliar se a ovariectomia associada ao trauma dentoalveolar interfere na taxa de reabsorção radicular externa durante a movimentação dentaria induzida.

3 Revisão de Literatura

3.1 Periodonto de Sustentação

O cimento, o ligamento periodontal e o processo ósseo alveolar constituem uma unidade estrutural e funcional denominado periodonto de inserção ou sustentação, entre o dente e o alvéolo dentário. Estas estruturas possuem origem ectomesenquimal, a partir da diferenciação das células do saco ou folículo dentário. Sua função é fixar os dentes nos ossos da maxila e mandíbula. Além disso, funcionam como um sistema para amortecimento das forças mastigatórias para evitar a fratura dos tecidos mineralizados do dente (KATCHBURIAN & ARANA, 2012).

3.1.1 Cimento

O cimento é um tecido conjuntivo mineralizado, avascular, que recobre a dentina radicular, tendo como principal função a inserção das fibras do ligamento periodontal na raiz do dente. É constituído por 60% de mineral (principalmente cristais de hidroxiapatita) e 40% de matriz orgânica, constituída majoritariamente por colágeno do tipo I. A espessura do cimento é variável sendo mais fino no terço cervical da raiz, aumentando gradualmente em direção apical (KATCHBURIAN & ARANA, 2012).

Estruturalmente pode ser dividido em: cimento acelular de fibras extrínsecas, encontrado na porção cervical de todos os dentes e cimento celular, de fibras mistas (extrínsecas e intrínsecas), que recobre a porção apical da raiz, sendo caracterizado pela presença de células (cementócitos) em lacunas no interior da matriz (FOSTER, 2012). Acredita-se que a principal função do cimento celular esteja relacionada com movimentação dental pós-eruptiva e adaptação à oclusão (FOSTER, 2012), atuando também em processos de reparo em regiões de fratura ou reabsorção radicular (NANCI & BOSSHARDT, 2006). Por outro lado, o cimento acelular exerce um papel crítico na fixação das fibras do ligamento periodontal. Estudo demonstra que falhas no processo de cementogênese acelular estão relacionadas à uma fraca inserção das fibras colágenas do ligamento periodontal no cimento, podendo levar ao desenvolvimento da doença periodontal (FOSTER *et al.*, 2013).

3.1.2 Ligamento periodontal

O ligamento periodontal (LP) é um tecido conjuntivo frouxo, caracterizado por grossos feixes de colágeno que se inserem no cimento e no processo ósseo alveolar,

estabelecendo desta maneira, a articulação entre o dente e seu alvéolo. É constituído por uma heterogênea população celular que incluem fibroblastos, que são responsáveis pela remodelação e renovação (*turnover*) dos componentes da matriz extracelular, osteoblastos, osteoclastos, restos de células epiteliais de Malassez, monócitos, macrófagos, células mesenquimais indiferenciadas, cementoblastos e odontoclastos (CHO & GARANT, 2000).

A região preenchida pelo LP é conhecida como espaço periodontal. A espessura do ligamento periodontal varia de acordo com a região ao longo da raiz do dente e a idade, apresentando uma diminuição com o envelhecimento (KATCHBURIAN & ARANA, 2012). O ligamento periodontal forma-se à medida que o dente se desenvolve e irrompe na cavidade oral, e sua estrutura não se completa até que o dente entre em oclusão e seja aplicada a força funcional (TEN CATE, 2001).

A principal função do LP é amortecer as forças mastigatórias e por meios de seus receptores sensoriais e proprioceptivos, desempenha importante papel na acomodação dos arcos dentários durante os movimentos funcionais mastigatórios do sistema estomatognático. Além disso, devido à presença de células indiferenciadas, o LP tem uma participação importante na homeostasia, regeneração e reparo dos tecidos periodontais (XIAO & NASU, 2014).

3.1.3 Osso alveolar

O osso alveolar é a porção de tecido ósseo da maxila e da mandíbula que delimita o alvéolo dentário no qual o dente está alojado e fixado por meio das fibras do ligamento periodontal. Desta forma constitui uma verdadeira articulação que permite resistir às forças geradas pelo contato intermitente dos elementos dentários durante a mastigação, fonação e deglutição. É um tecido conjuntivo mineralizado constituído por 60% de substâncias minerais (principalmente cristais de hidroxiapatita), 20% de matriz orgânica, caracterizada principalmente por colágeno I e 20% de água (FERRARIS & MUNHOZ, 2006).

A estrutura óssea é formada, mantida e remodelada pela ação de três células principais: osteoblastos, osteoclastos e osteócitos. Essas células estão presentes na superfície das trabéculas ósseas do osso esponjoso, superfícies externa e interna do osso cortical e inseridos no próprio osso. Os osteoblastos produzem a matriz orgânica (osteóide) que sofre posterior calcificação. Durante o processo de maturação e calcificação do osteóide, alguns osteoblastos são aprisionados transformando-se em osteócitos. Os osteócitos alojados nas lacunas do osso calcificado ligam-se entre si e com osteoblastos da superfície óssea por meio de prolongamentos citoplasmáticos que estão presentes em canalículos. Já os osteoclastos

estão nas superfícies ósseas e são responsáveis pela degradação da matriz óssea (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

De maneira geral, os mecanismos reguladores de formação, remodelação e reabsorção óssea alveolar são os mesmos que controlam o tecido ósseo do restante do organismo. Entretanto, destaca-se que no osso alveolar o *turnover* ocorre muito mais rapidamente e o tecido é totalmente reabsorvido na ausência do dente (FERRARIS & MUNHOZ, 2006).

A homeostasia dos tecidos periodontais envolve uma rede complexa, multifatorial na qual, pelo menos em parte, os hormônios sexuais esteróides exercem importantes funções, tanto em processos fisiológicos quanto patológicos (MARIOTTI & MAWHINNEY, 2013). Dentre os hormônios sexuais esteróides que exercem importante função na regulação e manutenção dos tecidos periodontais destaca-se o estrógeno (MACARI *et al.*, 2015).

3.2 Movimentação Dentária Induzida

A condição biológica a ser desenvolvida nos tecidos periodontais após a movimentação ortodôntica sofre interferência direta da característica da força aplicada. Segundo Graber & Vanarsdall (2002), existem dois diferentes tipos de forças empregadas em Ortodontia, as forças contínuas e as intermitentes. O emprego de força contínua 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. Por outro lado, a força intermitente 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 extrabucais.

Tondelli (2011) pesquisou por meio da avaliação histomorfométrica, as reações da movimentação dentária induzida em ratos sob as condições de força contínua (FC), força contínua interrompida (FCI) e força intermitente (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.

