



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

MARCELO LELIS ZUPPARDO

**EFEITO DA CORTICOTOMIA E DECORTICALIZAÇÃO NA
MOVIMENTAÇÃO ORTODÔNTICA: estudo em ratos**

2018

MARCELO LELIS ZUPPARDO

**EFEITO DA CORTICOTOMIA E DECORTICALIZAÇÃO NA MOVIMENTAÇÃO
ORTODÔNTICA: estudo em ratos**

Tese apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área de Microbiologia e Imunologia.

Orientadora: Profa. Adj. Maria Aparecida Neves Jardimi

Coorientador: Prof. Dr. Milton Santamaria Junior

São José dos Campos

2018

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2018]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Zuppardo, Marcelo Lelis

Efeito da corticotomia e decorticalização na movimentação ortodôntica: estudo em ratos / Marcelo Lelis Zuppardo. - São José dos Campos : [s.n.], 2018.

54 f. : il.

Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2018.

Orientadora: Maria Aparecida Neves Jardimi

Coorientador: Milton Santamaria Junior

1. Ortodontia. 2. Corticotomia. 3. Decorticalização. 4. Movimentação ortodôntica. 5. Micro CT. I. Jardimi, Maria Aparecida Neves, orient. II. Santamaria Junior, Milton, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Adj. Maria Aparecida Neves Jardim

Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Prof Dr Sergio Lúcio Pereira de Castro Lopes

Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Profa Dra Mariellen Longo

Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Prof Dr Camila Borges Fernandes

Universidade do Vale do Paraíba (Univap)
Faculdade de Ciência e Saúde
Campus de São José dos Campos

Prof Dr Fabio da Silva Matuda

Universidade do Vale do Paraíba (Univap)
Faculdade de Ciência e Saúde
Campus de São José dos Campos

São José dos Campos, 06 junho 2018.

DEDICATÓRIA

A **Deus** que abençoa cada dia de minha vida e me concedeu força para concluir mais esta etapa.

Aos meus pais **Rodolpho Zuppardo e Marister Vieira Lelis Zuppardo** que com seu exemplo me ensinam constantemente a seguir em frente e por sempre estarem ao meu lado com muito amor.

A minha amada esposa **Thais Feres Menegario Zuppardo** que com sua dedicação, paciência e sabedoria tornou-se parte fundamental deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Obrigado Deus por me guiar, iluminar e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades. Agradeço a Ele também por manter a minha mãe e meu pai ao meu lado, com a saúde que eles estão hoje. Agradeço aos meus irmãos e principalmente aos meus pais, que sempre me motivaram, entenderam as minhas faltas e momentos de afastamento e reclusão e me mostraram o quanto era importante estudar.

Aos meus pais Rodolpho e Marister, pela sabedoria em me educar, por seus gestos solidários, pela sua espiritualidade, pelo amor e carinho de mãe e pai que souberam me proteger e me ensinar os limites da vida, por ter investido e acreditado sempre na educação e me incentivado a trilhar os caminhos do conhecimento capaz de transformar as pessoas sempre para melhor. Meus pais vocês são presença marcante em minha vida. Obrigado por me ensinar a não desistir dos meus sonhos, por acreditar em mim e por compartilhar de muitas das minhas angústias e conquistas. Amo-os muito.

Agradeço a minha amada esposa, Thais, pela força que nos une e faz do nosso amor o mais intenso e o maior. Obrigado por ser minha companheira nas horas boas e ruins, que fica sentada comigo às noites me ajudando trabalhar, e que me tranquiliza dizendo: “calma, tudo vai dar certo!”. Pela sua força, por sua dedicação, pela espera paciente nos momentos de ausência, por toda a sua capacidade de compreensão, por sua confiança em mim, enfim, pela sua presença em minha vida. Muito Obrigado! Esta vitória é nossa!.

Agradeço muito a minha querida orientadora Ucha. Resumi-la é muito pouco e tenho certeza de que ela sente a importância que teve e tem para mim não só na condução do trabalho, mas também pelo incentivo e pelo exemplo de competência e perseverança não apenas no campo científico, mas também frente às adversidades da vida.

Ao professor Mauro, por sua competência teórica técnica e seus ricos ensinamentos durante todo o doutorado.

Aos professores Braulino e Andréa, por partilharem seus conhecimentos.

Ao professor Milton por compartilhar os conhecimentos teóricos e práticos da Ortodontia e me ensinar técnicas laboratoriais de suma importância para realização deste trabalho e especialmente e por sempre estar agregando, em todo meu trabalho.

Agradeço a todos os colegas de mestrado e doutorado, que vivenciaram momentos de estudo, de escrita de artigo e de tensão, como a prova de qualificação, no decorrer desta jornada.

Em especial cito as colegas Camila e Mariellen com quem tive a oportunidade de unir uma convivência agradável, companheira e produtiva.

Entre as instituições com as quais me relacionei e muito aprendi, preciso registrar o agradecimento ao professor Joni da Unesp de Araraquara que trabalhou em algumas fases do estudo e que tornaram tudo isso possível e com eles aprendi o valor das palavras na educação, o espírito de trabalho em equipe e amadureci muito como profissional.

De forma coletiva, preciso registrar a contribuição das equipes de trabalho das quais participei junto com os demais professores e um agradecimento especial merece ser feito aos funcionários, especial ao Tônico e Walter pela disponibilidade, simpatia e gentileza, no qual realizamos trabalhos laboratoriais fundamentais. Obrigado pela ajuda!

Agradeço as minhas amigas de profissão pelo incentivo e companheirismo nos estágios iniciais da minha jornada no Doutorado Unesp em especial a Dra Regiane Mantovani, de mais longa data desde antes da graduação na faculdade Puc Campinas que compartilha comigo todos os momentos de nossas vidas.

Um último agradecimento afetivo fica reservado aos amigos, meus irmãos meus sobrinhos, minhas cunhadas, meu sogro e sogra, minhas primas, meu tio Alcides e minha tia Marise, simplesmente, por existirem na minha vida, por me aceitarem como eu sou, por compreenderem minhas ausências, por toda a ajuda, companheirismo, compreensão, carinho e amizade. Valeu mesmo! Amo todos vocês Obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 PROPOSIÇÃO.....	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Distribuição da amostra.....	18
3.2 Instalação do dispositivo para a movimentação ortodôntica.....	19
3.3 Procedimento Cirúrgico.....	20
3.4 Eutanásia.....	22
3.5 Análise dos espécimes	23
3.5.1 Medida macroscópica da área movimentada.....	23
3.5.2 Imagem Radiográfica	24
3.5.3 Microtomografia computadorizada (MicroCT)	26
3.5.4 Analise Histológica.....	29
3.5.5 Histomorfometria.....	30
3.5.6 Imunoistoquímica (RANK, RANKL, OPG e TRAP)	31
3.5.7 Estatística.....	33
4 RESULTADOS	35
4.1 Medida macroscópica da movimentação ortodôntica	35
4.2 Medidas Radiográficas da Área Interradicular.....	35
4.3 Medida linear da crista óssea mesial.....	36
4.4 Microtomografia computadorizada (MicroCT)	36
4.5 Análise Histológica.....	38
4.6 Histomorfometria.....	41
4.7 Imunoistoquímica (RANK, RANKL, OPG e TRAP)	42
5 DISCUSSÃO.....	45
6 CONCLUSÃO	48

REFERÊNCIAS.....	49
ANEXO.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição dos períodos experimentais da amostra.....	18
Figura 2 – Representação do dispositivo ortodôntico.....	20
Figura 3 - Aparelho Piezocirurgico.....	21
Figura 4 - Ranhuras nos osso cortical em forma de U	21
Figura 5 – Corticotomia e decorticalização G2.....	22
Figura 6 – Medidas Macroscópicas	23
Figura 7 – Raio X da peça.....	24
Figura 8 - Desenhos esquemáticos evidenciando a delimitação da região de interesse (RI) para análise da área	25
Figura 9 - Desenho esquemático evidenciando a delimitação da região de interesse (RI) ...	26
Figura 10 - Imagens de tomografia microcomputadorizada de alta resolução nos 3 planos de espaço.....	27
Figura 11 - Região de interesse (RI)	27
Figura 12 - Imagem do plano axial realizado em tomografia microcomputadorizada de alta resolução do lado direito (CO).....	28
Figura 13 - Imagem do plano axial realizado em tomografia microcomputadorizada de alta resolução do lado direito (CO + DE).....	28
Figura 14 - Imagem do plano transversal realizado em tomografia microcomputadorizada de alta resolução	29
Figura 15 - Corte transversal da área intra-radicular do primeiro molar da mandíbula.....	31
Figura 16 - Corte transversal da área intra-radicular do primeiro molar da mandíbula.....	31
Figura 17 – Imagens do plano transversal realizado em tomografia micro computadorizada de alta resolução	38
Figura 18 - Fotomicrografia evidenciando o periodonto dos primeiros molares inferiores	40
Figura 19 – Imunomarcção para RANK, RANKL e OPG na região dos primeiros molares inferiores	43
Figura 20 – Imunomarcção para TRAP na região dos primeiros molares inferiores.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Medida da Movimentação Ortodôntica nas mandíbulas direita e esquerda, mensuradas em milímetros com paquímetro digital.	35
Tabela 2- Medidas radiográficas da área interradicular mensuradas em mm ² e medida linear em milímetros.....	36
Tabela 3 - Medidas da fração mineral óssea e densidade mineral óssea no MicroCT.....	37
Tabela 4 - Quantificação em porcentagem da reabsorção radicular e frequência de áreas hialinas do ligamento periodontal em cada raiz mesial (RM), distal (RD), que são de maior calibre e nas raízes menores vestibular (RV) e lingual (RL).	40
Tabela 5 - Medidas histomorfométricas da área geométrica demarcada em mm ²	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BMD	Densidade mineral média
BV	Volume de tecido mineralizado
BV/TV	Fração de volume ósseo
CCD	Dipositivo de Carga Acoplada
CO	Corticotomia
DE	Decorticalização
EDTA	Ácido etilenodiamino tertra -acético
FAR	Fenômeno aceleratório regional
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
GC	Grupo Controle
Micro CT	Micro tomografia computadorizada
OPG	Osteoprotegerina
OR	Ortodontia
RANKL	Receptor Ativador do Fator Nuclear Kappa B Ligante
RANK	Receptor Ativador do Fator Nuclear Kappa B
RD	Raiz Distal
RI	Região de Interesse
RL	Raiz Lingual
RM	Raiz Mesial
RV	Raiz Vestibular
TRAP	Fosfatase Ácido Tartarato Resistente
TV	Volume total de tecido

Zupardo ML. Efeito da corticotomia e decorticalização na movimentação ortodôntica: estudo em ratos. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2018.

RESUMO

Este estudo comparou dois protocolos cirúrgicos, corticotomia e corticotomia com decorticalização, em ratos para verificar alteração na movimentação ortodôntica convencional. 60 animais foram divididos aleatoriamente: Grupo controle (GC) - movimentação ortodôntica convencional; Grupo 1 (G1) - movimentação ortodôntica e corticotomia; Grupo 2 (G2) - movimentação ortodôntica com corticotomia e decorticalização. Os animais foram eutanasiados após 7 e 14 dias. No G1 e G2 houve uma maior movimentação ortodôntica comparado aos animais do GC aos 14 dias ($p = 0,009$ e $0,016$) com uma maior área radiográfica interradicular, menor volume ósseo/volume total, menor área final e menor porcentagem de osso. Aos 7 dias os animais do G2 apresentaram menor volume de osso/volume total comparado com GC e aos 14 dias os animais do G2 apresentaram uma menor medida linear da crista óssea comparado com o GC. Os animais do GC aos 14 dias apresentaram uma maior área final comparado aos 7 dias, enquanto o G2 apresentou maior número de células TRAP positivas tanto aos 7 quanto aos 14 dias comparado com o G1. Na análise histológica aos 7 dias houve frequente reabsorção radicular inicial geralmente associada às áreas de hialinização e aos 14 dias, presença do infiltrado inflamatório e com menor ocorrência de áreas hialinas. O padrão de reabsorção radicular iniciado no 7º dia de movimento e consolidado no 14º dia. Concluímos que a corticotomia acelera a movimentação ortodôntica em 14 dias independente da magnitude da injúria cirúrgica

Palavras-chave: Ortodontia. Corticotomia. Decorticalização. Movimentação ortodôntica. Micro CT. Radiografia digital.

Zuppardo ML. *Corticotomy and Decortication effect on orthodontic tooth movement: study in rats*. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2018.

ABSTRACT

This study compared two surgical protocols, corticotomy and decorticalization corticotomy, in rats to verify alteration in conventional orthodontic movement. 60 animals were randomly divided: Group 1 (G1) orthodontic movement and corticotomy, and Group 2 (G2) orthodontic movement with corticotomy and decorticalization. The animals were euthanized after 7 and 14 days. In G1 and G2, there was a greater orthodontic movement compared to CG animals at 14 days ($p = 0.009$ and 0.016) with a higher interradiographic area, lower bone volume / total volume, lower final area and lower percentage of bone. At 7 days the G2 animals presented lower bone volume / total volume compared to CG and at 14 days G2 animals presented a smaller linear measure of bone crest compared to CG. GC animals at 14 days presented a larger final area compared to 7 days, while G2 presented a higher number of TRAP cells positive at 7 and 14 days compared to G1. In the histological analysis at 7 days, there was frequent initial root resorption generally associated with hyalinization areas and at 14 days, presence of inflammatory infiltrate and less occurrence of hyaline areas. The root resorption pattern started on day 7 of movement and was consolidated on the 14th day. We conclude that corticotomy accelerates orthodontic movement in 14 days regardless of the magnitude of the surgical injury.

Keywords: Orthodontics. Corticotomy. Decoration. Orthodontic movement. Micro CT. Digital radiography.

1 INTRODUÇÃO

As reações biológicas periodontais contribuem para os resultados do tratamento ortodôntico, onde a produção de hialinização do ligamento, que são áreas livres de células (Miyoshi et al., 2001; Lazzari et al., 2017), modificam a taxa de movimentação dos dentes (Murphy CA et al., 2014). Tratamentos ortodônticos prolongados tem sido associados com resultados negativos, como o aumento do risco de cáries (Richter et al., 2011), doença periodontal (Geiger, 1980; Alexander, 1991), reabsorção radicular (Weltman et al., 2010) e reações pulpares (Grunheid et al., 2007), enquanto a redução do período do tratamento ortodôntico tem o benefício de, possivelmente, minimizar estes efeitos colaterais indesejados e melhorar a satisfação e aceitação do paciente.

Cada vez mais, diferentes estratégias estão sendo usadas para minimizar os riscos de hialinização do ligamento periodontal e reduzir o período de tratamento ortodôntico. Sistemas de bráquetes autoligados, fios com memória de forma (Dibart et al., 2014), utilização de micro implantes (Mostafa et al., 2009), o uso de correntes elétricas (Spadari et al., 2017), a administração de medicamentos (Alves et al., 2009; Lee, 1990) e a corticotomia (Wilcko WM et al., 2001; Oliveira et al., 2010) são empregados para acelerar o movimento dentário.

A corticotomia ou injúria intencional do osso se limita à porção cortical do osso alveolar, com penetração mínima no osso medular (Oliveira et al., 2010), produz um processo inflamatório local controlado que pode facilitar a remodelação do osso alveolar no movimento ortodôntico e diminuir a ocorrência de hialinização do ligamento periodontal (Lazzari et al., 2017).

Na Ortodontia, corticotomias ou osteotomias são indicadas para acelerar o tratamento ortodôntico corretivo como um todo, facilitando a execução de movimentos ortodônticos mecanicamente difíceis e potencializando a correção de mal oclusões esqueléticas de moderadas a severas (Wilcko WM et al., 2001; Yen et al., 2001, 2003, 2005; Iseri et al., 2005; Sukurica et al., 2007).

Os primeiros resultados de osteotomias para correção de dentes mal posicionados foi relatado por Merrill e Pedersen (1976). Kole em (1959) utilizou uma

combinação de osteotomias interradiculares e subapicais para aumentar a rapidez da movimentação dentária.

Em 2001, com a publicação de Wilcko WM et al., de dois relatos de caso sobre as corticotomias, patentearam a *Wilckodontics technique*, voltando à tona este assunto nos meios científicos. O Fenômeno Aceleratório Regional (FAR) foi anteriormente descrito por Frost em (1983), como um movimento dentário mais rápido devido à resistência reduzida do osso cortical por procedimento cirúrgico, enquanto Yaffe (1994), descreveu FAR como uma explosão temporária de remodelação localizada dos tecidos moles e duros isto é, uma regeneração que reconstrói o osso de volta ao seu estado normal e Sebaun et al. (2008), observou que FAR aumenta o metabolismo ósseo, ativando osteoclastos e osteoblastos, diminuindo a densidade do osso.

A maioria das publicações sobre corticotomia até então, se baseavam principalmente em relatos de casos clínicos, com muitas variações no protocolo cirúrgico (Wilcko WM et al., 2001, 2013; Wilcko MT et. al., 2009). Recentemente a literatura tem mostrado por meio de estudos em animais, reações biológicas de remodelação óssea e dos tecidos periodontais quando associados a corticotomia e a movimentação ortodôntica (Dibart et al., 2014; Murphy CA et al., 2014; Wang et al., 2009; Lee et al., 2008).

A expressão e o padrão de distribuição do Receptor Ativador do Fator Nuclear Kappa B Ligante (RANKL) se modificam na aplicação da força ortodôntica no tecido peridontal e foi sugerido que este biomarcador é regulada por citocinas pró-inflamatórias como TNF e IL-1 estando associado à progressão da osteoclastogênese (RANKL) no ligamento periodontal. A participação do sistema RANK/RANKL/OPG é um importante fator na remodelação do osso durante a movimentação ortodôntica e indicam a maturação de células osteoclásticas e osteoblásticas no processo de remodelação óssea (Yamaguchi, 2009). O biomarcador Fosfatase Ácida Resistente ao Tartarato (TRAP) mensura a atividade catabólica mediada por osteoclastos e pré osteoclastos, fator limitante na movimentação dentária onde o ligamento periodontal desempenha um fator crucial (Sebaun et al., 2008; Murphy KG et al., 2009; Franzen et al., 2014).

Originalmente, hipotetizou-se que tanto as corticotomias quanto as osteotomias no osso alveolar criariam um local de distração semelhante aos ossos

longos quando colocados sob tensão ortodôntica. Porém Lee et al. (2008), demonstraram que as osteotomias produziam alterações que se assemelham a uma distração distal local, enquanto as corticotomias produziram uma perda regional de suporte ósseo das raízes dentárias, típicas do fenômeno aceleratório regional (FAR). Quando associadas, a corticotomia e a decorticalização alveolar, induzem o aumento de renovação tecidual e uma transitória osteopenia, que é seguida por uma taxa mais rápida de movimentação ortodôntica (Hassan et al., 2010)

Apesar da eficácia das corticotomias (Baloul et al., 2011; Mostafa et al., 2009; Lino et al., 2006) e decorticalização (Kim et al., 2009) terem sido documentados, não há estudos comparando estas técnicas. Lazzari et al. (2017), foi o primeiro a descrever que a corticotomia e decorticalização exercem o mesmo efeito na indução do movimento dentário.

A intervenção cirúrgica durante o tratamento ortodôntico nem sempre pode ser realizada e ainda é vista com certa cautela, principalmente no que diz respeito ao trauma cirúrgico.

Técnicas minimamente invasivas tem sido estudadas na aceleração do movimento dentário a fim de minimizar os danos cirúrgicos e maximizar os ganhos no tratamento ortodônticos (Kim et al., 2009; Dibart et al., 2009).

Frente a isso este estudo avaliou dois protocolos cirúrgicos, sendo um menos invasivo que o outro, e ambos comparados a um controle em modelo experimental com ratos, procurando desta forma protocolos eficientes e não traumáticos.

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi comparar dois protocolos de corticotomia em um modelo experimental em ratos e verificar se o aumento da taxa de movimentação dentária está relacionado ao diferente grau de extensão do procedimento cirúrgico corticotomia e corticotomia com decorticalização por meio das análises:

- Macroscópicas;
- Análise Radiográficas;
- Microtomografias computadorizada (MicroCT);
- Análise Histológicas e Histomorfométricas;
- Análise Imunoistoquímicas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

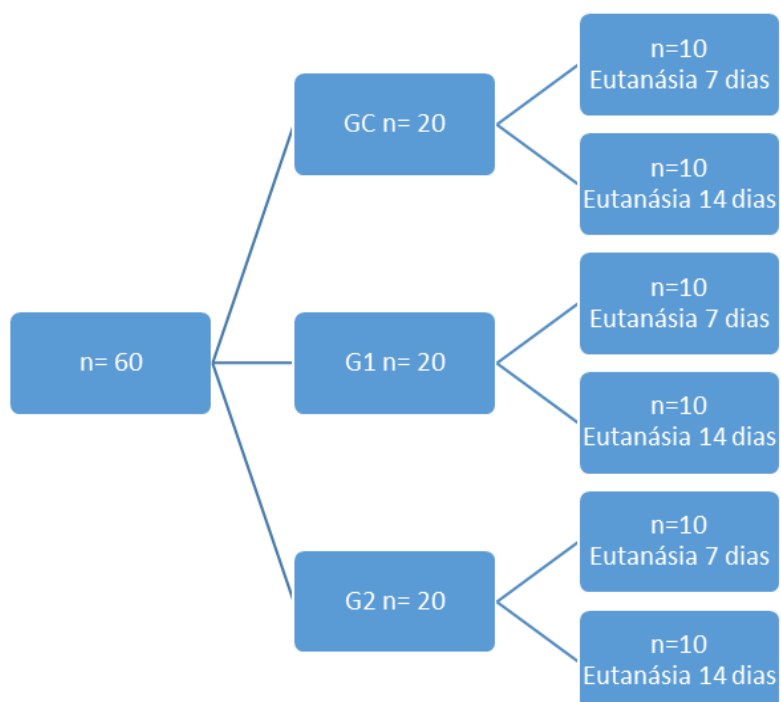
Os procedimentos para manipulação experimental foram realizados de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo “Guia para cuidado e uso de animais de laboratório” (ARRIVE) e o protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em animais (CEUA) com o protocolo nº 08/2015-CEUA/ICTCJSC-UNESP.

Este estudo foi realizado em 60 ratos machos adulto da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinos*), com 90 dias e pesando em média 300 g, obtidos do biotério central de Botucatu - UNESP. Os animais foram mantidos em gaiolas apropriadas, fornecido ração moída e água *ad libitum* e mantidos à temperatura ambiente (22°C).

3.1 Distribuição da amostra

Os 60 animais foram separados aleatoriamente em três grupos com 20 animais cada. Grupo controle (GC), cujos animais receberam apenas ortodontia convencional e dois grupos experimentais: Grupo 1 (G1) que foi submetido à uma técnica menos invasiva isto é, corticotomia e ortodontia e Grupo 2 (G2) que foi submetido a corticotomia com decorticalização e ortodontia, uma técnica mais invasiva (Figura 1).

Figura 1 - Distribuição dos períodos experimentais da amostra



Fonte: Elaborada pelo autor.

3.2 Instalação do dispositivo para a movimentação ortodôntica

Para a instalação do dispositivo ortodôntico experimental na mandíbula, os animais foram anestesiados com injeção intramuscular da associação de uma solução de 13 mg/Kg de cloridrato de 2-(2,6-xilidino) -5-6-dihidro-4H-1,3 tiazina (Rompum – Bayer do Brasil), substância com propriedades sedativas e analgésicas, além de relaxante muscular e 33 mg/Kg de ketamina base (Dopalen – Agribands do Brasil) em seguida, posicionados em uma mesa operatória idealizada para este fim.

Utilizou-se um porta agulha Mathieu com um fio de amarril 0,12 mm pinçado em sua ponta e afastando-se a mucosa jugal do animal com um afastador clínico inseriu-se o fio de amarril 0,12 mm (Morelli, Sorocaba, SP, Brasil) por lingual e pelo espaço interproximal entre o primeiro e segundo molar inferior direito. Foi então conectado uma mola helicoidal fechada de aço com 3 mm de comprimento, pré calibrada liberando forças contínuas (Morelli, Sorocaba, SP, Brasil).

Em seguida na outra extremidade da mola fechada entrelaçou-se dois segmentos de fio de amarril 0,20 mm (Morelli, Sorocaba, SP, Brasil) que foram fixados nos incisivos inferiores, possibilitando uma ancoragem total devido ao tamanho de suas raízes e provocando uma tração da mola correspondente a uma força de 40 g (Ferreira et al., 2018). Para melhor fixação e proteção da mucosa do animal foi realizado um recobrimento com resina foto polimerizável (3M ESPE, St. Paul, Mn, USA) sobre o fio de amarril na região dos incisivos inferiores. A liberação de força de 40 g sobre o primeiro molar inferior direito (ponto de aplicação de força) e os incisivos inferiores (ponto de ancoragem total) permitiram que o primeiro molar fosse mesializado (Figura 2).

Figura 2 – Representação do dispositivo ortodôntico



Legenda: a) desenho do dispositivo utilizado; b) mola instalada entre o primeiro molar e os incisivos inferiores do rato; c) recobrimento com resina fotopolimerizável.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Em seguida os animais receberam dose única de Ketoprofen, 10 mg/kg por via subcutânea para o controle de dor pós-operatória e caso necessário esta dose poderia ser repetida após 24 horas seguindo as recomendações do guia ARRIVE.

Após a recuperação da anestesia, todos os animais foram alojados da mesma maneira em gaiolas e fornecido ração moída e água *ad libitum*.

3.3 Procedimento Cirúrgico

Os animais dos grupos experimentais G1 e G2 após a instalação do dispositivo ortodôntico receberam o procedimento cirúrgico.

No grupo G1, após a anestesia, tricotomia da região do músculo masseter e desinfecção da área com digluconato de clorexidina, foi realizada uma incisão contínua de aproximadamente 5 a 10 mm com lâmina de bisturi 15C na altura da comissura labial em direção ao ângulo da mandíbula e em seguida, o rebatimento do músculo masseter que expôs o osso cortical na vestibular e na altura das raízes do primeiro molar inferior. Com uma ponta em forma de lâmina (W1-0-CVDentus) em um aparelho piezocirúrgico (DentSurg CVDentus Sao José, SP, Brasil) (Figura 3) sob irrigação de soro fisiológico estéril, foi confeccionado uma corticotomia com 3

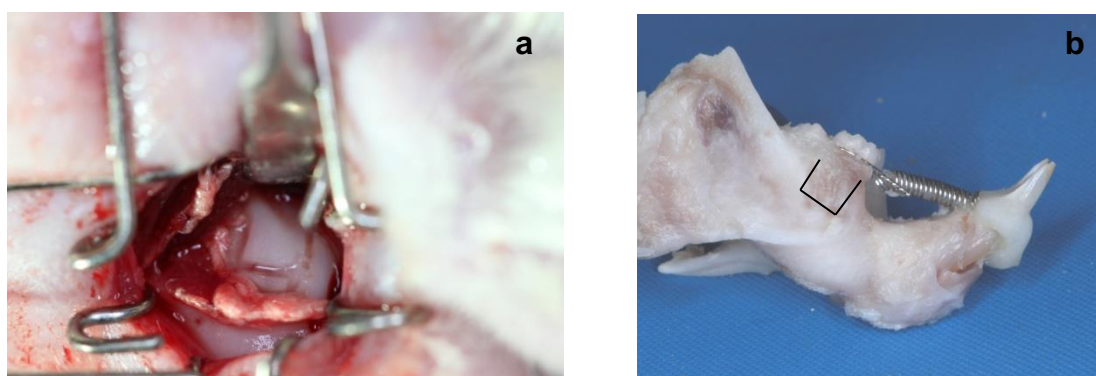
ranhuras, sendo duas verticais, uma mesial, outra distal e uma apical no tamanho do comprimento da ponta da lâmina, delimitando um formato em U na região apical do primeiro molar inferior (Figura 4).

Figura 3 - Aparelho Piezocirúrgico



Legenda: a) Aparelho Piezocirúrgico; b) ponta esférica e ponta em forma de lâmina.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 4 - Ranhuras nos osso cortical em forma de U

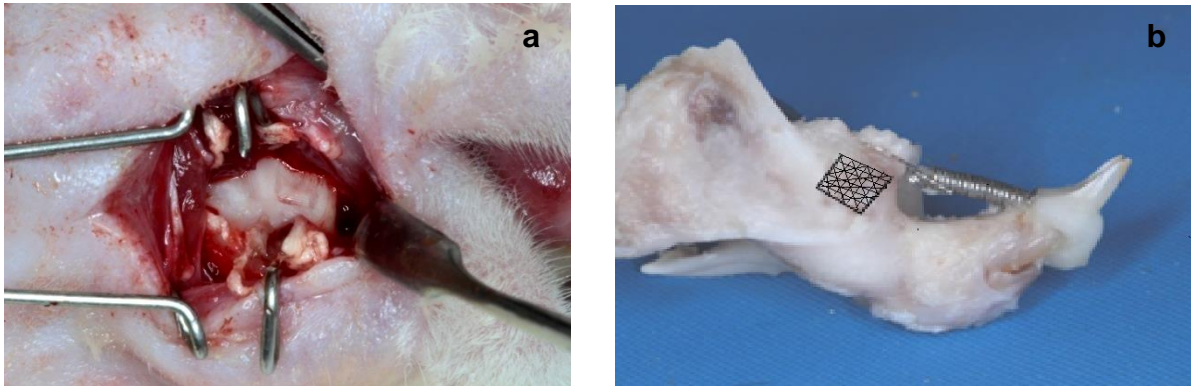


Legenda: a) corticotomia; b) desenho esquemático da corticotomia.
Fonte: Elaborada pelo autor.

No G2 os mesmos procedimentos anteriores foram realizados porém no centro do U a decorticalização foi realizada com uma ponta esférica (R4) (Figura 5).

O músculo foi reposicionado e suturado com fio de vicry 4-0, a pele suturada com fio de seda 3-0.

Figura 5 – Corticotomia e decorticalização G2



Legenda: a) corticotomia com decorticalização; b) desenho esquemático da corticotomia com decorticalização.

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.4 Eutanásia

Os animais foram eutanasiados aos 7 e 14 dias. Para a eutanásia dos animais, os mesmos foram anestesiados como descrito anteriormente e em seguida foi realizada a técnica de perfusão transcardíaca. Esta técnica consiste em expor o coração do animal, cortar o vértice e o átrio direito, introduzir uma cânula ligada a uma bomba que inicialmente bombeia solução salina (cloreto de sódio a 0,9%) com o objetivo de remover todo o sangue do animal e em seguida bombeia-se a solução fixadora constituída por paraformaldeído a 4% em tampão fosfato com pH 7,4.

Após a decapitação dos animais, as hemi-mandíbulas de cada espécime foram removidas. Os espécimes utilizados para análises de microtomografia computadorizada (Micro CT) foram armazenados em álcool 70% e os para análises histológicas foram armazenados em solução de paraformaldeído a 4%, tamponado, permanecendo nesta solução por 72 horas. Cada espécime foi catalogado.

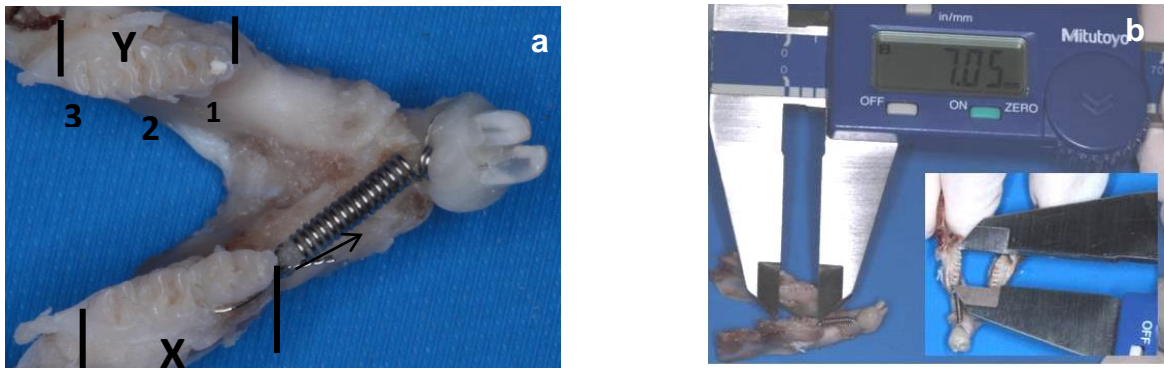
3.5 Análise dos espécimes

3.5.1 Medida macroscópica da área movimentada

Após 72 horas de fixação, foi realizada uma medida para quantificar a movimentação ortodôntica, que compreende a distância da região distal do terceiro molar a mesial do primeiro molar mandibular tanto do lado movimentado como no lado contralateral, utilizando-se um paquímetro digital (Mitutoyo, São Paulo, Brasil) (Figura 6).

Estas medidas foram realizadas aos 7 e 14 dias, logo após a eutanásia dos animais.

Figura 6 – Medidas Macroscópicas



Legenda: a) Ilustração da mandíbula dissecada após a eutanásia para a confecção das medidas. Mola helicoidal fechada usada para mover os molares mesialmente (seta). Distância entre a mesial do primeiro molar (1M) e distal do terceiro Molar (3M) do lado não movimentado(Y) e distância do lado movimentado(X); b) Procedimento de medição com o paquímetro digital.

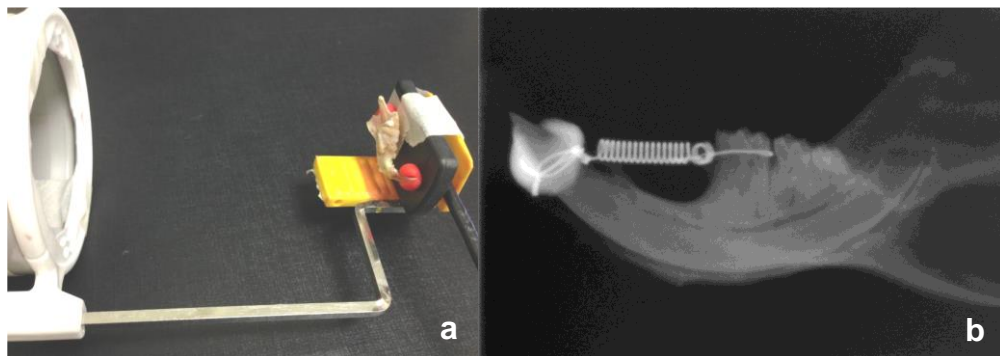
Fonte: Elaborada pelo autor.

3.5.2 Imagem Radiográfica

As imagens radiográficas foram obtidas por meio do sistema radiográfico digital Visualix Gendex, tecnologia(CCD)-Charge Coupled Device.

O sistema radiográfico digital foi conectado a um computador, onde as imagens foram gravadas utilizando o software Visualix 2000. O tempo de exposição obtido por um aparelho de raio X Gendex foi de 0,040 segundos operando em 65 KV/7 mA e a distância foco-objeto foi de 30 cm. A peça foi fixada nas extremidades com a massa de modelar, tendo o cuidado de não colocar na área dos molares, posicionada o mais paralelamente possível ao sensor e perpendicular ao feixe para que não houvesse sobreposição das cúspides para tla utilizou-se o posicionador tipo Rinn (Figura 7).

Figura 7 – Raio X da peça



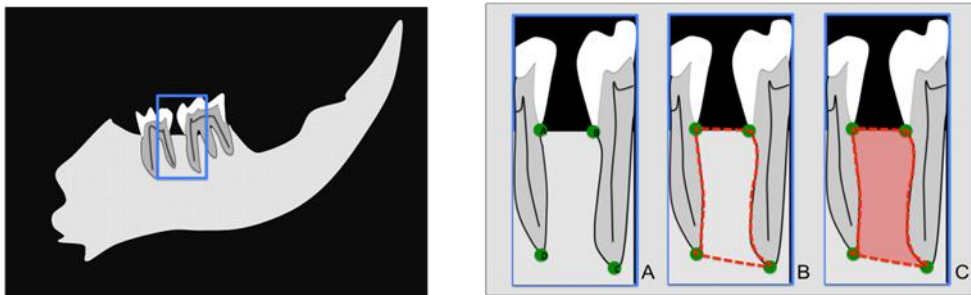
Legenda: a) peça posicionada no sensor digital; b) exemplo de imagem obtida.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Todas as imagens adquiridas foram exportadas no formato TIFF em 8 bits, escala de cinza, para um software para análise de imagem (ImageJ 1.31p) para obtenção dos valores referentes à área da região de interesse (RI) a ser estudada, correspondente ao espaço contido entre as raízes dos elementos dentários mesial e distal, limites da região de movimentação ortodôntica. Também foi realizada a

medida linear na mesial do primeiro molar, da junção amelo cementária ao topo da crista óssea.

Inicialmente, foi usada a ferramenta zoom, com a finalidade de que a (RI) fosse melhor visualizada. A delimitação desta (RI), foi realizada manualmente, com a ferramenta “Polygon”, que possibilitou a segmentação de uma região específica da imagem, e posteriormente se obteve a área delimitada (Figura 8).

Figura 8 - Desenhos esquemáticos evidenciando a delimitação da região de interesse (RI) para análise da área

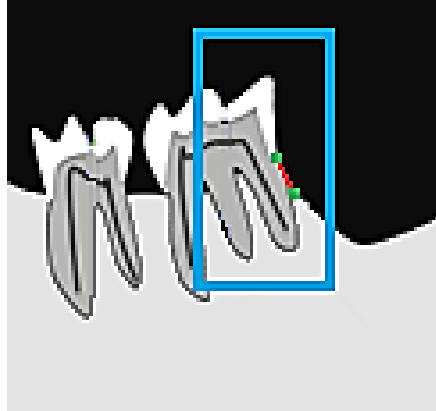


Legenda: a) Localização dos pontos; b) união dos mesmos e c) obtenção da área.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A medida linear da altura da crista óssea na mesial do primeiro molar foi realizada com a ferramenta *straight* (Figura 9).

Figura 9 - Desenho esquemático evidenciando a delimitação da região de interesse (RI)



Legenda: Medida linear na mesial do primeiro molar, da junção amelo cementária ao topo da crista óssea.

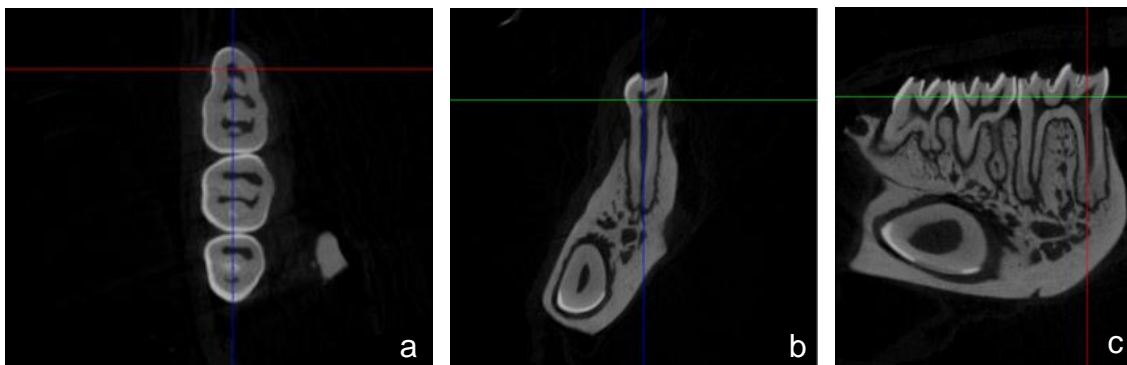
Fonte: Elaborada pelo autor.

3.5.3 Microtomografia computadorizada (Micro CT)

As hemi-mandíbulas do GC, G1 e G2, foram escaneadas em um microtomógrafo de alta resolução (Sky Scan1176 Bruker Micro CT Actselear Belgica) cortes de 9 μm de espessura (50 ky, 500 μm) da Faculdade de Odontologia de Araraquara UNESP. Para a reconstrução das peças usou-se o programa NRecon 1.6.1.5; e calculou-se individualmente os valores de compensação e desalinhamento.

O software Data Viewer (SkyScan,1.4.4) foi utilizado para adequação do padrão para todas as amostras nos 3 planos de espaço (Figura 10).

Figura 10 - Imagens de tomografia microcomputadorizada de alta resolução nos 3 planos de espaço



Legenda: a) plano axial; b) plano transversal; c) plano sagital.
Fonte: Elaborada pelo autor

Após a reconstrução com software, NRecon (SKYcan, 2011,1.6.6.0) foi selecionada a região de interesse (RI) e 50 cortes foram utilizados para delimitar a separação das raízes ao nível cervical dos molares em direção ao ápice das raízes do primeiro molar inferior (região de furca), excluindo-se o ligamento periodontal e as raízes dos dentes, realizando-se em cada peça a análise das propriedades do tecido ósseo (Figura 11,12, 13 e 14).

Figura 11 - Região de interesse (RI)



Legenda: Região de interesse (RI) selecionada excluindo-se o ligamento periodontal e as raízes dos dentes, realizando-se em cada peça a análise das propriedades do tecido ósseo.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 12 - Imagem do plano axial realizado em tomografia microcomputadorizada de alta resolução do lado direito (CO)



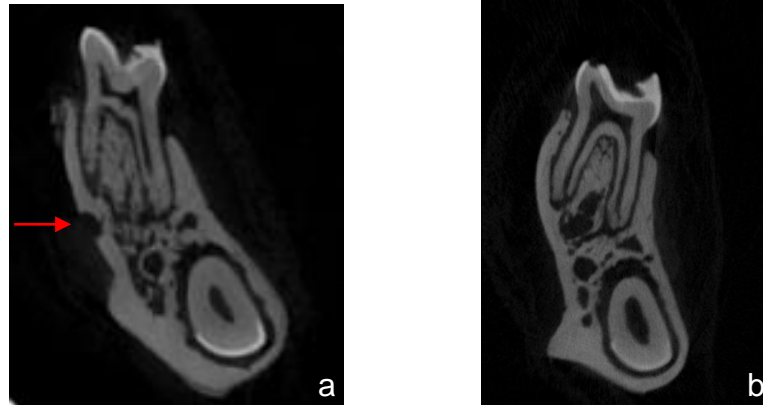
Legenda: Corticotomia (setas vermelhas) na região vestibular mandibular do osso cortical.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 13 - Imagem do plano axial realizado em tomografia microcomputadorizada de alta resolução do lado direito (CO + DE)



Legenda: Corticotomia e Decorticalização na (setas vermelhas) região vestibular mandibular do osso cortical.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 14 - Imagem do plano transversal realizado em tomografia microcomputadorizada de alta resolução



Legenda: a) representa lado direito da hemi-mandíbula com corticotomia (seta vermelha); b) lado esquerdo da hemi-mandíbula representa grupo sem procedimentos cirúrgicos e movimentação ortodôntica.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O software de análise morfométrica de RI CTAnalyzer - (SKYScan) delimitou a área de interesse, de acordo com escala de cinzas (25-90 tons) e foi utilizado para avaliar as alterações no volume do osso alveolar na área de bifurcação das raízes do primeiro molar inferior em cortes tomográficos, seguindo os parâmetros Nogueira et al. (2017):

TV: o volume total de tecido, medidos pelos contornos na área de interesse;

BV: o volume de tecido mineralizado;

BV/TV: fração de volume de osso: a proporção do volume de osso ao volume total;

BMD: a densidade mineral ossea.

3.5.4 Análise Histológica

Para os procedimentos laboratoriais de histologia as hemi-mandíbulas de cada espécime foram desmineralizadas em solução de ácido etilendiamino tertra - acético (EDTA, Dinâmica Química Contemporânea LTDA, SP, Brasil) 10%, pH 7,8 e incluídas em blocos de parafina, cortadas no sentido transversal possibilitando a

visualização das raízes e tecidos periodontais do primeiro molar inferior, onde foi instalado o dispositivo experimental. Os cortes transversais semi-seriados com 5 µm de espessura ao nível cervical dos molares após separação de todas as raízes (região de furca), produziram cinco cortes histológicos da coroa para o ápice (125 µm entre os cortes) e corados pelo método hematoxilina-eosina.

Para digitalização dos cortes histológicos as imagens foram capturadas por um microscópio óptico (Carl Zeiss, Gottingen, Alemanha), no qual estava acoplado uma câmera microscópica Axion Cam MRc5 em ampliação de 2,5x. As imagens capturadas foram arquivadas em formato JPEG.

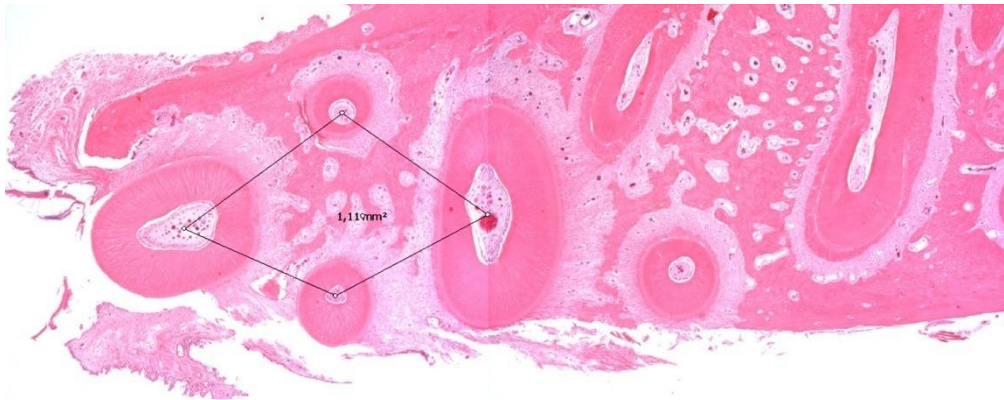
Os cortes histológicos transversais foram analisados observando principalmente a remodelação óssea e hialinização, bem como presença de reabsorção radicular .

3.5.5 Histomorfometria

As imagens capturadas foram arquivadas em formato JPEG e utilizou-se o sistema de análise de imagem (Carl Zeiss, AxioVision 4.8) para realização das análises histomorfométricas segundo método previamente descrito por Dibart et al., 2014. Para tanto demarcou-se uma área geométrica ligando as linhas a partir do centro das 4 raízes formando-se a área inter-radicular (Figura 15). Dentro desta figura geométrica, a presença do tecido ósseo foi marcada por meio da ferramenta (*outline*) usando-se a escala de medida em milímetros quadrados cujo resultados foram expressos em % de área de tecido ósseo (Figura 16).

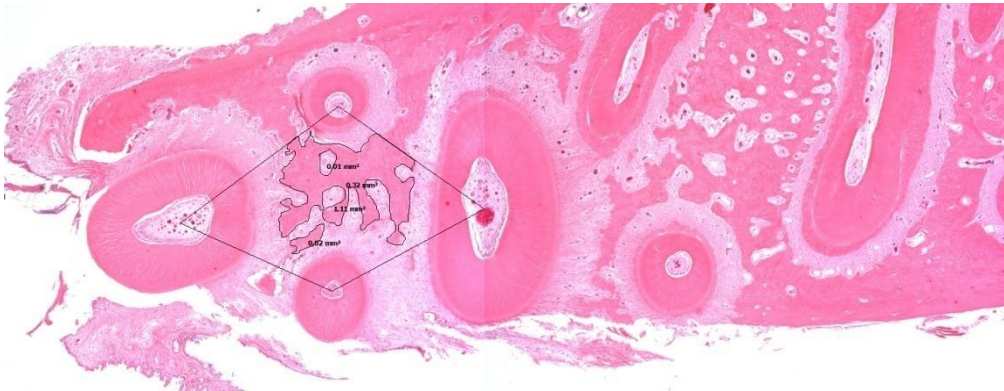
As análises microscópicas qualitativas e quantitativas foram avaliadas por um examinador cego calibrado.

Figura 15 - Corte transversal da área intra-radicular do primeiro molar da mandíbula



Legenda: Figura geométrica usada para capturar dados da área óssea total.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 16 - Corte transversal da área intra-radicular do primeiro molar da mandíbula



Legenda: Delimitação da quantidade de osso dentro da figura geométrica usada para capturar dados.
Fonte: Elaborada pelo autor.

3.5.6 Imunoistoquímica (RANK, RANKL, OPG e TRAP)

Para preparação da análise imunoistoquímica, foram realizados 5 cortes e blocos de parafina foram submetidos a cortes transversais seriados com 4 μ m de

espessura e estendidos em lâminas previamente tratadas pelo 3-aminopropiltriétoxissilano (Sigma Chemical CO. St. Louis, USA).

As amostras receberam processamento imunoistoquímico seguindo o protocolo descrito: Os cortes histológicos foram desparafinizados em xilol e hidratados em série decrescente de etanol (100° - 100° - 100° - 90° - 70° GL). A recuperação antigênica foi realizada através da imersão das lâminas histológicas em tampão citrato, pH 6,0 (EP-12- 20557 Easy Path), em câmara pressurizada (Decloakingchamber®, Biocare Medical, Concord, CA, EUA) com dois ciclos de temperatura, a 93°C, por 4 minutos e 70°C, por 25 segundos.

No final de cada etapa da reação imunoistoquímica, as lâminas histológicas foram lavadas em PBS-triton 0,1 M, pH 7,4. Posteriormente, as lâminas foram imersas em 3% de peróxido de hidrogênio por 30 minutos para bloqueio da peroxidase endógena e bloqueio dos sítios inespecíficos, respectivamente.

As lâminas contendo amostras de cada grupo foram divididas em quatro lotes, e cada lote foi incubado com um dos seguintes anticorpos primários: *anti-RANKL* - (1:100, Goat anti-RANKL, SC-7628, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, EUA), *anti-OPG* (1:200, Goat anti-OPG, SC-8468, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, EUA), *anti-RANK* (1:100, ab13918, abcam, USA) *anti-TRAP* (1:100, Goat anti-TRAP, SC-30833, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, EUA).

Os anticorpos primários foram colocados em solução diluente do anticorpo (Spring ADS-125) e as lâminas foram colocadas em uma câmara úmida durante 16–18 horas a 4°C de temperatura. Os cortes histológicos foram incubados com anticorpo secundário histofine (Easy Link one EP-12-20501) por 30 minutos.

Foi realizada a revelação utilizando-se como cromógeno o 3,3'-tetracloridrato de diaminobenzidina (DAB chromogen Kit®, Dako Laboratories, CA, USA) e a contracoloração com hematoxilina de Harris. