

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



JUSSIMAR SCHEFFER CASTILHOS

Influência do trauma dentoalveolar e do tipo de força ortodôntica sobre o  
complexo dentinopulpar - estudo experimental em ratos

Cascavel-PR

2020

JUSSIMAR SCHEFFER CASTILHOS

Influência do trauma dentoalveolar e do tipo de força ortodôntica sobre o complexo dentinopulpar - estudo experimental em 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. Mauro Carlos Agner Busato

Coorientador: Prof. Dr. João Paulo de A. Amorim

Cascavel-PR

2020

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

Castilhos, Jussimar

Influência do trauma dentoalveolar e do tipo de força ortodôntica sobre o complexo dentinopulpar - estudo experimental em ratos / Jussimar Castilhos; orientador(a), Mauro Carlos Agner Busato; coorientador(a), João Paulo de Arruda Amorim, 2020.  
41 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, 2020.

1. Traumatismos dentários. 2. Movimentação dentária. 3. Polpa dentária. 4. Histologia. I. Carlos Agner Busato, Mauro . II. Paulo de Arruda Amorim, João. III. Título.



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Cascavel CNPJ 76680337/0002-65  
Rua Universitária, 2089 - Jardim Universitário - Cx. P. 000711 - CEP 85819-110  
Fone:(45) 3220-3000 - Fax:(45) 3324-4566 - Cascavel - Paraná



**PARANÁ**  
GOVERNO DO ESTADO

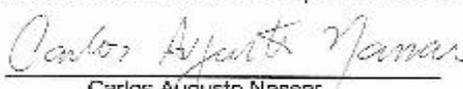
## JUSSIMAR SCHEFFER CASTILHOS

Influência do trauma dentoalveolar e do tipo de força ortodôntica sobre o complexo dentinopulpar - estudo experimental em ratos

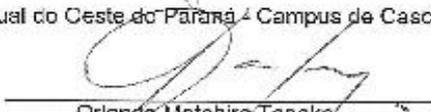
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Odontologia, linha de pesquisa Materiais Dentários Aplicados À Clínica Odontológica, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

  
Orientador(a) - Mauro Carlos Agner Busato

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

  
Carlos Augusto Nassar

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

  
Orlando Motohiro Tanaka

Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

Cascavel, 17 de fevereiro de 2020

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Professor Doutor Mauro Carlos Agner Busato, por compartilhar todo conhecimento e experiência, por toda dedicação atribuída a este trabalho e por ter contribuído para meu crescimento intelectual e científico.

Ao meu coorientador, Professor Doutor João Paulo de Arruda Amorim, por toda disponibilidade em compartilhar conhecimento nas etapas laboratoriais.

Aos Professores Doutores, Alexandre Marcos Bandeira, Christian Gianpietro Brandão e Ana Lucia Carrinho A. Rangel, por serem exemplos de profissionais e por terem contribuído com esta pesquisa.

Aos Professores, Doutor Orlando Motohiro Tanaka e Doutor Carlos Augusto Nassar, por todo suporte e recomendações neste trabalho.

À minha colega Ariane Fernanda Carvalho, pela parceria em todas as etapas desta pesquisa e a todos os demais professores e colegas de turma que estiveram presente ao longo desses dois anos.

À minha família, pelo apoio dado ao longo desses anos, e por sempre me incentivarem e alcançar meus objetivos.

Por fim, àquele que me dá força para superar minhas dificuldades e que permitiu a realização desta etapa, meu Deus, obrigado.

*“Sucesso é ir  
de fracasso em fracasso  
sem perder o entusiasmo”*

Winston Churchill

# Influência do trauma dentoalveolar e do tipo de força ortodôntica sobre o complexo dentinopulpar - estudo experimental em ratos

## RESUMO

O presente estudo teve por objetivo analisar a quantidade de movimentação dentária e as condições pulpares em dentes com histórico de traumatismo dento-alveolar (luxação extrusiva), quando são aplicadas três tipos de forças ortodônticas. Para tal, foram utilizados 48 ratos *Wistar* divididos em 8 grupos (n=6), tendo como variáveis os três diferentes tipos de força ortodôntica: força contínua (FC), força contínua interrompida (FCI) e força intermitente (FI), a presença ou não de trauma (com trauma - CT ou sem trauma - ST) e a presença ou não da movimentação dentária induzida (CM ou SM). Os grupos foram dispostos da seguinte forma: STFC, STFCl, STFI, CTFC, CTFCI, CTFI, CTSM e STSM (grupo controle). Realizou-se uma luxação extrusiva (LE) do primeiro molar superior direito e após 15 dias de reestabelecimento periodontal, molas de NiTi foram instaladas como dispositivos para promover as movimentações dentárias induzidas. No 14º dia após a primeira ativação foi realizada a aferição da quantidade de movimentação dentária seguida da eutanásia dos animais, para o processamento histotécnico e avaliação histomorfométrica. As variáveis analisadas foram divididas em 4 grandes grupos: padrão de celularidade, alterações distróficas, alterações hemodinâmicas e alterações dentinárias. Os dados obtidos foram examinados estatisticamente por meio do teste de hipótese pertinente, de acordo com a característica de cada variável. Os resultados mostraram que houve diferença estatisticamente significativa na movimentação dentária para as forças FC e FCI comparados à FI ( $p < 0.05$ ). Também, houve menor quantidade de infiltrado inflamatório no grupo controle comparado aos outros grupos. A FC apresentou maior área de reabsorção interna. As alterações pulpares se mostraram mais frequentes em relação às alterações hemodinâmicas, seguida de alterações dentinárias, alterações de celularidade, e por último, alterações distróficas, porém, sem diferença entre os grupos.

**Palavras-chave:** Traumatismos dentários, Movimentação dentária, Polpa dentária, Histologia.

Influence of dentoalveolar trauma and orthodontic forces on dentinopulp complex  
- experimental study in rats

**ABSTRACT**

The present study aims to analyze the amount of tooth movement and pulp conditions in teeth with dentoalveolar trauma history (extrusive luxation), when three types of orthodontic forces are applied. For this, 48 *Wistar* rats were divided into 8 groups (n = 6), having as variables the three different types of orthodontic forces: continuous (FC), interrupted continuous (FCI) and intermittent (FI), the presence or absence of trauma (CT or ST) and the presence or not orthodontic movement (CM or SM). The groups were arranged as follows: STFC, STFCI, STFI, CTFC, CTFCI, CTFI, CTSM and STSM (control group). Extrusive dislocation (LE) of the healthy upper right first molar was performed and after 15 days for periodontal reestablishment, the orthodontic springs were installed as devices to promote induced tooth movement and on the 14th day after the first activation, the amount of tooth movement was measured and euthanasia of the animals was performed for mounting the histological slides and histomorphometric evaluation. The variables analyzed were divided into 4 major groups: cellularity pattern, dystrophic alterations, hemodynamic alterations and dentin alterations. The obtained data were statistically examined by an appropriate test according to the characteristic of each variable. The results showed that there was a statistically significant difference in tooth movement for FC and FCI forces compared with FI ( $p < 0.05$ ). There was a lower amount of inflammatory infiltrate in the control group compared with others. The FC showed higher resorption area. Pulp changes are more frequent in relation to hemodynamic alterations, followed by dentin alterations, cellularity alterations, and lastly, dystrophic alterations, but without difference among the groups.

**Keywords:** Traumatized teeth, Tooth movement, Dental pulp, Histology.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Linha do tempo com as etapas da pesquisa e distribuição dos grupos .....	16
Figura 2	Fio de amarrilho 0.25 mm de diâmetro amarrado ao primeiro molar superior direito para aplicação do trauma .....	17
Figura 3	Aplicação do trauma - luxação extrusiva (LE) .....	18
Figura 4	Mola instalada para movimentação dentária induzida (MDI) .....	18
Figura 5	Períodos de ativação, desativação ou remoção das molas e o dia da eutanásia dos animais .....	19
Figura 6	Maxila do animal após decapitação e remoção de tecidos adjacentes .....	20
Figura 7	Ilustração do corte transversal da região coronal e região radicular .....	21
Figura 8	Alterações pulpares encontradas em ratos submetidos a LE com 14 dias .....	27

## LISTA DE QUADROS E TABELA

Quadro I Quantidade de movimentação dentária .....	24
Quadro II Resultados representativos de mediana ( $\pm$ desvio interquartílico) para o infiltrado inflamatório .....	24
Quadro III Resultados representativos de média ( $\pm$ desvio padrão) para área de reabsorção interna .....	25
Tabela 1 Frequência de fenômenos dentinopulpaes observados nos grupos. O primeiro número representa em quantos ratos a alteração foi encontrada (n = 6) .....	26

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MO – Movimentação ortodôntica

TD – Trauma dentoalveolar

FC – Força contínua

FCI – Força contínua interrompida

FI – Força intermitente

CT – Com trauma

ST – Sem trauma

CM – Com movimento

SM – Sem movimento

LE – Luxação extrusiva

MDI – Movimentação dentária induzida

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas das publicações científicas: *Journal of Applied Oral Science*.

Disponível em:

<https://www.scielo.br/revistas/jaos/pinstruc.htm>

## SUMÁRIO

1 Introdução .....	13
2 Objetivos .....	15
3 Metodologia .....	16
3.1 Seleção e distribuição da amostra .....	16
3.2 Aplicação do trauma dentoalveolar .....	17
3.3 Movimentação dentária induzida .....	18
3.4 Eutanásia, análise quantitativa da MDI e processamento histológico .....	19
3.5 Digitalização dos cortes histológicos .....	21
3.6 Análise histológica da polpa .....	22
3.7 Análise estatística .....	22
3.8 Erro do método .....	23
4 Resultados .....	24
4.1 Movimentação dentária .....	24
4.2 Processo inflamatório .....	24
4.3 Reabsorção interna .....	25
4.4 Alterações histológicas .....	25
5 Discussão .....	28
6 Conclusões .....	31
7 Referências bibliográficas .....	32
Anexos .....	36

## 1 - Introdução

Na movimentação dentária induzida (MDI), a aplicação de forças mecânicas produz regiões de estresse ou tensão no ligamento periodontal. Em uma descrição simples, o recrutamento e a ativação dos osteoclastos induzem a reabsorção óssea a partir da área adjacente à compressão do tecido periodontal e, no lado de tensão, ocorre aposição óssea pelos osteoblastos<sup>1,2</sup>. Desta forma, por meio deste processo de reabsorção e aposição óssea, o dente é reposicionado<sup>3</sup>.

Existem dois diferentes tipos de forças empregadas em Ortodontia: as forças contínuas e as forças intermitentes. O emprego de uma força contínua (FC) visa manter sua magnitude inicial durante um longo período, sendo desempenhada por fios e molas com alto limite de elasticidade. Entretanto, quando se utiliza fios ou molas com reduzida elasticidade e memória de forma, como os fios de aço, 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)<sup>4</sup>. Por outro lado, uma força intermitente (FI) se caracteriza pela atuação durante um período reduzido, sendo esta eliminada totalmente com a remoção do dispositivo gerador da força. Essa condição é observada com a utilização de aparelhos removíveis, elásticos e aparelhos extrabuciais<sup>5</sup>.

As características de uma força como a magnitude, frequência e duração, geram grande influência sobre o mecanismo biológico e podem desencadear alterações periodontais e alterações na polpa dentária<sup>3,6</sup>.

A polpa dentária é um tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado, apresenta grande número de células, matriz extracelular, vasos sanguíneos e fibras nervosas. Semelhante a outros tecidos conjuntivos, a polpa tem uma capacidade de reparo elevada, recuperando-se facilmente em condições favoráveis<sup>7</sup>. Assim, diante de qualquer agente agressor físico, químico ou bacteriano, cujos estímulos excedem o limiar da tolerância fisiológica, pode ocorrer uma resposta inflamatória e/ou degenerativa da polpa. Quando se trata de forças ortodônticas (agente físico) leves e moderadas, as alterações pulpares resultam em aumento significativo da pressão intrapulpar, porém com aspecto transitório, com tendência de retorno à normalidade<sup>8,9</sup>.

Em dentes traumatizados, podem ser encontrados danos nos vasos sanguíneos da polpa, juntamente com distúrbios na camada odontoblástica, obliteração da câmara pulpar e do canal radicular, além de redução do fluxo sanguíneo e necrose pulpar<sup>6,9</sup>. Dessa forma, recomenda-se aguardar um período de observação que varia de 3 a 12 meses, dependendo da magnitude do

trauma, para iniciar um tratamento ortodôntico, pois dentes com história de trauma dentoalveolar podem apresentar durante a sua movimentação, áreas de reabsorções radiculares mais extensas quando comparadas com dentes inicialmente intactos<sup>10,11</sup>.

Ainda existem dúvidas em relação a qual seria o melhor tipo de força para se movimentar um dente devido ao pouco número de trabalhos na literatura<sup>12</sup>. Mais escasso ainda, são os trabalhos que relacionam a polpa com a movimentação em dentes que sofreram algum tipo de trauma<sup>13</sup>. Os trabalhos presentes na literatura avaliaram apenas as alterações do periodonto em dentes hígidos e traumatizados<sup>2,7,14</sup>, e também as alterações da polpa em dentes hígidos<sup>6</sup>.

Deste modo, julgou-se pertinente envolver a movimentação dentária e as condições pulpares de dentes traumatizados em um mesmo trabalho, com a finalidade de avaliar a quantidade de movimento e as alterações da polpa, especialmente no padrão de celularidade, alterações distróficas, hemodinâmicas e dentinárias, quando são aplicados três tipos de forças ortodônticas (FC, FCI e FI) em dentes com histórico de luxação extrusiva (LE).

## **2 - Objetivos**

Objetivo geral: analisar a quantidade de movimento e o comportamento pulpar de dentes traumatizados ao receber três diferentes tipos de força ortodôntica.

Objetivos específicos: Avaliar as condições pulpares e alterações histológicas do padrão de celularidade, bem como detectar as alterações distróficas, hemodinâmicas e dentinárias. Além disso, quantificar a intensidade do processo inflamatório e áreas de reabsorção interna em dentes traumatizados diante da movimentação dentária induzida.

### 3 - Metodologia

#### 3.1 – Seleção e distribuição da amostra

Para o cálculo do tamanho amostral utilizou-se o software GPower 3.1 (Universidade de Düsseldorf) para detectar um tamanho de efeito de 0.6, usando teste da família F (ANOVA) com grau de liberdade de 7 (variável: área de reabsorção interna), com erro alfa de 0.05 e poder do teste de 80%, chegando a um n de 48 ratos (6 por grupo), garantindo um poder de teste de 80.74%.

Assim, foram utilizados 48 ratos machos da variedade *Wistar (Rattus norvegicus albinus)*, adultos jovens (90 dias), massa corporal entre 250 e 350 gramas, todos originários do biotério central da UNIOESTE. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas em ambiente com temperatura controlada na faixa de 22°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ), sendo alimentados com ração triturada e água *ad libitum*. Além disso, os animais foram acondicionados por 7 dias para ambientação, com ciclo de luz de 12/12 horas antes dos procedimentos experimentais, que 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.

A pesquisa foi realizada seguindo a ordem dos seguintes eventos:

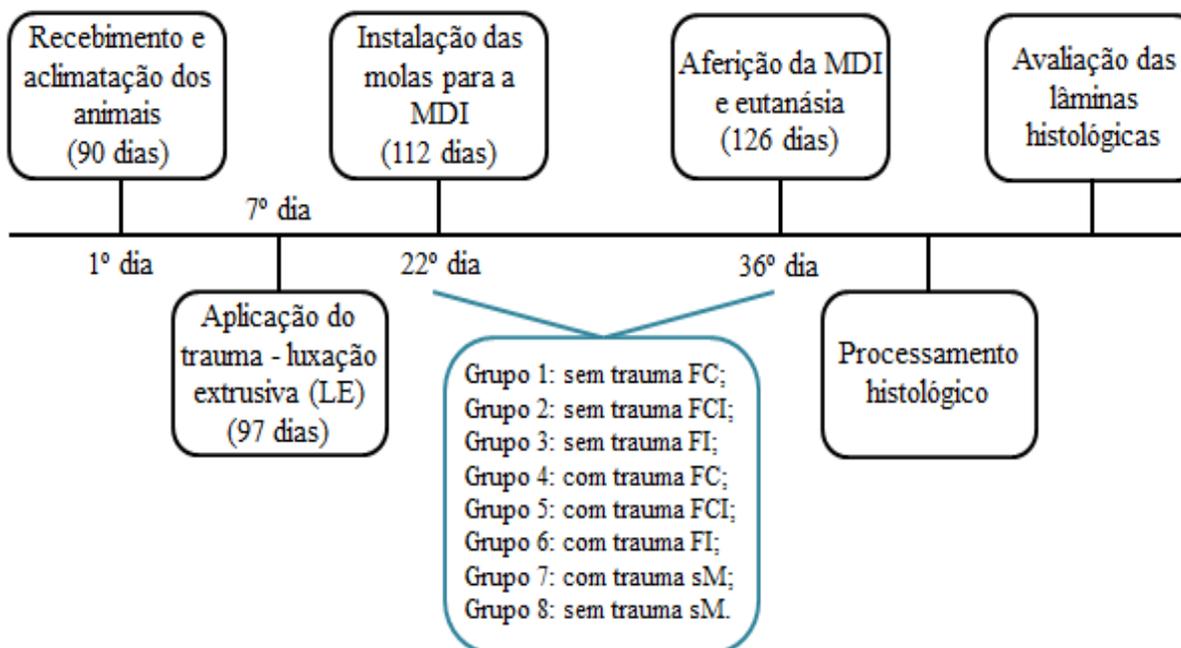


Figura 1- Linha do tempo com as etapas da pesquisa e distribuição dos grupos (idade dos animais entre parênteses)

### 3.2 – Aplicação do trauma dentoalveolar

Para minimizar a dor e o desconforto dos animais, foram utilizados anestésicos a base de Cloridrato de Ketamina na dosagem de 75 mg/kg (Dopalen®, Sespo Ind. e Com. Ltda., Jacareí, SP, Brasil), com relaxante muscular na dosagem de 15 mg/Kg de Cloridrato de Xilazina (Anasedan®, AgribRANDS do Brasil Ltda., Paulínia, SP, Brasil), ambos por via intraperitoneal com assepsia prévia da região com iodopovidona a 10% (Riodeine®; Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, SP, Brasil).

Para a aplicação do trauma propriamente dito, vinte e quatro (24) animais, escolhidos aleatoriamente, foram submetidos a um trauma dentário tipo luxação extrusiva (LE), na qual foi realizado pelo mesmo operador. Os ratos foram contidos em posição anatômica e um fio de amarrilho 0.25 mm de diâmetro (Morelli, Sorocaba, SP, Brasil) foi amarrado ao redor do primeiro molar superior direito na região cervical com um prolongamento (Figura 2). Nesse prolongamento, um dinamômetro (Morelli, Sorocaba, SP, Brasil) foi acoplado para o tracionamento dentário com força de 1500cN (1.5kgf), numa angulação de 60° durante 5 segundos<sup>15</sup> (Figura 3).



Figura 2 – Fio de amarrilho 0.25 mm de diâmetro amarrado ao primeiro molar superior direito para aplicação do trauma



Figura 3 – Aplicação do trauma – luxação extrusiva (LE)

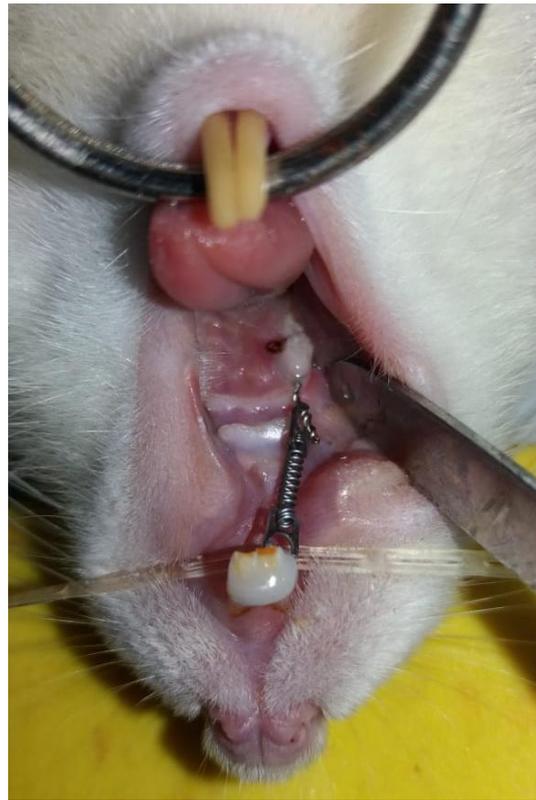


Figura 4 – Mola instalada para a MDI

### 3.3 – Movimentação dentária induzida (MDI)

Quinze (15) dias após o trauma foi iniciada a MDI, com a utilização de um fio de amarelo 0.25 mm de diâmetro amarrado novamente ao redor do mesmo dente inicialmente traumatizado, porém agora acoplado a uma mola de seção fechada com 7 mm de comprimento, dispositivo idealizado por Heller e Nanda (1979)<sup>16</sup>, modificado pela substituição da mola de aço por níquel-titânio (Sentalloy, GAC, NY, EUA), assim como no estudo de Mendonça *et al* (2018)<sup>6</sup>.

Em seguida, a mola foi distendida por meio de um dinamômetro (Zeusan, Campinas, SP, Brasil) até alcançar uma força de 50cN (0.05kgf). Com essa força alcançada, outro amarelo de mesmo diâmetro foi acoplado ao incisivo central, que serviu como ancoragem para a MDI. Além disso, foi utilizada uma resina fotopolimerizável (Z100, 3M, St. Paul, MN, USA) na região cervical do incisivo para melhorar a retenção do fio e possibilitar as ativações e desativações da mola, além de proteger a mucosa dos animais<sup>17</sup> (Figura 4).

Nos grupos representados pela força contínua (FC), as molas foram instaladas e removidas somente no dia da eutanásia. Já para os grupos representados pela força contínua interrompida (FCI), as molas foram ativadas e desativadas, porém mantidas na cavidade oral dos murinos e, por fim, para os grupos representados pela força intermitente (FI), as molas foram removidas entre as ativações. Além disso, o processo das ativações foi realizado em dois ciclos para todos os grupos, que se encerrou no 14º dia com a eutanásia dos animais, conforme o esquema representado pela figura 5, segundo Tondelli *et al*<sup>13</sup>.

Durante o experimento, a partir da instalação do dispositivo, a ração fornecida aos animais era umedecida e triturada a fim de reduzir a possibilidade de quebra do mesmo<sup>17</sup>. Além disso, houve a perda de um animal do grupo CTFI (n=5).

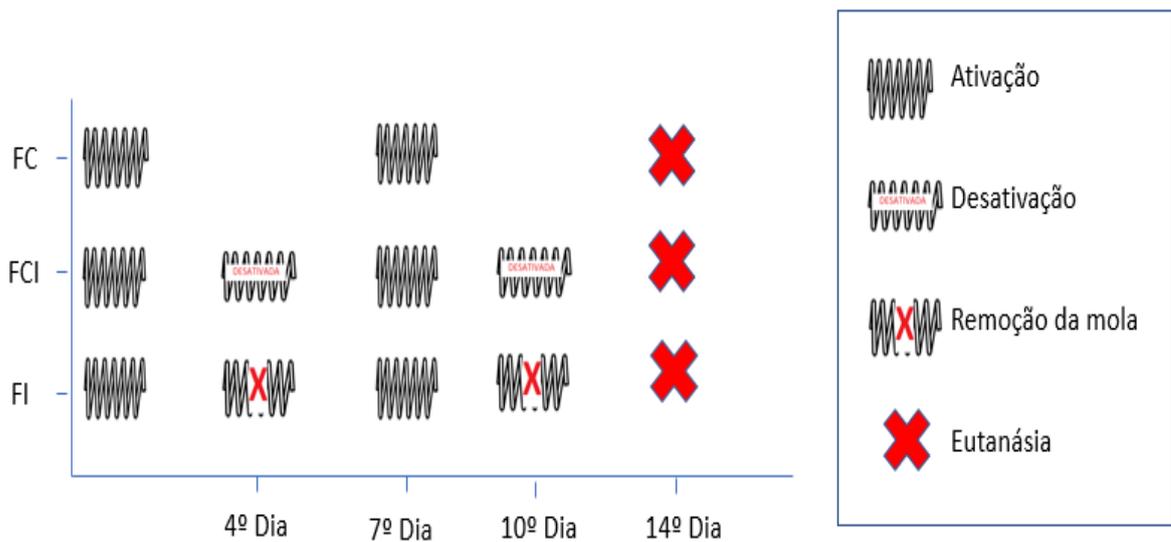


Figura 5 – Esquema demonstrando os períodos de ativação, desativação ou remoção das molas e o dia da eutanásia dos animais. FC: força contínua; FCI: força contínua interrompida; FI: força intermitente.

### 3.4 – Eutanásia, análise quantitativa da MDI e processamento histológico

A eutanásia dos animais ocorreu no 14º dia após a instalação das molas, por meio de dose excessiva de anestésico seguida de decapitação por guilhotina. Então, foi realizada a remoção do tecido mole dos animais com preservação de toda maxila, desde os incisivos até os terceiros molares.

A quantidade de movimentação dentária do lado direito foi obtida pela comparação com o lado esquerdo (não movimentado). Para isso, um paquímetro digital (Mitutoyo, São Paulo, Brasil) foi utilizado para fazer as aferições, tendo como ponto de referência a mesial do 1º molar até a distal do 3º molar. Desse modo, a quantidade de movimentação dentária foi dada pela diferença entre as medidas do lado movimentado e não movimentado<sup>18,19</sup>. Essas mensurações foram computadas em milímetros (mm) e realizadas por 1 avaliador devidamente calibrado (Figura 6).



Figura 6 - Maxila do animal após decapitação e remoção de tecidos adjacentes. Triângulos pretos demonstram o posicionamento do paquímetro digital

Com o fim dessa etapa, as peças foram fixadas em formol 10% por 24 horas, lavadas em água corrente por 48 horas, descalcificadas em solução de ácido descalcificante (Allkimia®) por 19 horas e estocadas em álcool 70%. 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 sentido transversal do primeiro molar superior direito, com 5µm de espessura, utilizando micrótomo rotativo manual (Olympus 4060), equipado com navalha de aço. Os cortes obtidos foram desparafinados com xilol, hidratados com água destilada e submetidos à técnica de coloração com hematoxilina-eosina (HE) para análise<sup>15,20</sup>.

### 3.5 – Digitalização dos cortes histológicos

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

As imagens foram analisadas com o auxílio do software Image Pro Plus (Media Cybernetics, EUA) com aumentos de 40x, 100x, 200x e 400x. Todas as regiões pulpares do 1º molar superior direito foram analisadas, desde a porção coronal até a região apical (Figura 7). As lâminas foram identificadas e codificadas a fim de estabelecer o cegamento do examinador<sup>15,17</sup>.

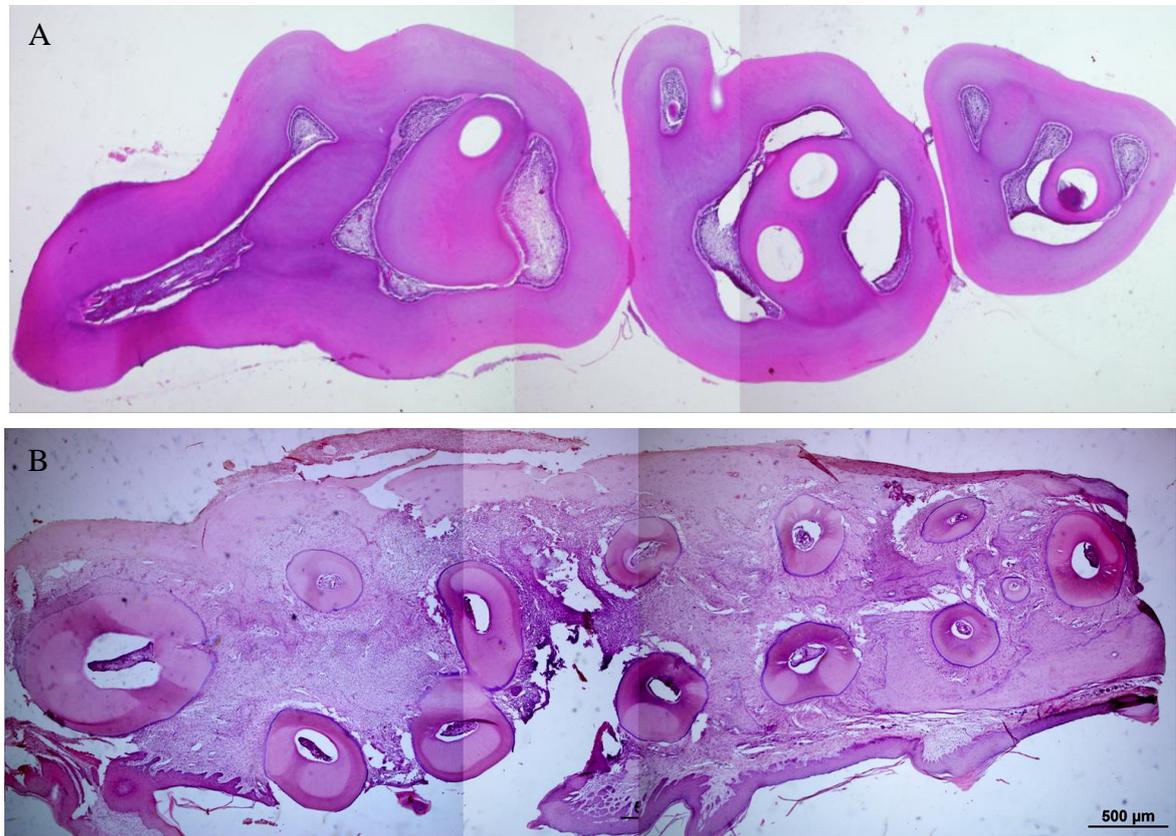


Figura 7 – Ilustração do corte transversal da região coronal (A) e região radicular (B) do primeiro molar (lado esquerdo), segundo molar (meio) e terceiro molar (lado direito)

### 3.6 – Análise histológica da polpa

Os primeiros molares superiores direitos foram avaliados e as alterações pulpares foram divididas em 4 grandes grupos, com as seguintes características: padrão de celularidade (infiltrado inflamatório, diminuição da celularidade e aumento da fibrose), alterações distróficas (hialinização, vacuolização, nódulo, calcificação difusa e necrose), alterações hemodinâmicas (congestão vascular, hemorragia e trombose) e alterações dentinárias (dentina reacionária, túbulos com núcleo e reabsorção interna)<sup>20,21</sup>.

Inicialmente, foram atribuídos escores de 1 a 4 para a quantificação do infiltrado inflamatório da polpa do seguinte modo<sup>22</sup>:

- 1- Ausência de células inflamatórias ou número desprezível;
- 2- Infiltrado inflamatório leve (menos de 25 células por campo);
- 3- Infiltrado inflamatório moderado (entre 25 e 125 células por campo);
- 4- Infiltrado inflamatório severo (mais que 125 células por campo).

Em segundo lugar, a reabsorção interna foi determinada com o auxílio do *software Image Pro Plus* para delimitar a área reabsorvida, sendo ela coronal ou radicular, na qual os valores foram expressos em micrometros ao quadrado ( $\mu\text{m}^2$ ). Além disso, foram utilizadas fotomicrografias com aumento de 400x, tanto para a quantificação do infiltrado inflamatório quanto para a reabsorção interna<sup>15,17</sup>.

Por último, a identificação de todas as alterações histológicas dos quatro grandes grupos foram realizadas de forma descritiva, utilizando aumentos de 40x, 100x e 200x, e detectados apenas pela presença ou ausência da alteração, seguindo uma adaptação do método proposto por Mendonça *et al* (2018)<sup>6</sup>.

### 3.7 – Análise estatística

Os dados quantitativos foram avaliados quanto ao padrão de distribuição por meio do teste de Shapiro-Wilk, assim como a homogeneidade das variâncias por meio do teste de Levene. A comparação dos grupos para estas variáveis foi feita pelo teste paramétrico de análise de variância - ANOVA, com pós-teste de Tukey ou o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, com pós-teste de Dunn, de acordo com a característica de cada variável. A comparação dos grupos para as variáveis qualitativas foi feita pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, com pós-teste de Dunn. Utilizou-se o teste de Qui-quadrado para se comparar a proporção de

ocorrência das alterações pulpares. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas ao nível de 5% ( $p < 0.05$ ). As análises estatísticas e os gráficos foram realizados no programa BioStat 5.3 (Instituto Mamirauá, Belém, Pará, Brasil).

### **3.8 - Erro do método**

Para a aferição da concordância intra-examinador e inter-examinador, foi utilizado o teste t para a medida de área reabsorvida, que demonstrou respectivamente um  $p = 0.6277$  e  $p = 0.0706$ . Utilizou-se o teste de Wilcoxon para os escores do infiltrado inflamatório, que demonstrou um  $p = 0.3613$  (intra-examinador) e um  $p = 0.3223$  (inter-examinador), de modo que foram atestados a reprodutibilidade e confiabilidade destas medidas.

## 4 - Resultados

### 4.1 – Movimentação dentária

O quadro I mostra a diferença estatística significativa entre os grupos em relação a quantidade de movimentação. As forças FC e FCI apresentaram maior movimentação quando comparadas a força FI nos grupos submetidos a luxação extrusiva (LE) ( $p < 0.05$ ). O fator luxação não promoveu diferença nesta variável, exceto quando a força FCI foi aplicada ( $STFCI = 0.25 \times CTFCI = 0.44$ ) ( $p < 0.05$ ).

Quadro I – Quantidade de movimentação dentária (mm).

STFC G1	STFCI G2	STFI G3	CTFC G4	CTFCI G5	CTFI G6
0.295 (0.083) AB	0.2533 (0.1084) A	0.2033 (0.0728) A	0.3733 (0.1786) B	0.4417 (0.1886) B	0.2167 (0.0677) A

Média (desvio-padrão),  $n = 6$ . Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos. Letras iguais indicam semelhança estatística entre os grupos (ANOVA, pós-teste de Tukey,  $p < 0.05$ ).

### 4.2 – Processo inflamatório

Na comparação intergrupos foi possível observar uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.0001$ ) da quantidade de infiltrado inflamatório do STSM (grupo controle) para todos os outros grupos, conforme o quadro II.

Quadro II – Resultados representativos de mediana ( $\pm$  desvio interquartilico) para o infiltrado inflamatório (escore).

	STFC G1 - A	STFCI G2 - A	STFI G3 - A	CTFC G4 - A	CTFCI G5 - A	CTFI G6 - A	CTSM G7 - A	STSM G8 - B
Mediana	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	0.000
Desvio Interquartilico	1.000	1.000	1.000	0.000	1.000	0.000	1.000	0.000

Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa (Kruskal-Wallis, pós-teste de Dunn,  $p < 0.05$ ).

### 4.3 – Reabsorção interna

Na comparação foi possível observar uma diferença estatisticamente entre os grupos ( $p=0.0200$ ) para a área de reabsorção interna.

Quadro III – Resultados representativos de média ( $\pm$  desvio padrão) para área de reabsorção interna ( $\mu\text{m}^2$ ).

	STFC G1	STFCI G2	STFI G3	CTFC G4	CTFCI G5	CTFI G6	CTSM G7	STS M G8
	A	BC	BC	AB	AB	C	C	C
Média Aritmética	477.333 3	146.666 7	127.333 3	366.000 0	273.500 0	172.800 0	131.333 3	0.000
Desvio Padrão	241.070 7	130.662 4	117.734 7	338.776 0	186.406 8	162.373 6	138.416 3	0.000

Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa. Pelo menos uma letra igual indica semelhança estatística (Kruskal-Wallis, pós-teste de Dunn,  $p<0.05$ ).

O fator de variação trauma não levou a uma diferença estatística significativa para a variável reabsorção interna quando comparado aos grupos sem trauma. Já a força contínua apresentou áreas de reabsorção maiores quando comparados aos outros tipos de força. ( $p<0.05$ ).

### 4.4 – Alterações histológicas

Em relação ao padrão de celularidade, a presença de infiltrado inflamatório foi observada em todos os grupos, em maior quantidade nos grupos CTFC e CTFI. Além disso, o aumento de fibrose também foi observado em todos os grupos, exceto no grupo controle, porém em pequenas quantidades. Por outro lado, a diminuição de celularidade se mostrou presente apenas nos grupos STFCI, STFI, CTFCI e CTFI (Figura 8).

As alterações distróficas também se mostram presentes, porém em poucas quantidades. Os grupos CTSM e STSM não apresentaram nenhuma alteração distrófica, além disso, em nenhum grupo foi observado presença de hialinização e nódulo. Já a necrose só foi observada apenas no grupo CTFCI (Figura 8).

O evento de maior ocorrência esteve relacionado às alterações hemodinâmicas. A congestão vascular foi encontrada em praticamente todos os animais, até mesmo no grupo

controle, porém em menor número. Além disso, a hemorragia e trombose também foram encontradas, essa última em maior quantidade nos grupos com trauma e com MDI (Figura 8).

Por último, as alterações dentinárias também foram observadas em todos os grupos experimentais, exceto no grupo controle (Figura 8). Nesta comparação, observou-se diferença estatisticamente significativa dos grupos experimentais comparados ao controle, para as variáveis reabsorção interna e congestão vascular, conforme a tabela 1:

<b>ALTERAÇÕES PULPARES</b>	<b>STFC</b>	<b>STFCI</b>	<b>STFI</b>	<b>CTFC</b>	<b>CTFCI</b>	<b>CTFI</b>	<b>CTSM</b>	<b>STSM</b>	<b>p-valor</b>
	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>	<b>G5</b>	<b>G6</b>	<b>G7</b>	<b>G8</b>	
<b>Padrão de celularidade</b>									
Infiltrado inflamatório	3/6	3/6	3/6	4/6	3/6	4/5	3/6	1/6	0.646
Diminuição de celularidade	0/6	2/6	1/6	0/6	1/6	1/5	0/6	0/6	0.426
Aumento de fibrose	1/6	2/6	2/6	2/6	3/6	3/5	1/6	0/6	0.429
<b>Alterações distróficas</b>									
Hialinização	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/5	0/6	0/6	1
Vacuolização	2/6	1/6	1/6	1/6	2/6	1/5	0/6	0/6	0.689
Nódulos	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/5	0/6	0/6	1
Calcificação difusa	0/6	1/6	0/6	1/6	0/6	1/5	0/6	0/6	0.573
Necrose	0/6	0/6	0/6	0/6	1/6	0/5	0/6	0/6	0.431
<b>Alterações hemodinâmicas</b>									
Congestão vascular	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	5/5	5/6	3/6	0.017
Hemorragia	1/6	1/6	1/6	2/6	2/6	2/5	1/6	0/6	0.778
Trombose	2/6	2/6	1/6	4/6	4/6	3/5	2/6	0/6	0.178
<b>Alterações dentinárias</b>									
Dentina reacionária	2/6	2/6	3/6	2/6	2/6	2/5	1/6	0/6	0.708
Túbulos com núcleo	2/6	2/6	2/6	2/6	3/6	3/5	2/6	0/6	0.625
Reabsorção interna	5/6	4/6	4/6	5/6	5/6	3/5	4/6	0/6	0.058

Tabela 1 – Frequência e inferência (Qui-quadrado –  $p < 0.05$ ) de fenômenos dentinopulpare observados nos grupos. O primeiro número representa em quantos ratos a alteração foi encontrada ( $n = 6$ )

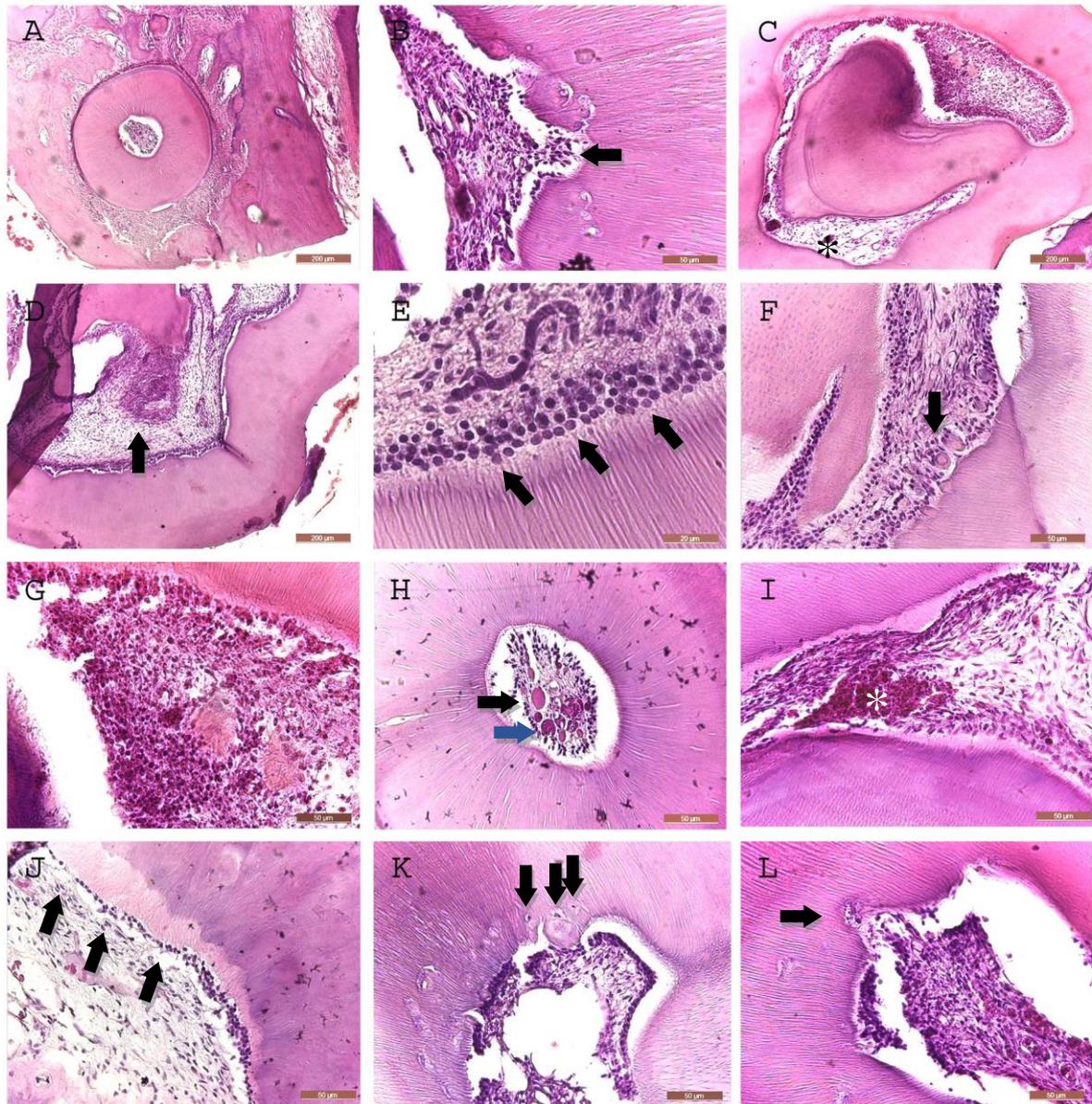


Figura 8 - Alterações pulpares encontradas em ratos submetidos a LE com 14 dias. A: Polpa com aspecto normal; B: Infiltrado inflamatório leucocitário (seta horizontal); C: Diminuição de celularidade (asterísco) encontrada na região coronal; D: Aumento de fibrose (seta vertical) na região central da polpa; E: Presença de vacuolização (setas oblíquas) nos odontoblastos; F: Nota-se presença de calcificação (seta vertical) formada por lamelas; G: Aspecto pulpar indicativo de necrose com infiltrado inflamatório severo; H: Presença de congestão vascular (seta preta) e trombose (seta azul); I: Extensa área hemorrágica (asterísco branco); J: Formação de dentina reacional (setas oblíquas); K: Formação de dentina reparadora com presença de núcleos nos túbulos (setas verticais); L: Presença de reabsorção interna (seta horizontal).

## 5 - Discussão

Neste estudo, utilizou-se um dispositivo para realizar o trauma que possibilitou a padronização da magnitude e ângulo de aplicação da força, sendo estas características positivas e diferenciais deste método, que geraram respostas semelhantes em toda a amostra<sup>11,20</sup>. Este método de luxação extrusiva resultou em um deslocamento do elemento dental no sentido oclusomesial. Os efeitos da associação entre a luxação extrusiva e a movimentação dentária induzida foram testados e avaliados. Além disso, diante de um trauma com característica extrusiva, recomenda-se aguardar de 6 meses a 1 ano para iniciar o tratamento ortodôntico em humanos, tempo este destinado ao restabelecimento periodontal. Já nos ratos, o ligamento periodontal completa sua reorganização em 15 dias<sup>9,21,22</sup>, o que justificou a escolha por este tempo de reparo pós-trauma.

A magnitude de força aplicada nos experimentos para MDI dos molares dos ratos varia, na literatura, de 0.8cN<sup>23</sup> a 100cN<sup>12</sup> com o intuito de avaliar a reação dos tecidos de suporte e a quantidade de movimentação dentária. Neste estudo, empregou-se uma magnitude de força de 50cN, por meio de uma mola fechada de NiTi, dentro da faixa preconizada pela literatura especializada<sup>11,20</sup>.

A análise quantitativa da movimentação dentária, nesta pesquisa, seguiu o método descrito na literatura por alguns autores<sup>17,18</sup>, por meio da subtração das distâncias da face mesial do 1º molar superior até a distal do 3º molar superior do lado esquerdo (não movimentado) e direito (movimentado). Ao analisar a movimentação nos grupos que não tiveram os dentes traumatizados, observou-se que não houve diferença entre eles. Esse resultado corrobora os achados de Hayashi e seus colaboradores<sup>24</sup> ao estabelecerem que a magnitude, e a duração da força são fatores importantes no estímulo de recrutamento dos osteoclastos, no ligamento periodontal, e que a quantidade de movimentação dentária inicial apresenta-se semelhante tanto para as forças contínuas como para as intermitentes ou interrompidas.

Considerando a presença de luxação extrusiva no elemento dental, os grupos CTFC e CTFCI apresentaram-se semelhantes, porém diferentes estatisticamente do grupo CTFI. Igual comportamento foi estabelecido pelo estudo de Tondelli em 2011<sup>17</sup>, avaliando em tempos diferentes o efeito do mesmo dispositivo de MDI. Estudos de Zingler, *et al* em 2017, mostraram que os aspectos biológicos estão intimamente ligados a movimentação dentária, pois o número de fatores moleculares são massivamente aumentados durante a remodelação óssea e influenciam na quantidade de movimento<sup>25</sup>, o que justifica os achados deste trabalho, já que o

trauma prévio ao movimento aumentaria a concentração de fatores moleculares da inflamação, o que por sua vez aumenta a remodelação óssea, influenciando na quantidade de movimento.

As polpas dentárias mais jovens são maiores, exibindo um grande número de células com pouca ou nenhuma fibrose. Esse padrão histológico muda com o tempo (envelhecimento natural) e com estímulos externos (por exemplo, a força ortodôntica), de modo que a polpa dentária reduz seu volume devido à deposição de dentina secundária, reparadora ou reacional, aumentando a fibrose e a densidade celular, além de reduzir os vasos sanguíneos<sup>8</sup>, o que justifica o aparecimento dessas alterações neste trabalho. Dois fatores podem explicar esses achados: a idade dos murinos (adultos jovens) e o regime de ativação das molas ortodônticas com duas ativações do dispositivo (14 dias), gerando um desafio maior para o reparo pulpar. Resultados diferentes foram encontrados por Mendonça (2018)<sup>6</sup>, no qual o período de movimentação foi de 9 dias (1 ativação) e não foram encontradas alterações de celularidade. Além disso, nódulos e calcificações pulpares também fazem parte do processo natural de “envelhecimento” da polpa, porém podem ocorrer mais precocemente diante de processos traumáticos na estrutura dentária<sup>26</sup>, o que também justifica o aparecimento de calcificações e outras alterações distróficas neste estudo.

Os neuropeptídeos, definidos como neurotransmissores ou neuromoduladores, como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), podem ser desencadeados por cáries, traumas e também pela ação de forças ortodônticas. As alterações vasculares na polpa foram associadas à MDI<sup>27,28,29</sup> e alguns neuropeptídeos podem induzir vasodilatação, vazamento plasmático, ativação do sistema imunológico, quimiotaxia e recrutamento, além de regulação de células inflamatórias<sup>30</sup>. Além de estar envolvido com as alterações hemodinâmicas, o CGRP aumenta a expressão da proteína morfogenética óssea (BMP) 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<sup>31,32,33</sup>, o que corrobora esse estudo, pois foram encontrados tanto alterações hemodinâmicas quanto dentinárias.

As alterações que levam mais tempo para serem detectadas, como a deposição de dentina, também foram encontradas neste estudo, o que concorda com os estudos de Aguiar e Arana-Chavez<sup>34</sup>, no qual descobriram que após 7 dias de pequenos traumatismos (extrusão), já seria possível ver o início da formação de uma matriz tubular de dentina (dentina reacionária) e com 10 dias, áreas de dentina reacionária tubular revestidas com uma camada original de odontoblastos<sup>34</sup>.

A presença de vasos trombóticos congestionados e algumas áreas de hemorragia foram encontradas em todos os grupos. Esses eventos podem ocorrer devido a alterações na microcirculação pulpar, que aumentam a pressão tecidual, levando à ruptura do epitélio dos vasos, causando hemorragias<sup>35</sup>. Essas alterações foram descritas desde os estudos de Vandevska-Radunovic *et al.*, em 1994, em que avaliou-se o feixe vículo-nervoso apical durante o movimento ortodôntico e constatou-se que houve uma desintegração epitelial dos vasos sanguíneos até o terceiro dia e um processo regenerativo com proliferação de novos elementos celulares e vasculares por volta do sétimo dia<sup>36,37</sup>. Além disso, as alterações hemodinâmicas podem ser desencadeadas por inflamação (pulpite irreversível) e culminar em necrose pulpar<sup>7</sup>.

Em relação à reabsorção interna, Consolaro *et al* (2013)<sup>38</sup> afirmou que apenas o trauma é capaz de causar uma desorganização da camada odontoblástica, que ativa unidades osteorremodeladoras e clastos, responsáveis por esses processos, e que o tratamento ortodôntico, mesmo que com forças elevadas, não é capaz de iniciar a reabsorção interna. Porém, neste estudo, a reabsorção interna foi identificada não só nos grupos com trauma, mas também nos grupos sem trauma.

Em 2003, Weiland<sup>39</sup>, constatou que com a utilização de fios super-elásticos, a possibilidade de reabsorções radiculares externas é de 140% maior do que com fios de aço, o que corrobora os estudos de Tondelli<sup>17</sup>, em que as forças contínuas são as que produziram mais áreas hialinas com maior possibilidade de gerar reabsorções radiculares. Em nosso estudo, a força contínua (FC) também apresentou maior quantidade de reabsorção interna. A associação desses resultados demonstra que a força contínua interrompida (FCI) proporciona deslocamentos dentários semelhantes aos produzidos pela força contínua (FC), porém com uma tendência de melhores efeitos biológicos (polpa).

Por fim, são necessários estudos mais contundentes para embasar um tratamento ortodôntico baseado em evidências, com a finalidade de consolidar as tomadas de decisões clínicas acerca do tipo de força ideal para se realizar a movimentação ortodôntica em dentes com histórico de trauma dentoalveolar, sem riscos de alterações permanentes nos tecidos pulpares.

## 6 – Conclusão

Nas condições deste estudo, pode-se concluir que:

- A quantidade de movimentação dentária nos dentes submetidos a luxação extrusiva foi influenciada pelo tipo de força, a qual foi maior para as forças contínua e contínua interrompida;
- Houve uma menor quantidade de infiltrado inflamatório no grupo controle comparado aos outros grupos;
- A força contínua (FC) apresentou maior quantidade de reabsorção interna;
- As alterações pulpares se mostraram mais frequentes em relação às alterações hemodinâmicas, seguida de alterações dentinárias, de celularidade e distróficas.

## 7 - Referências bibliográficas

- 1 BREZNIAK, N.; WASSERSTEIN, A. Root resorption after orthodontic treatment: Part 1. Literature review. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 103, n. 1, p. 62-6, Jan 1993. ISSN 0889-5406.
- 2 PIZZO, G. et al. Root resorption and orthodontic treatment. Review of the literature. **Minerva Stomatol**, v. 56, n. 1-2, p. 31-44, Jan-Feb 2007. ISSN 0026-4970.
- 3 KRISHNAN, V.; DAVIDOVITCH, Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 129, n. 4, p. 469.e1-32, Apr 2006. ISSN 0889-5406.
- 4 GRABER, T. M. **Ortodontia: princípios e técnicas atuais**. . VANARSDALL JR., R. L. Rio de Janeiro: Guanabara - Koogan 2002.
- 5 CONSOLARO, A. **Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas**. Maringá: Dental Press 2005.
- 6 MENDONÇA, M. G.; CUOGHI, O. A.; FARIA, L. P. Pulp analysis of teeth submitted to different type of forces forces: a histological study in rats. **Journal Applied Oral Science**. June, 2018;26:e201706261.
- 7 YU, W.; ZHANG, Y.; JIANG, C.; HE, W.; YI, Y.; WANG, J. Orthodontic treatment mediates dental pulp microenvironment via IL17A. **Arch Oral Biol**. 2016;66:22-9.
- 8 HARGREAVES, K. M.; COHEN, S.; BERMAN, L. H. Cohen's pathways of the pulp. **10th ed. St. Louis**: Mosby Elsevier; 2011.
- 9 VON BOHL, M.; REN, Y. Aged-related changes of dental pulp tissue after experimental tooth movement in rats. **PeerJ**. 2016, DOI10.7717/peerj.1625.
- 10 MALMGREN, O. Abordagem ortodôntica da dentição traumatizada. **In: Andreasen JO, Andreasen FM. Texto e atlas colorido de traumatismo dental**. MALMGREN, B., GOLDSON, L. Porto Alegre: Artmed 2001.
- 11 PEREIRA, A. L. P.; MENDONÇA, M. R., SONODA, C. K., COUGH, O. A., POI, W. R. Histological evaluation of experimentally induced subluxation in rats molars and its implications on the management of orthodontics treatment. **Dental traumatology**. 2010; v.26, p37-42.
- 12 GONZALES, C.; HOTOKEZATA, H.; YOSHIMATSU, M.; YOZGATIAN, J. H.; DARENDELILER, M. A.; YOSHIDA, N. Force magnitude and duration effects on amount of tooth movement and root resorption in the rat molar. **Angle Orthod**. 2008;78(3):502-9.

- 13 TONDELLI, P. M.; MENDONÇA, M. R.; CUOGHI, O. A.; PEREIRA, A. L.; BUSATO, M. C. Knowledge on dental trauma and orthodontic tooth movement held by a group of orthodontists. **Braz Oral Res.** 2010 Jan-Mar;24(1):76-82.
- 14 PEREIRA, A. L.; MENDONÇA, M. R.; SONODA, C. K.; BUSATO, M. C.; CUOGHI, O. A.; FABRE, A. F. Microscopic evaluation of induced tooth movement in traumatized teeth: na experimental study in rats. *Dent Traumatol.* 2012 Apr;28(2):114-20.
- 15 COSTA, L. A.; CANTANHEDE, L. M.; PEREIRA, E. M. Validation of a new experimental model of extrusive luxation on maxillary molars of rats: a histological study. **Clin Oral Invest.** Dec, 2018;22(5):1985-94.
- 16 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. 239-58, Mar 1979. ISSN 0002-9416.
- 17 TONDELLI, P. M. Induction of ankylosis in the incisor for orthodontic tooth movement in rats. **Dental Traumatology.** 2014 Apr;30(2):112-7.
- 18 HONG, R. K. et al. The effect of orthodontic retention on the mechanical properties of the periodontal ligament in the rat maxillary first molar. **J Dent. Res**, v. 71, n. 7, p. 1350-4, Jul 1992. ISSN 0022-0345.
- 19 HAUBER GAMEIRO, G. et al. Effects of short- and long-term celecoxib on orthodontic tooth movement. **Angle Orthod**, v. 78, n. 5, p. 860-5, Sep 2008. ISSN 0003-3219.
- 20 REN, Y.; MALTHA, J. C.; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M. The rat as a model for orthodontic tooth movement--a critical review and a proposed solution. **Eur J Orthod**, v. 26, n. 5, p. 483-90, Oct, 2004. ISSN 0141-5387.
- 21 OHAZAMA, A.; MODINO, S. A.; MILETICH, I.; SHARPE, P. T. Stem-cells based tissue engineering of murine teeth. **J. Dent. Res.** v. 83, n. 7, p. 518-522, 2004.
- 22 PANZARINI, S. R. et al. Histological and immunohistochemical analyses of the chronology of healing process after immediate tooth replantation in incisor rat teeth. **Dent Traumatol**, v. 29, n. 1, p. 15-22, Feb, 2013. ISSN 1600-4469.
- 23 NODA, K.; NAKAMURA, Y.; KOGURE, K.; NOMURA, Y. Morphological changes in the rat periodontal ligament and its vascularity after experimental tooth movement using superelastic forces. **Eur J Orthod.** 2009;31(1):37-45.
- 24 HAYASHI, H.; KONOO, T.; YAMAGUSHI, K. Intermittent 8-hour activation in orthodontic molar movement. **Am J Orthod Dentofacial Orthop.** 2004;125(3):302-9.

- 25 ZINGLER, S., HAKIM, E., FINKE, D., BRUNNER, M., SAURE, D., HOFFMANN, J., SEEBERGER, R. Surgery-first approach in orthognathic surgery: Psychological and biological aspects – A prospective cohort study. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, 2017 45(8), 1293–1301.
- 26 RICUCCI, D.; SIQUEIRA, J. F. Jr.; LOGHIN, S.; LIN, L. M. Pulp and apical tissue response to deep caries in immature teeth: a histologic and histobacteriologic study. **J Dent**. 2017;56:19-32.
- 27 GRUNHEID, T.; MORBACH, B. A.; ZENTNER, A. Pulpal cellular reactions to experimental tooth movement in rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. 2007;104(3):434-41.
- 28 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**. 2007; v.18 (1), p. 34-39.
- 29 HOYLE, C. H. Neuropeptides, essential data. **Chichester**: John Wiley & Sons; 1995.
- 30 CAVIEDES-BUCHELI, J.; MORENO, J. O.; ARDILA-PINTO, J.; TORO-CARRENO, H. R. D.; HERNANDO QUINTERO, H. S.; SIERRA-TAPIAS, C. L. The effect of orthodontic forces on calcitonin gene-related peptide expression in human dental pulp. **J Endod**. 2011;37(7):934-7.
- 31 CALLAND, J. W.; HARRIS, S. E.; CARNES, D. L. Jr. Human pulp cells respond to calcitonin gene-related peptide in vitro. **J Endod**. 1997;23(8):485-9.
- 32 TRANTOR, I. R.; MESSER, H. H.; BIMMER, R. The effects of neuropeptides (calcitonin gene-related peptide and substance P) on culture human pulp cells. **J Dent Res**. 1995;74(4):1066-71.
- 33 UNSTERSEHER, R. E.; NIEBERG, L. G.; WEIMER, A. D.; DYER, J. K. The response of human pulpal tissue after orthodontic force application. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**. 1987;92(3):220-4.
- 34 AGUIAR, M. C.; ARANA-CHAVEZ, V. E. Ultrastructural and immunocytochemical analyses of osteopontin in reactionary and reparative dentine formed after extrusion of upper rat incisors. **J Anat**. 2007;210(4):418-27.
- 35 VANDEVSKA-RADUNOVIC, V.; KVINNSLAND, S.; KVINNSLAND, I. H. Effect of experimental tooth movement on nerve fibres immunoreactive to calcitonin gene-related peptide, protein gene product 9.5, and blood vessel density and distribution in rats. **Eur J Orthod**. 1997;19(5):517-29.

- 36 VANDEVSKA-RADUNOVIC, V., KRISTIENSEN, A. B., HEYERAAS, K. J., KVINNSLAND, S. Changes in blood circulation in teeth and supporting tissues incident to experimental tooth movement. **The European Journal of Orthodontics**, 1994; 16(5), 361–369.
- 37 MATSUMOTO, Y., SRINGKARNBORIBOON, S., ONO, T. Proinflammatory mediators related to orthodontically induced periapical root resorption in rat mandibular molars. **European Journal of Orthodontics**. 2017; 39(6), 686–691.
- 38 CONSOLARO, A., CONSOLARO, R. B. Reabsorção interna não tem como ser induzida pelo tratamento ortodôntico: a causa é o traumatismo dentário! **Rev Clín Ortod Dental Press**. 2013 dez-2014 jan;12(6):102-6.
- 39 WEILAND, F. Constant versus dissipating forces in orthodontics: the effect on initial tooth movement and root resorption. **Eur J Orthod** 2003;25;335-42.

## ANEXO A

### **Journal of applied oral science**

ISSN 1678-7757 printed version

ISSN 1678-7765 online version

#### BASIC INFORMATION:

The **Journal of Applied Oral Science** is a continuation of the Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru.

The Journal of Applied Oral Science operates under a continuous publication online modality. This model results in annual volumes, without issue numbers.

The Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru was published between 1993-2001 and continued from 2002 as the **Journal of Applied Oral Science**, volume 11, # 1, and kept the numbering sequence of the former.

The main goal of the **Journal of Applied Oral Science** is to publish results from original research as well as invited case reports and invited reviews in the fields of dentistry and speech-language pathology and audiology and related sciences areas.

Its abbreviated title is **J. Appl. Oral Sci.**, and it should be used in bibliographies, footnotes, references and bibliographic strips.

#### INFORMATION SERVICES:

The articles published in the **Journal of Applied Oral Science** are indexed or summarized by:

- LILACS: 1993-
- Bibliografia Brasileira de Odontologia (BBO): 1993-
- Ulrich's: 1993-
- SciELO: 2003-
- Portal de Revistas da USP: 2003-
- SCOPUS: 2006-
- PubMed/Medline: 2006-
- PubMed Central: 2006-
- Web of Science: 2007-
- DOAJ -Directory of Open Access Journals: 2004-
- US Cochrane Centers Master List of Journals: 2007-
- Science Citation Index Expanded (SCIE): 2007-

## INTELLECTUAL PROPERTY

All content of the journal, except where identified, is licensed under a Creative Commons attribution-type CC-BY.

## SPONSORS

The publication of this journal is financially supported by:

- Programa de Apoio a Publicações Científicas do Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e da CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior;
- Bauru School of Dentistry, University of São Paulo.

## EDITOR-IN-CHIEF

- Prof. Dr. Karin Hermana Neppelenbroek (FOB-USP, Brasil)

## COEDITOR-IN-CHIEF

- Prof. Dr. Vanessa Soares Lara (FOB-USP, Brasil)

## ASSOCIATE EDITORS

- Prof. Dr. Adilson Furuse (FOB-USP, Bauru, Brazil)
- Profa. Ana Carolina Magalhães (FOB-USP, Brazil)
- Profa. Dra. Ana Carolina Morandini Ramos (University of the Pacific, USA)
- Prof. Dr. Ariadne M. Letra (University of Texas at Houston, USA)
- Profa. Dra. Camila de Oliveira Rodini Pegoraro (FOB-USP, Brazil)
- Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos (FOB-USP, Bauru, Brasil)
- Profa. Dra. Daniela Rios Honório (FOB-USP, Brazil)
- Prof. Dr. Gustavo Pompermaier Garlet (FOB-USP, Bauru, Brasil)
- Prof. Dr. Josette Camilleri (University of Malta, Malta)
- Prof. Dr. Katia de Freitas Alvarenga (FOB-USP, Bauru, Brasil)
- Prof. Dr. Leonardo Rigoldi Bonjardim (FOB-USP, Brazil)
- Prof. Dr. Linda Wang (FOB-USP, Bauru, Brasil)
- Prof. Dr. Marco Antonio Hungaro Duarte (FOB-USP, Bauru, Brasil)
- Prof. Dr. Paulo César Rodrigues Conti (FOB-USP, Bauru, Brasil)
- Prof. Dr. Renato Menezes Silva (University of Texas at Houston, USA)
- Prof. Dr. Rolando Vernal Astudillo (Universidad de Chile, Chile)
- Prof. Dr. Walter Luiz Siqueira (University of Western Ontario, Canadá)

## EDITORIAL PRODUCTION

- ***Journalist***  
Neimar Vitor Pavarini - Mtb 25076
- ***Cover and Picture Designer***  
Camila Medina
- ***Librarians***  
Valéria Cristina Trindade Ferraz - CRB 8ª. 4720  
José Roberto Plácido Amadei - CRB 8. 7324  
Deborah Schmidt Capella Junqueira - CRB 8ª. 8519
- ***Statistics Consultant***  
Prof. Dr. Heitor Marques Honório

## SCOPE AND POLICY

### 1 SCOPE

The **Journal of Applied Oral Science** is committed in publishing the scientific and technologic advances achieved by the dental and speech-language pathology and audiology communities, according to the quality indicators and peer reviewed material, with the objective of assuring its acceptability at the local, regional, national and international levels. The primary goal of The Journal of Applied Oral Science is to publish the outcomes of original research/clinical investigations in the field of Oral Sciences, with emphasis in dentistry, speech-language pathology and audiology, and related areas.

Submissions of case reports (including case series and clinical protocols) are no longer accepted by The Journal of Applied Oral Science and review manuscripts (including systematic reviews) can only be submitted under the editor's invitation

This Journal adopts Creative Commons license CC-BY:

"This license lets others distribute, remix, tweak, and build upon your work, even commercially, as long as they credit you for the original creation. This is the most accommodating of licenses offered. Recommended for maximum dissemination and use of licensed materials."

#### 1.1 Publication fee

There is no fee to authors for submitting to the JAOS nor Article Processing Charge (APC).

## **2 General Guidelines**

2.1 The papers sent for publication must be original and the simultaneous submission to other journal, either national or international, is not allowed. The Journal of Applied Oral Science shall retain the copyright of all papers published, including translations, yet allowing future reproduction as a transcription, provided the source is properly mentioned.

2.2 Only papers written in the English language shall be accepted, and the authors are fully responsible for the texts, citations and references.

2.3 The Journal of Applied Oral Science has the right to submit all manuscripts to the Editorial Board, which is fully authorized to settle the convenience of their acceptance, or return them to the authors with suggestions for modifications in the text and/or for adaptation to the editorial rules of the Journal. In this case, the manuscript will be re-evaluated by the Editor-in-Chief and Editorial Board.

2.4 The concepts stated on the papers published are full responsibility of the authors and do not necessarily reflect the opinion of the Editor-in-Chief and Editorial Board.

2.5 The dates of receipt of the original paper and its acceptance will be indicated in the occasion it is published.

2.6 The Journal of Applied Oral Science is published exclusively in electronic format.

## **3 Revision Criteria**

3.1 Pre-evaluation: manuscripts in accordance with the instructions will be appreciated by Associate Editors regarding its adequacy to Journal scope and the presentation of all required documents. Papers considered inadequate will be rejected and returned to authors.

3.2 Technical review: manuscripts will be firstly evaluated regarding presentation according to the instructions for authors and presence of mandatory documents required for submission. Manuscripts not in accordance with instructions will be returned to authors for adjustments before being reviewed by Associate Editors and referees.

3.3 Merit and content evaluation: papers approved by Associate Editors will be evaluated in their scientific merit and methods by at least two *ad hoc* referees from different institutions of that of the authors, besides the Editor-in-Chief.

3.3.1 As part of the evaluation process, all manuscripts will be submitted to analysis by a plagiarism software.

3.3.2 Editor-in-Chief will decide on manuscript acceptance. When revision of the original is required, the manuscript will be returned to the corresponding author for modification. A

revised version with modifications will be re-submitted by the authors, and that will be re-evaluated by the Editor-in-Chief and Editorial Board, if necessary.

3.4 After approval of the scientific merit, manuscripts will pass through a final review performed by a professional assigned by the JAOS. If manuscripts are still considered inadequate, they will be returned to authors for revision.

3.5 Authors and referees will be kept anonymous during the review process.

3.6 Contents of the manuscript are the authors' responsibility and do not reflect the opinion of the Editor-in-Chief or Editorial Board.

#### **4 Galley Proofs**

4.1 Galley proofs will be sent to the corresponding author by electronic mail in pdf format for final approval.

4.2 Approval of galley proofs by the corresponding author should be returned with corrections, if necessary, within 48 hours.

4.3 Corrections in the galley proofs should be restricted to minor mistakes that do not modify the content of the manuscript. Major corrections will imply that the manuscript should enter the review process again.

4.4 If there is no return of proof in 48 hours, the Editor-in-Chief will consider the version without changes as the final version.

4.5 Inclusion of new authors is not allowed at this phase of the publication process.

4.6 It is the sole responsibility of the authors to verify the proper use of their scientific names in the manuscript.

### **FORM AND PREPARATION OF MANUSCRIPTS**

#### **1 Presentation of the Manuscript**

##### **1.1 Structure of the manuscript**

1.1.1 Cover page must be submitted as a supplementary file and should contain only:

- Title of the manuscript in English.

- Names of the authors in direct order with their respective affiliations in English. Affiliations must be written in Portuguese for Brazilian authors, in Spanish for Spanish authors, and in English for the other nationalities.
- Full address of the corresponding author, to whom all correspondence should be addressed, including phone number as well as e-mail address.

### 1.1.2 Text

- The paper must be previously translated or reviewed by professional or company responsible for English language. Authors with English as native language must submit as supplementary file a signed letter taking responsibility for the quality of the English language and editing of the text.
- Title of the manuscript in English.
- Abstract structured in a sole paragraph: should comprise at most 300 words, highlighting a little introduction, objective, material and methods, results and conclusions.
- Key words: (words or expressions that identify the contents of the manuscript). The authors are referred to the list of subjects of the [MeSH](#) and [DeCS](#). Authors must use periods to separate the key words, which must have the first letter of the first word in capital letters. Ex: Dental implants. Fixed prosthesis. Photoelasticity. Passive fit.
- Introduction: summary of the rationale and proposal of the study including only proper references. It should clearly state the hypothesis of the study.
- Material and Methods: the material and the methods are presented with enough detail to allow confirmation of the findings. Include city, state and country of all manufacturers right after the first appearance of the products, reagents or equipments. Published methods should be referred to and briefly discussed, except if modifications were made. Indicate the statistical methods employed, if applicable. Please refer to item 3 for ethical principals and registration of clinical trials.
- Results: presents the outcomes in a logical sequence in the text, tables and illustrations. Data contained in tables and illustrations should not be repeated in the text, and only important findings should be highlighted.
- Discussion: this should emphasize the new and important aspects of the study and the resulting conclusions. Any data or information mentioned in the introduction or results should not be repeated. Findings of other important studies should be reported. The authors should point out the implications of their findings as well as their limitations.
- Conclusion(s) (if any).
- Acknowledgments (when appropriate). Acknowledge those who have contributed to the work. Specify sponsors, grants, scholarships and fellowships with respective names and identification numbers.
- References (please refer to item 2.3)

## 2 TECHNICAL NORMALIZATION

The manuscript should be typed as follows: 1.5 spacing in 11 pt Arial font, with 3-cm margins at each side, on an A4 page, adding up to at most 15 pages, including the illustrations (graphs, photographs, tables, etc).

## **2.1 Illustrations and Tables**

2.1.1 The illustrations (photographs, graphs, drawings, charts, etc.), regarded as figures, should be limited to the least amount possible and should be uploaded in separate files, consecutively numbered with Arabic numbers according to the order they appear in the text.

2.1.2 Photographs should be sent in .jpg or tif formats with at least 10 cm width and at least 300 dpi. These illustrations should be provided in supplementary files and not inserted in the Word document.

2.1.3 The tables should be logically arranged, consecutively numbered with Arabic numbers. The legend shall be placed on the top of the tables. Tables should be open in the right and left laterals.

2.1.4 The corresponding legends for figures should be clear, concise and typed at the end of the manuscript as a separate list preceded by the corresponding number.

2.1.5 Footnotes should be indicated by asterisks and restricted to the least amount possible.

## **2.2 Citation of the Authors**

Citation of the authors in the text may be performed in two manners:

1) Just numeric: " and interfere with the bacterial system and tissue system. "<sup>3,4,7-10</sup> References must be cited in a numeric ascending order within the paragraph.

2) or alphanumeric

- one author - Gatewood<sup>31</sup> (2012)
- two authors - Cotti and Mercurio<sup>19</sup> (2016)
- three authors - Azar, Safi, Nikaein<sup>27</sup> (2012)
- more than three authors - Gealh, et al.<sup>28</sup> (2014)
- Punctuation characters such as periods and commas must be placed after the numeric citation of the authors. Ex: Ferreira<sup>38</sup> (2015).

## **2.3 References**

The references must follow the "Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journals - Vancouver" available at: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

2.3.1 All references must be cited in the text. They should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Abbreviations of the titles of the international journals cited should follow [MEDLINE](#).

2.3.2 Personal communications and unpublished data with no publication date must not be included in the reference list.

2.3.3 Abstracts, monographs, dissertations and theses will not be accepted as references.

2.3.4 The names of all authors should be cited up to 6 authors; in case there are more authors, the 6 first authors should be cited, followed by the expression ", et al.", which must be followed by "period" and should not be written in italics. Ex: Cintra LT, Samuel RO, Azuma MM, Ribeiro CP, Narciso LG, Lima VM, et al.

2.3.5 At most 40 references may be cited.

Examples of references:

#### **Book**

Preedy VR, organizer. Fluorine: chemistry, analysis, function and effects. London: Royal Society of Chemistry; 2015.

#### **Book chapter**

Buzalaf CP, Leite AL, Buzalaf MA. Fluoride metabolism. In: Preedy VR, organizer. Fluorine: chemistry, analysis, function and effects. London: Royal Society of Chemistry; 2015. p. 54-72.

#### **Papers published in journals**

Gorduysus M, Nagas E, Torun OY, Gorduysus O. A comparison of three rotary systems and hand instrumentation technique for the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal. Aust Endod J. 2011;37(3):128-33.

#### **Online-only journal article (with electronic identifier)**

Rudolph H, Ostertag S, Ostertag M, Walter MH, Luthardt RG, Kuhn K. Reliability of light microscopy and a computer-assisted replica measurement technique for evaluating the fit of dental copings. J Appl Oral Sci [Internet]. 2018[cited 2017 Dec 12];26:e20160590. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-7757-2016-0590>

#### **Journal article with DOI**

Wagner F, Strasz M, Traxler H, Schicho K, Seemann R. Evaluation of an experimental oblique plate for osteosynthesis of mandibular condyle fractures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2017;124(6):537-41. doi: 10.1016/j.oooo.2017.09.004

### **Journal article Epub ahead of print/In press/Forthcoming**

Nair R, Chiu SE, Chua YK, Dhillon IK, Li J, Yee RT. Should short-term use of alcohol containing mouthrinse be avoided for fear of worsening xerostomia? *J Oral Rehabil.* Forthcoming 2017. doi: 10.1111/joor.12587

### **Papers with more than 6 authors**

The first 6 authors are cited, followed by the expression ", et al."

Grubbs V, Plantinga LC, Crews DC, Bibbins-Domingo K, Saran R, Heung M, et al. Vulnerable populations and the association between periodontal and chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6:711-7

### **Volume with supplement and/or Special Issue**

Davisson CL. Advances in glass-ionomer cements. *J Appl Oral Sci.* 2006;14(sp. Issue):3-9.

The authors are fully responsible for the correctness of the references.

## **3 ETHICAL PRINCIPLES AND REGISTRATION OF CLINICAL TRIALS**

### **3.1 Experimental procedures in humans and animals**

The Journal of Applied Oral Science reassures the principles incorporated in the Helsinki Declaration and insists that all research involving human beings, in the event of publication in this journal, be conducted in conformity with such principles and others specified in the respective ethics committees of authors' institution. In the case of experiments with animals, such ethical principles must also be followed. When surgical procedures in animals were used, the authors should present, in the Material and Methods section, evidence that the dose of a proper substance was adequate to produce anesthesia during the entire surgical procedure. All experiments conducted in human or animals must accompany a description, in the Material and Methods section, that the study was approved by the respective Ethics Committee of authors' affiliation and provide the number of the protocol approval.

3.1.1 Papers presenting **clinical trials** or **clinical studies in human volunteers or in animals** must contain the Ethical Committee approval of the reports as **mandatory supplementary file**.

3.1.2 Papers describing studies in animals must be submitted with the ARRIVE Checklist as mandatory supplementary file. The ARRIVE Checklist is available at

<https://mc04.manuscriptcentral.com/societyimages/jaos-scielo/ARRIVEChecklist.docx>

3.1.3 Ethics Committee certificate written in different languages from English, Spanish and Portuguese must be full translated into English.

### **3.2 Clinical Trial Registration**

The Journal of Applied Oral Science supports the policies of the World Health Organization (WHO) and the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) for the registration of clinical trials. The journal recognizes the importance of such initiatives for the registration and international publication of clinical studies with an open access. Therefore, the Journal of Applied Oral Science will publish only those clinical trials that have previously received an identification number validated by the criteria established by the WHO and ICMJE. The WHO defines clinical trials as "any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects on health outcomes. Interventions include but are not restricted to drugs, cells and other biological products, surgical procedures, radiologic procedures, devices, behavioral treatments, process-of-care changes, preventive care, etc".

3.2.1 Manuscripts presenting clinical trials in human volunteers must be submitted with the following mandatory supplementary files:

- CONSORT 2010 checklist (<http://www.consort-statement.org/>);
- registration number of the research in a database that meets the requirements of the World Health Organization (WHO) and the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)
- Suggestions: for Brazilian authors: <http://www.ensaiosclinicos.gov.br/>
- Suggestions for Brazilian and non-Brazilian authors: <http://www.controlled-trials.com/> (ISRCTN) or <http://prsinfo.clinicaltrials.gov>.

3.3 The Editor-in-Chief and the Editorial Board reserve the right to refuse manuscripts that show no clear evidence that the methods used were not appropriate for experiments in humans or animals.

## **4 ANY QUERIES SHALL BE SOLVED BY THE Editor-in-Chief AND EDITORIAL BOARD**

### **SENDING OF MANUSCRIPTS**

#### **1 MANUSCRIPT SUBMISSION**

1.1 Articles must be submitted through the following address <https://mc04.manuscriptcentral.com/jaos-scielo>

1.2 The original file containing the main manuscript must be submitted without the authors' identification and affiliations. The cover page must be submitted as a supplementary file containing the names of the authors, affiliations and correspondence address.

1.3 Figures must be submitted as supplementary files according to the specifications of item 2.1 regarding the form and preparation of manuscripts.

1.4 - Tables must be prepared in Excel format and must be submitted as a supplementary files.

1.5 Files such as registration number of clinical trial or Ethics Committee approval must be sent as mandatory supplementary files.

1.6 The letter from the author responsible for English language or from a professional or company responsible for translation or review must be submitted as mandatory supplementary file.

1.7 The [submission form](#), signed by ALL the authors, must be submitted as a supplementary file.

1.8 The Journal of Applied Oral Science recommends the inclusion of the ORCID registration number of the authors for manuscript submission. All authors must associate the ORCID registration number to their profile on ScholarOne.

The Journal of Applied Oral Science is exclusively published online, with open access, for those with gold membership, and free of charge.

The online journal is free and open access.

## ANEXO B

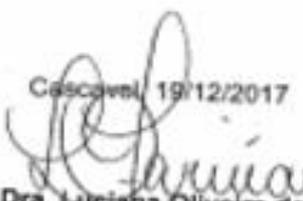


## Autorização

O protocolo intitulado "Avaliação dos tipos de força utilizados na movimentação dentária induzida em dentes traumatizados – estudo experimental em ratos", sob a responsabilidade de **Mauro Carlos Agner Busato** 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 08/12/2017.

FINALIDADE	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	05/02/2018 - 30/08/2018
Espécie/inhospedante	Rato: <i>Rattus norvegicus albinus</i> Wistar
N. de animais	80
Peso/idade	250-300g/90 dias
Sexo	Masculino
Origem	Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE - Campus Cascavel - PR

Cascavel, 19/12/2017

  
 Profa. Dra. Luciana Oliveira de Fariña  
 Coordenadora do CEUA  
 Portaria nº 3730/2016 - GRE