Na ocorrência de trauma dentoalveolar, a movimentação ortodôntica pode ser iniciada após um período de 1 (um) ano de observação, principalmente quando a reabsorção radicular

não é vista neste período. Os dentes anquilosados não respondem a estímulos ortodônticos e podem causar movimentos indesejados nos dentes adjacentes. Todos os dentes a serem movimentados ortodonticamente sofrerão algum tipo de reabsorção radicular, detectado em radiografias ou não, e o traumatismo pode acentuar esta condição. O sucesso da movimentação dentária, em dentes traumatizados, depende da severidade da injúria, sendo a reabsorção radicular, sequela possível de ocorrer antes, durante e após o tratamento ortodôntico. Portanto, um dente traumatizado pode ser movido ortodonticamente, desde que algumas medidas sejam realizadas, tais como a realização de anamnese e exame clínico criterioso, acompanhamento com exames por imagem, utilização de forças leves e intermitentes e, se necessário, replanejamento ou interrupção do tratamento se o custo biológico for alto (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 trauma dental 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 trauma dental. 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 jovens com dentição em desenvolvimento (ARKAHIS *et al.*, 2017).

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

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. Possível presença de abaulamento da tábua óssea vestibular, edema em tecidos moles, graus variados de mobilidade. Ao teste de percussão, observa-se som metálico.

A luxação extrusiva é o deslocamento parcial do dente para fora do seu alvéolo, com presença de grande hemorragia, sendo caracterizada clinicamente pelo aspecto alongado do dente, mobilidade excessiva, geralmente resposta negativa do dente ao teste de sensibilidade e, radiograficamente observa-se aumento do espaço do ligamento periodontal. Além disso, é um dos tipos de traumatismos que aumenta o risco de complicações periodontais, sendo um dos mais comuns (BAVARESCO *et al.*, 2009; DIANGELIS *et al.*, 2012; VERRI, 2015).

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 levando à perda dentária. No entanto, do ponto de vista epidemiológico, a causa mais frequente é o

tratamento ortodôntico que quase nunca induz a reabsorção que leva à perda dentária (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 hereditariamente transmitida, se a força induzir mais ou menos estresse, inflamação, hialinização e morte celular, isso não está diretamente relacionada aos genes que comandam o processo de defesa e reparo no ligamento periodontal. Há uma relação direta entre o tipo, intensidade e frequência da força e a morfologia radicular e óssea local, com o grau de severidade da reabsorção radicular. Se houvesse uma causa genética para as reabsorções radiculares, o ortodontista poderia se ver livre da responsabilidade em relação à perda da estrutura dentária e até de alguns dentes, pois poderia atribuir a culpa à genética do paciente em ser predisposto a desenvolver tais reabsorções. Não podemos dizer que a reabsorção óssea e dentária, em movimentações ortodônticas, tem natureza hereditária, apesar de seus fenômenos terem natureza genética, porque são feitos com informações dos genes, o fato de qualificarmos como um fenômeno genético não necessariamente lhe dá como conotação hereditária (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 pulpares 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 para. 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).

A osteoporose induzida por deficiências de estrogênio e progesterona no período pós-menopausa resulta em perda óssea e aumento do *turnover* ósseo. Os estrogênios e os andrógenos têm sido tradicionalmente conhecidos como reguladores da rotatividade óssea em mulheres e homens. A osteoporose seguida pela retirada de estrogênio e progesterona afeta o osso alveolar, promove doenças periodontais e é a principal causa da 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 & LILIS, 2002). Produzido pelos ovários, pelo córtex da adrenal, e periféricamente 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 & 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 ($ER\alpha$ e $ER\beta$) têm sido identificados, tanto em mulheres quanto em homens, apresentando distribuição diferente nos tecidos (RUGGIERO & 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 $ER\alpha$ 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 & LIKIS, 2002; TIVESTEN *et al.*, 2004). O $ER\beta$ é encontrado no trato gastrintestinal, cérebro, pulmão, sistema cardiovascular, trato urogenital, osso, e também nos tecidos do aparelho reprodutor, sendo o ovário e próstata os órgãos que mais expressam o $ER\beta$ (RUGGIERO & LIKIS, 2002; KUIPER *et al.*, 1997).

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 controlada 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 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

A ordem cronológica dos procedimentos experimentais empregados nesta pesquisa está apresentada na figura 1.

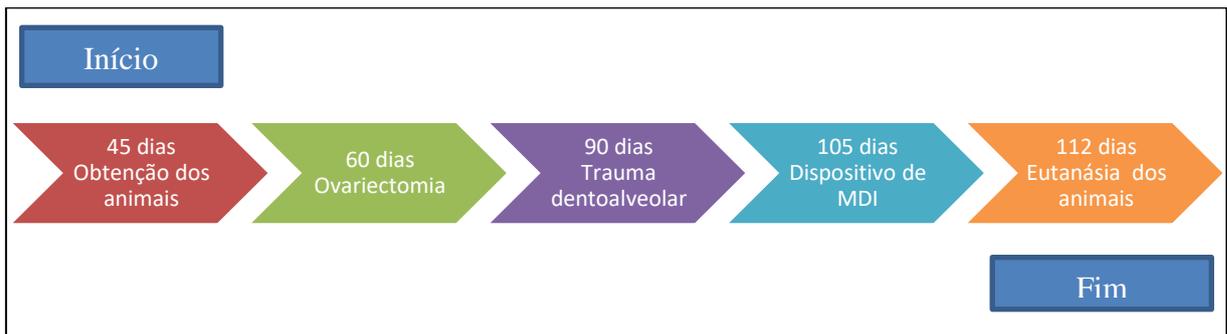


Figura 1. Fluxograma da sequência dos procedimentos experimentais.

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, 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 lateral seguida de anti-sepsia com álcool iodado. A pele e a musculatura foram incisadas longitudinalmente, na linha mediana da região abdomino-pélvica, e o ovário identificado e exposto. 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 categut 4 e a pele com fio de seda nº 4 (Figura 2). 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.

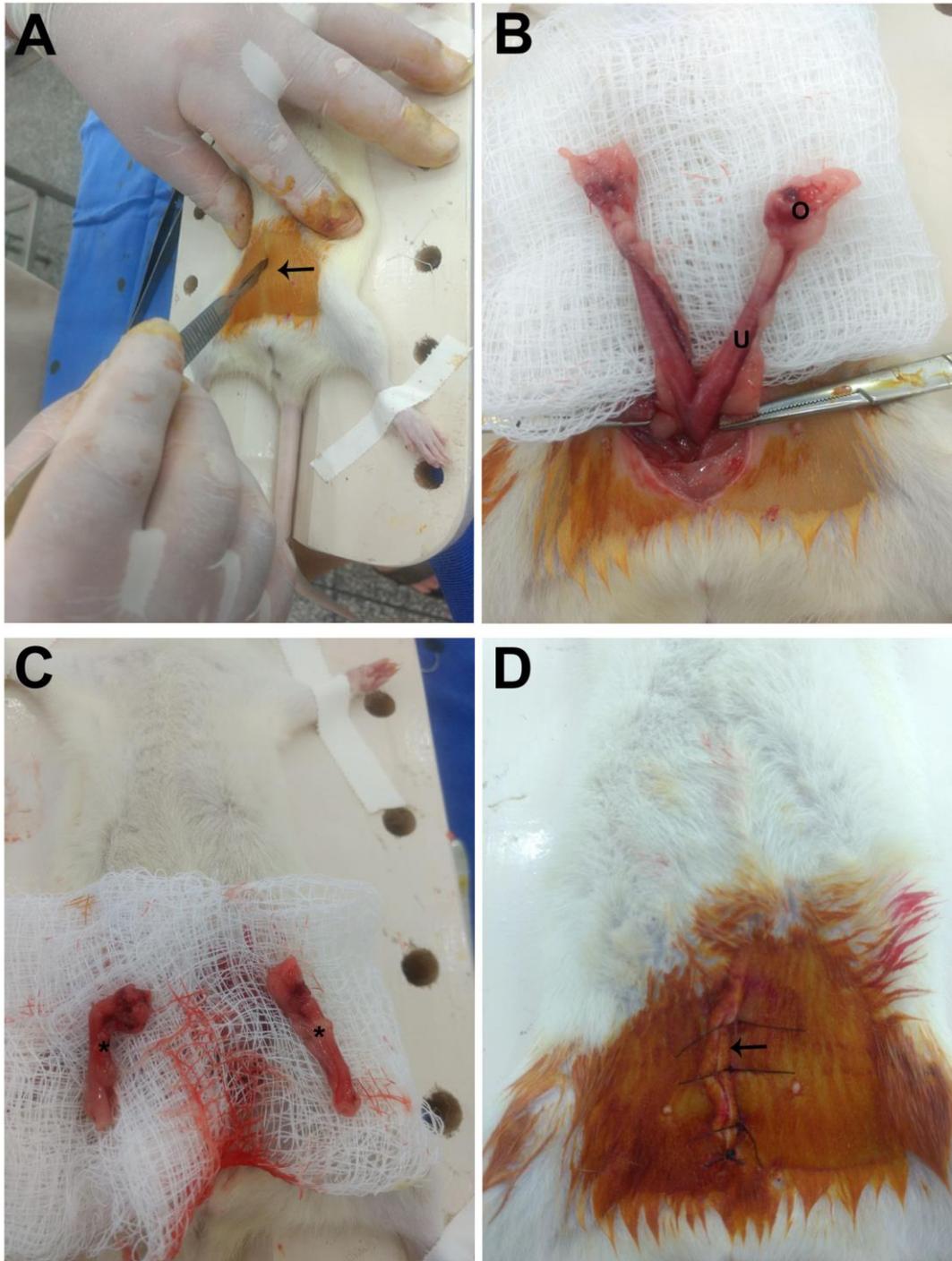


Figura 2. Fotografias da sequência da cirurgia de ovariectomia (OVX). A. Incisão mediana na região abdomino-pélvica (seta); B. Exposição do corno uterino (U), tuba uterina e ovários (O); C. Excisão ovariana juntamente com a gordura circundante, tuba uterina e uma pequena parte do útero (*); D. Região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

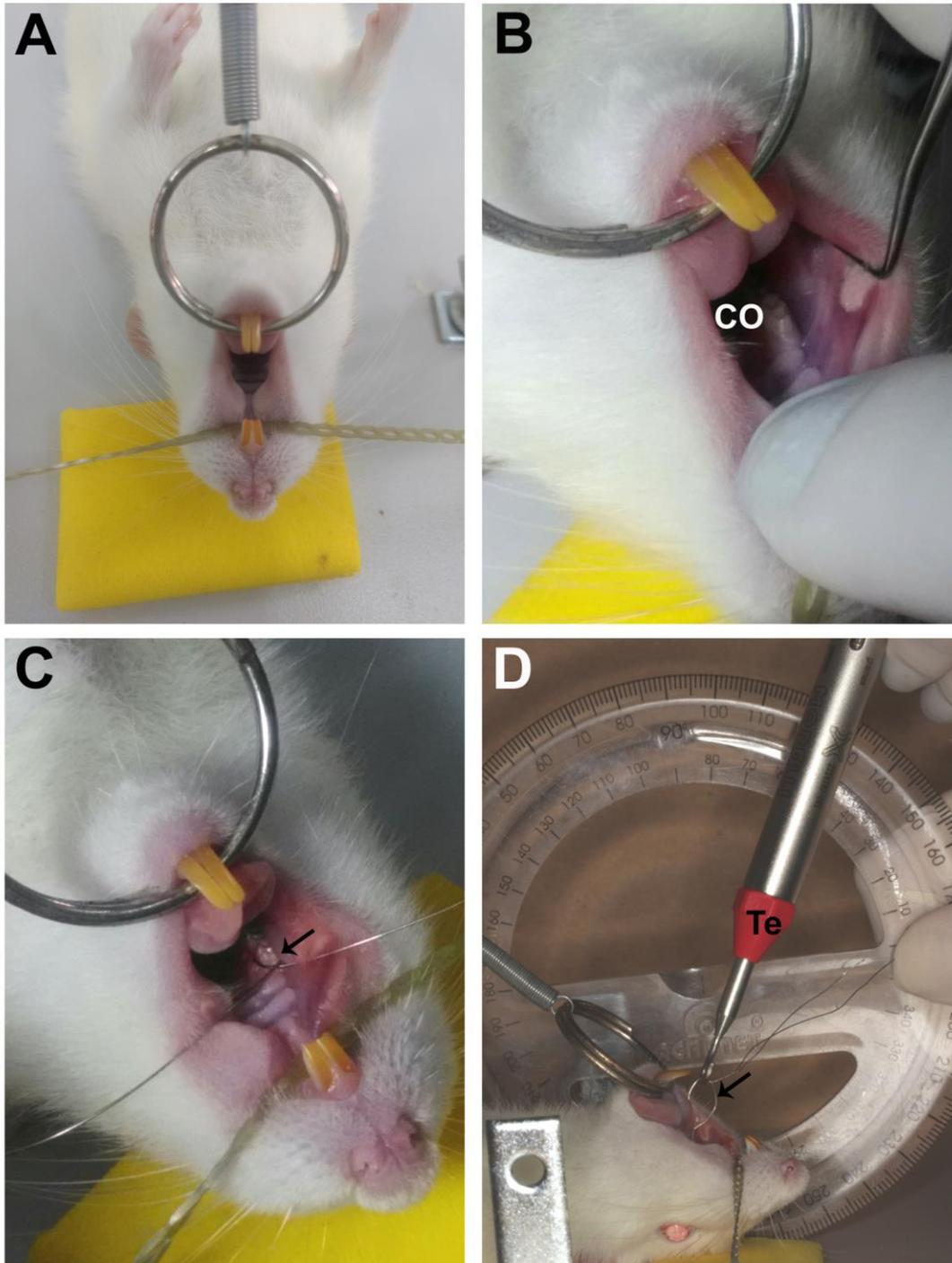


Figura 3. Fotografias da sequência do procedimento de trauma dentoalveolar. A. Posicionamento do animal em decúbito dorsal na mesa operatória; B. Abertura da cavidade oral do animal (CO); C. Fio de amarelo de inserido entre o primeiro e o segundo molar superior direito (seta); D. Tensiômetro (Te) posicionado 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 grupos experimentais G5, G6, G7 e G8, o dispositivo empregado neste estudo foi semelhante ao proposto por Heller & Nanda em 1979, o 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 amarelo, 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 amarelo 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 amarelo (Figura 4).

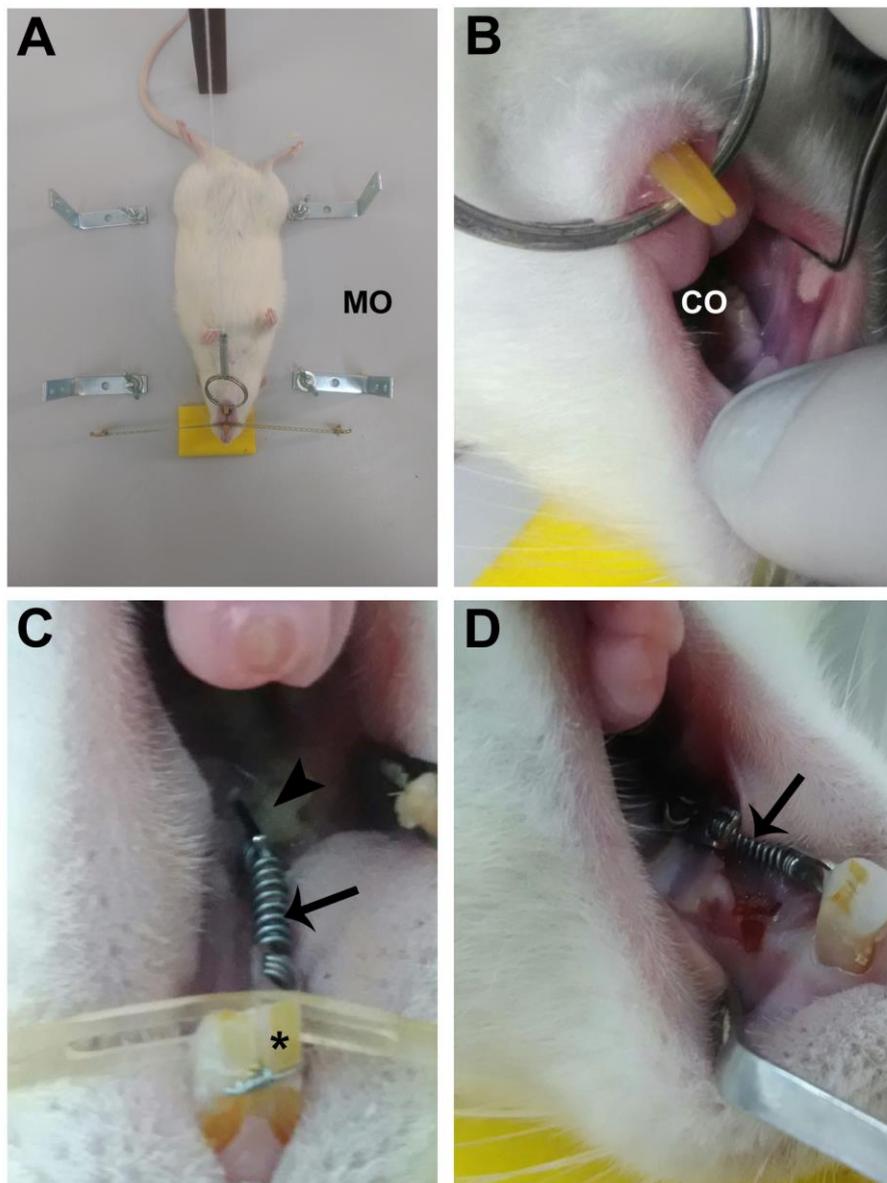


Figura 4. Fotografias da sequência do procedimento de instalação do dispositivo de MDI. A. Posicionamento do animal em decúbito dorsal em mesa operatória (MO); B. Animal com a cavidade oral aberta (CO); C e D. Mola de níquel-titânio (seta) com as extremidades ligadas a dois segmentos de fio de amarelo, 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).

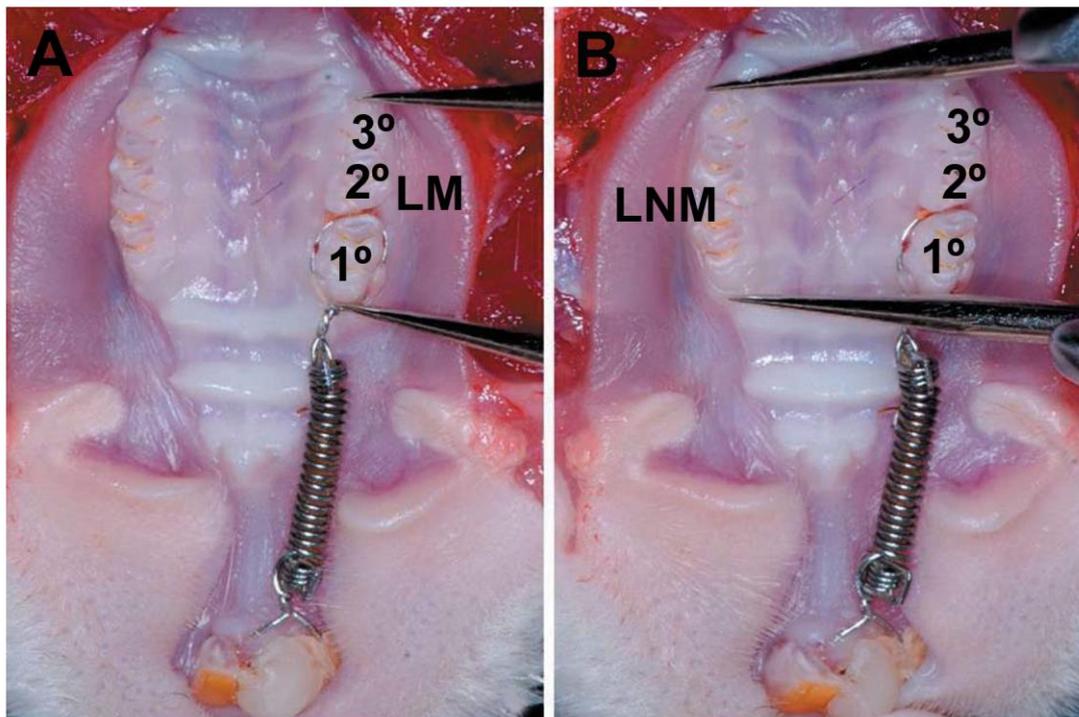


Figura 5. Fotografias da medida da quantidade de movimentação dentária obtida pela diferença entre as distâncias da face mesial do 1° molar superior até a distal do 3° molar superior (1°, 2°, 3° molares). A. paquímetro posicionado na hemimaxila direita – lado movimentado (LM). B. paquímetro posicionado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

As áreas específicas da análise descritiva foram: 1) ligamento periodontal das raízes mesiovestibular e distovestibular nas faces mesial e distal, terços cervical, médio e apical, 2) periodonto da região de furca; 3) crista óssea mesial; 4) septo interradicular; 5) septo interdental entre o primeiro molar superior direito e o segundo molar superior direito.

Os eventos histopatológicos investigados foram: reabsorção radicular externa, áreas de hialinização, infiltrado inflamatório agudo, infiltrado inflamatório crônico, presença de células gigantes multinucleadas, presença de alterações vasculares, organização do ligamento periodontal. Cada evento foi avaliado da seguinte maneira: ausência, presença ocasional, presença moderada e presença intensa (Costa *et al.*, 2018).

4.2.9 Análise histomorfométrica da reabsorção radicular externa

Para análise quantitativa da reabsorção radicular externa, foi considerada a face mesial da raiz distal em seus terços cervical e médio, pois esta é a região mais afetada pela compressão do ligamento periodontal tanto no trauma de luxação extrusiva quanto na movimentação dentária induzida. 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).

Cada medida foi realizada três vezes para se obter a média de cada um dos valores. Quando a região da raiz apresentou mais de uma área de reabsorção radicular, as áreas foram somadas para que se possa obter a área total de reabsorção por área/animal.

4.2.10 Análise Estatística

Para análise dos dados foi utilizado o teste estatístico para análise de variância – (ANOVA One Way), com teste “a posteriori” de Tukey. 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).

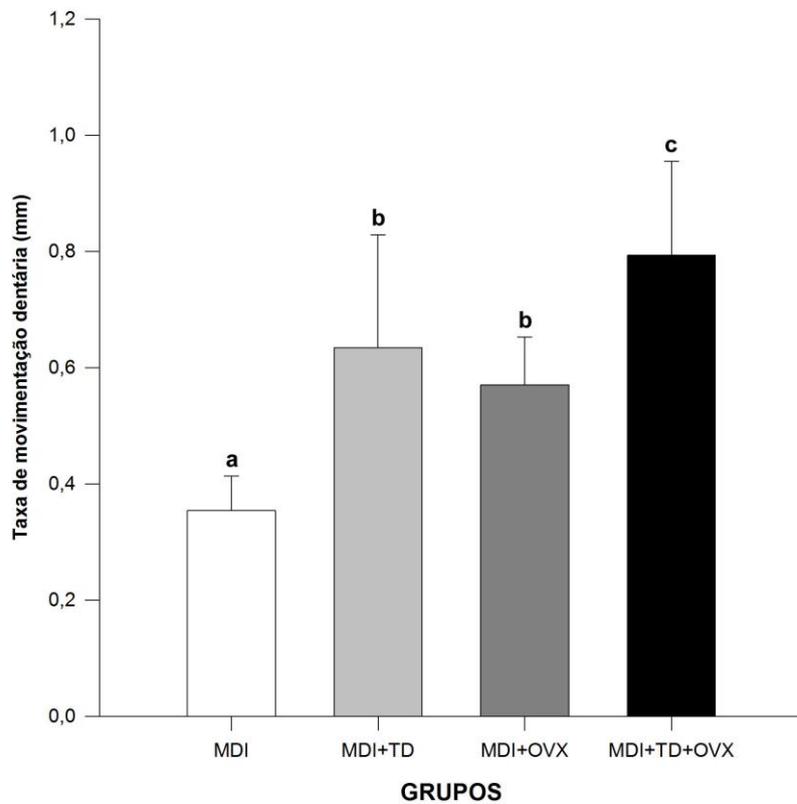


Gráfico 1. Taxa de movimentação dentária nos diferentes grupos experimentais submetidos a movimentação dentária induzida (MDI). Valores expressos em média \pm desvio padrão. N= 6 animais/grupo. Análise de variância (ANOVA One Way), com pós-teste de Tukey. Letras diferentes ^{a,b,c} = $p<0,05$.

5.2 Análise descritiva das lâminas histológicas

Grupo 1 - Controle (CTL): O ligamento periodontal (LP) encontrou-se com características de normalidade, rico em fibroblastos e fibras colágenas. As superfícies das raízes apresentaram-se contínuas em toda extensão na maioria dos animais, com algumas ocasiões de reabsorções radiculares. O septo interradicular e a crista óssea mesial apresentaram-se com aspectos de normalidade.

Grupo 2 - Trauma Dental (TD): O LP apresentou-se ocasionalmente desorganizado, com alterações vasculares no septo interradicular, no terço cervical da face mesial da raiz distovestibular, e na região da furca, com presença ocasional de células gigantes nesta região. Observou-se reabsorções radiculares nos terços cervical e médio na face distal da raiz mesiovestibular, no periodonto da furca, no terço médio na face mesial da raiz distovestibular, e no terço médio da face distal da raiz distovestibular.

Grupo 3 - Ovariectomia (OVX): O LP apresentou-se com características de normalidade. Presença de reabsorções nos terços médio e cervical da face mesial da raiz mesiovestibular, na região de furca, bem como no terço cervical da face distal da raiz distovestibular. O septo interradicular e crista óssea mesial apresentaram aspectos de normalidade.

Grupo 4 - Trauma + Ovariectomia (TD + OVX): O LP apresentou-se moderadamente desorganizado nos terços cervical e médio das faces mesial e distal, das raízes mesiovestibular e distovestibular, e no periodonto de furca. O septo interradicular e crista óssea mesial também apresentaram desorganização estrutural. Esses animais apresentaram alterações vasculares moderadas nas faces mesial e distal das raízes mesiovestibular e distovestibular, terços cervical e médio, bem como no septo interradicular. As reabsorções radiculares externas foram moderadas nos terços cervical e médio das faces mesial e distal das raízes mesio e distovestibular.

Grupo 5 - Movimentação Dentária Induzida (MDI): O LP encontrou-se moderadamente desorganizado próximo à região do septo interradicular, com presença de alterações vasculares intensas. As reabsorções radiculares presentes de forma moderada na raiz distovestibular, faces mesial e distal, no terço cervical e médio, na raiz mesiovestibular face distal terço cervical e médio, além da região de periodonto de furca.

Grupo 6 - Movimentação + Trauma (MDI+TD): O LP apresentou-se moderadamente desorganizado no periodonto da região de furca, e no terço cervical da face distal da raiz mesiovestibular, e ocasionalmente desorganizado na região de face mesial da raiz distovestibular, nos três terços. O septo interradicular também se apresentou desorganizado. Alterações vasculares foram moderadas na região de periodonto de furca, septo interradicular, no terço médio da face mesial da raiz distovestibular, e na face distal da raiz mesiovestibular no terço cervical e apical. As reabsorções radiculares estavam presentes de forma intensa na região de furca, no terço cervical da face distal da raiz mesiovestibular, nos terços cervical e médio, das faces mesial e distal da raiz distovestibular. Foram registradas áreas hialinas na face mesial da raiz distovestibular.

Grupo 7 - Movimentação + Ovariectomia (MDI+OVX): O LP apresentou-se moderadamente desorganizado no periodonto da região de furca. O septo interradicular apresentou alterações vasculares moderadas. Presença de reabsorções radiculares moderadas nas raízes mesiovestibular e distovestibular em todas as áreas analisadas e no periodonto da região da furca.

Grupo 8 – Movimentação + Trauma + Ovariectomia (MDI+TD+OVX): O LP encontrou-se intensamente desorganizado próximo ao septo interradicular, nos terços cervical e médio da face distal da raiz mesiovestibular e no terço médio da face mesial da raiz distovestibular. Alterações vasculares intensas ocorreram na região de periodonto de furca, septo interradicular, terço médio da face distal da raiz mesiovestibular, e face mesial da raiz distovestibular nos terços médio e cervical. Reabsorções radiculares externas intensas foram observadas nos terços cervical e médio, tanto na face mesial quanto na distal das raízes mesio e distovestibular, bem como na região de furca. Presença de células gigantes multinucleadas próximas à área de reabsorção radicular entre a região de furca e o terço cervical da face mesial da raiz distovestibular.

5.3 Análise histomorfométrica da reabsorção radicular

Entre os animais dos grupos sem dispositivo de movimentação dentária, os grupos TD e TD+OVX apresentaram as maiores áreas de reabsorção radicular quando comparados com os grupos CTL e OVX, sendo que o grupo ovariectomizado (OVX) também apresentou área de reabsorção radicular maior que o grupo CTL ($p < 0,05$) (Gráfico 2).

Todos os grupos com dispositivo de movimentação dentária apresentaram áreas de reabsorção radicular maiores que todos os grupos sem dispositivo de movimentação dentária ($p < 0,05$). Não houve diferenças significativas de áreas de reabsorção radicular na comparação entre os grupos MDI+TD e MDI+OVX, porém, ambos apresentaram maiores áreas de reabsorção radicular quando comparados com o grupo MDI e menores na comparação com o grupo MDI+TD+OVX ($p < 0,05$). O grupo MDI+TD+OVX apresentou as maiores quantidades de áreas de reabsorção radicular quando comparado com todos os grupos experimentais ($p < 0,001$) (Gráfico 2).

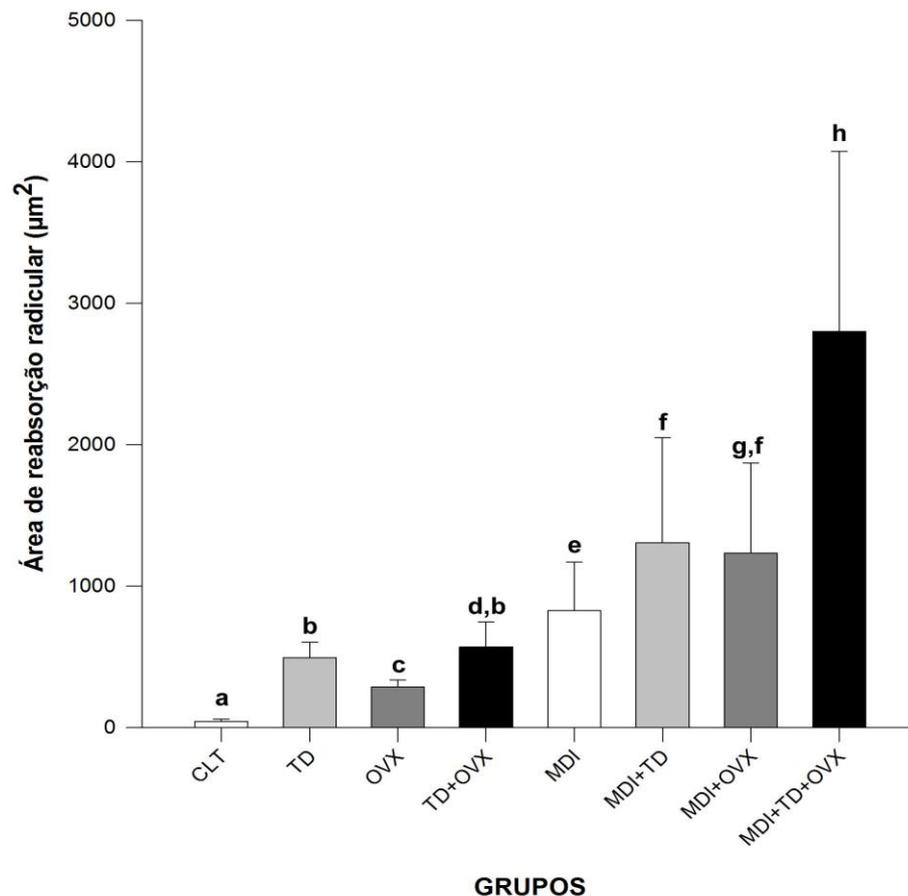


Gráfico 2. Área de reabsorção radicular externa nos diferentes grupos experimentais. Valores expressos em média \pm desvio padrão. N= 6 animais/grupo. Análise de variância (ANOVA One Way), com pós-teste de Tukey. Letras diferentes ^{a,b,c,d,e,f,g,h} = $p < 0,05$.

6 Discussão

O metabolismo ósseo é afetado por hormônios como paratormônio, calcitonina, hormônio do crescimento, estrogênio e glicocorticoide. Falta de estrogênio, como resultado de menopausa, acelera a reabsorção óssea, que pode levar a sintomas semelhantes à osteoporose. O modelo de ovariectomia em rato é amplamente utilizado para imitar a osteoporose da pós-menopausa humana (BROUWERS *et al.*, 2008; HASHIMOTO *et al.*, 2013).

A aceleração do movimento dentário é conveniente para os ortodontistas porque pode reduzir a duração do tratamento. No entanto, esse aumento do movimento dentário após a ovariectomia é incomum e envolve o risco de efeitos colaterais, como reabsorção radicular grave (HASHIMOTO *et al.*, 2013).

No presente estudo, os animais dos grupos ovariectomizados (MDI+OVX e MDI+TD+OVX) apresentaram maior movimentação dentária quando comparados com o grupo MDI. Isso ocorre devido ao aumento no *turnover* ósseo, que está diretamente relacionado à necessidade do corpo de manter uma concentração fisiológica de cálcio ionizado nos fluidos orgânicos e, especialmente, à necessidade de manter a integridade estrutural do esqueleto (RAMOS *et al.*, 2005). Sabe-se que, em ratas ovariectomizadas, a osteogênese e a condrogênese diminuem porque a deficiência de estrogênio 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 estrogênio no grupo OVX. No presente trabalho, a taxa de movimentação dentária dos 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 (TANAKA *et al.*, 2002; ARSLAN *et al.*, 2007; SIRISOONTORN *et al.*, 2011, 2012; XU *et al.*, 2013).

Outra informação importante é sobre a atividade da osteoclastogênese. Este sistema inclui o equilíbrio entre a OPG e RANKL, nos lados da tensão e compressão do dente durante o movimento dentário ortodôntico. Esses fatores podem ter sido modulados pela ausência de estrogênio, causado pela ovariectomia, o que possivelmente aumentou a osteoclastogênese que promove reabsorção óssea catabólica durante a fase de movimentação ortodôntica, resultando em movimento dentário acelerado nas ratas OVX (TYROVOLA *et al.*, 2008; 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. As descrições dos aspectos da movimentação dentária induzida em dentes sob a influência do trauma periodontal são raros (BUSATO *et al.*, 2014), porém, sabe-se que a movimentação ortodôntica ocorre por meio da remodelação óssea alveolar em resposta a estímulos mecânicos (MEIKLE, 2006). 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, que em nosso estudo é a face mesial da raiz distal (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.

Em nosso experimento, os animais dos grupos com TD e/ou OVX, bem como no grupo de associação entre MDI+TD+OVX, apresentaram intensa reabsorção radicular. O sistema OPG/RANK/RANKL foi descrito como importante na osteoclastogênese e na odontoclastogênese através do equilíbrio entre OPG e RANKL nos lados de tensão e compressão do dente durante o movimento dentário ortodôntico (TYROVOLA *et al.*, 2008). Por causa da semelhança entre a morfologia e a função das células, os processos de reabsorção radicular e reabsorção óssea podem ser considerados semelhantes e alterações envolvidas na reabsorção óssea também podem estar envolvidas na reabsorção radicular (MORI *et al.*, 2007).

Um traumatismo dentário ativa a imunidade inata, que representa uma resposta rápida a alguns tipos de estímulos (CURVINEL *et al.*, 2010), e dentre as suas principais células efetoras estão as células gigantes multinucleadas e neutrófilos. Estas células são responsáveis pela proteção contra a infecção, bem como a limpeza do local da lesão de restos de matriz celular e corpos estranhos, após o controle do sangramento. No entanto, nesta pesquisa observou-se a presença de células gigantes multinucleadas (infiltrado inflamatório crônico) raras, nos animais submetidos a luxação extrusiva sem movimentação dentária induzida, possivelmente porque o trauma realizado não foi agressivo o suficiente para recrutar neutrófilos (infiltrado inflamatório agudo) e um grande número de células gigantes multinucleadas. As células gigantes multinucleadas foram observadas em maior número apenas nos animais submetidos à movimentação dentária induzida. Nestes, esta característica é bem relatada na literatura (KRISHNAN & DAVIDOVITCH, 2006; CONSOLARO *et al.*, 2011). A presença dessas células próximo às áreas de reabsorção radicular aponta para uma reabsorção radicular do tipo inflamatória encontrada nestas regiões.

A reabsorção radicular é um fenômeno multifatorial, decorrente de complicações durante o tratamento ortodôntico e de fatores relacionados as condições clínicas dos pacientes (SEIFI *et al.*, 2015) tais como morfologia do dente, anormalidades radiculares, histórico de reabsorção radicular, fatores genéticos, má oclusão, histórico de trauma, fatores hormonais, tal como deficiência de estrógeno, interferem no metabolismo ósseo e nas concentrações de cálcio, diminuindo a densidade óssea alveolar (NISHIOKA *et al.*, 2006; JUNG & CHO, 2011; HASHIMOTO *et al.*, 2013).

O interessante do nosso estudo foi demonstrar que além da ação isolada, a associação de dois ou mais fatores, aumenta o número de reabsorção, sendo os maiores valores observados nos animais dos grupos ovariectomizados, submetidos ao trauma dentário e com movimentação dentária induzida. Assim, da mesma forma como foi observado na taxa de movimentação, parece haver um sinergismo entre esses fatores que desencadeou o aumento do número de reabsorções radiculares dos grupos TD+OVX e MDI+TD+OVX.

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. Apesar dos resultados em modelos experimentais não serem diretamente extrapolados para humanos, eles oferecem um bom guia de orientação, atenção e cuidados que deve ser destinado individualmente aos pacientes.

7 Conclusão

Concluimos que a movimentação dentária induzida associada ao traumatismo dentoalveolar e a deficiência de estrógeno, induz a maior taxa de movimentação dentária e maior ocorrência de reabsorção radicular.

8 Referências Bibliográficas

- ANDREASEN, J. O.; ANDREASEN, F. M.; SKEIE, A.; HJORTING-HANSEN, E.; SCHWARTZ, O. Effect of treatment delay upon pulp and periodontal healing of traumatic dental injuries: a review article. **Dent Traumatol.** v. 18, p.116-128, 2002.
- ANDREASEN, J. O.; ANDREASEN, F. M. Texto e atlas colorido de traumatismo dental, 3ª ed. Porto Alegre.p. 151-177, Artmed, 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.** v.33,358-368, 2017.
- BORTOLOTTI, M; LAIA, D.; QUINTANILHA, J. Movimentação dentária induzida em dentes permanentes traumatizados. **RGO - Rev Gaúcha Odontol.** v.59, suplemento 0, p. 153-159, 2011.
- BROUWERS J. E.; LAMBERS, F. M.; GASSER, J. A; VAN RIETBERGEN, B.; HUISKES R. Bone degeneration and recovery after early and late bisphosphonate treatment of ovariectomized Wistar rats assessed by in vivo micro-computed tomography. **Calcif Tissue Int.** v. 82, p. 202–211, 2008
- 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, 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.

CHO, M.I.; GARANT, P.R. Development and general structure of the periodontium. **Periodontol** 2000. v. 24, n. 1, p. 9-27, 2000.

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

CONSOLARO, A. Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas. **Dental Press**, 2 ed, Maringá, 2005.

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.; FRACALOSSO 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**, 1985-1994, 2018.

CURVINEL, W. M.; JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T.; SOUZA, S.; SILVA, N. P. Immune system – Part I Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammatory response. **Bras J Rheumatol**. v. 50 n.4, p. 434-461, 2010.

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. G.; ZHANG, P.; WU, Y. P.; MA, X. H; PANG, J.; JIANG, L. Y.; FANG, B. Ovariectomy induces osteoporosis in the maxillary alveolar bone: an in vivo micro-CT and histomorphometric analysis in rats. **Oral Dis**. V. 20, n. 5, p.514-520, jul 2014.

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.

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.

FERRARIS, M.E.G.; MUNHOZ, A.C. Histologia e Embriologia Bucodental. 2ª ed. Rio de Janeiro, RJ: **Guanabara Koogan**, 2006.

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

FOSTER, B.L. Methods for studying tooth root cementum by light microscopy. **Int j oral sci.**, v.4, n.3, p.119-128, 2012.

FOSTER, B.L.; SOENJAVA, Y.; NOCITI, J. R.; HOLM, E.; ZERFAS, P.M.; WIMER, H.F.; HOLDSWORTH, D.W.; AUBIN, J.E.; HUNTER, G.K.; GOLDBERG, H.A.; SOMERMAN, M.J. Deficiency in acellular cementum and periodontal attachment in bsp null mice. **J Dent Rest.**, v.92, n. 2, p. 166-172, 2013.

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. **Orthod Craniofac Res**. v. 13, p.1-10, 2010.

GLENDOR, U. Epidemiology of traumatic dental injuries - a 12 year review of the literature. **Dent Traumatol**. 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.

GULINELLI, J. L.; SAITO, C. T. M. H.; GARCIA-JR, I. R.; PANZARINI, S. R.; POI, W.R.; SONODA, C. K.; et al. Occurrence of tooth injuries in patients treated in hospital environment in the region of Araçatuba, Brazil during a 6-year period. **Dent Traumatol**. v. 24, p.640-644, 2008.

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.

HERMANN, N. V.; LAURIDSEN, E.; AHRENSBURG, S. S.; GERDS, T. A.; ANDREASEN, J. O. Periodontal healing complications following extrusive and lateral luxation in the permanent dentition: a longitudinal cohort study. **Dent Traumatol.** v.28, p. 394-402, 2012.

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. **Mol Endocrinol.** 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.** V. 31, n. 8, p. 1-7, 2017.

JUNG, Y. H.; CHO, B.H. External root resorption after orthodontic treatment: a study of contributing factors. **Imaging Sci Dent.** v.41, n.1, p.17-21, 2011.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica.* 10ª Ed. Rio de Janeiro, RJ: **Guanabara Koogan**, 2004.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. *Histologia e Embriologia Oral.* 3ª Ed. Rio de Janeiro, RJ: **Guanabara Koogan**, 2012.

KIKUTA, J.; YAMAGUCHI, M.; SHIMIZU, M.; YOSHINO, T.; KASAI, K.; Notch signaling induces root resorption via RANKL and IL-6 from hPDL cells. **J Dent Res.** v. 94, n. 1, p. 140-147, 2015.

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, p. 68-78, 2008.

KRISHNAN, V.; DAVIDOVITCH, Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. **Am J Orthod Dentofacial Orthop.** v. 129, n. 4, p.1-32, 2006.

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

MACARI, S.; DUFFLES, L. F.; QUEIROZ-JUNIOR, C. M.; MADEIRA, M. F.; DIAS, G. J.; TEIXEIRA, M. M.; SZAWKA, R. E.; SILVA, T. A. Oestrogen 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.

MARIOTTI, A.; MAWHINNEY, M. Endocrinology of sex steroid hormones and cell dynamics in the periodontium. **Periodontol 2000.**v.61, n. 1, p. 69-88, 2013.

MEIKLE, M. C. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after CarlSandstedt. **Eur J Orthod.** V. 28, n. 3, p.221-240, jun 2006.

MORI, G. G.; GARCIA, R. B.; MORAES, I. G.; BRAMANTE, C. M.; BERNARDINELI, N. Morphometric and microscopic evaluation of the effect of solution of alendronate as an intracanal therapeutic agent in late reimplanted rat teeth. **Dent Traumatol.** v.23; n. 7, p. 218-21, 2007.

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.

NANCI, A.; BOSSHARDT, D. Structure of periodontal tissues in health and disease. **Periodontology 2000,** v. 40, n. 3, p.11–28, 2006.

NISHIOKA, M.; LOI, M.; NAKATA, S.; NAKASIMA, A. COUNTS, A. Root resorption and immune system factors in the Japanese. **Angle Orthod.** V. 76, n. 1, p.103-108, 2006.

RAMOS, L. V.; FURQUIM, L.; CONSOLARO, A. A influência de medicamentos na movimentação ortodôntica - Uma análise crítica da literatura. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial.** v. 10, n. 1, p. 122-130, jan./fev. 2005

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 USA.** v. 98, n. 24, p. 13960–13965, 2001.

ROTHBARTH, C. P. BRADASCHIA-CORREA, V.; FERREIRA, L. B.; ARANA-CHAVEZ, V. E. A.Effects of the bisphosphonate alendronate on molars of young rats after lateral luxation. **Dent Traumatol.** v. 30, p.415-22, 2014.

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

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.

SIRISIINTORN, I.; HOTOKEZAKA, H.; HASHIMOTO, M.; GONZALES, C.; LUPPANAPORNLARP, S.; DARENDELILER, M. A.; YOSHIDA, N. Tooth movement and root resorption; the effect of ovariectomy on orthodontic force application in rats. **Angle Orthod.** 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.

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 A BiolSci 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

TEN CATE, A.R. Histologia Bucal. Desenvolvimento, Estrutura e Função. 5ª ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2001.

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, P. M.. 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.

TYROVOLA, J.B.; SPYROPOULOS, M. N.; MAKOU, M.; PERREA, D. Root resorption and the OPG/RANKL/RANK system: a mini review. **J Oral Sci.** v. 50, p. 367–376, 2008

VERRI, A. C. G. 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.

XIAO, L.; NASU, M. From regenerative dentistry to regenerative medicine: progress, challenges, and potential applications of oral stem cells. **Stem Cells Cloning.** v.4, n. 7, p.89-99, 2014.

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.

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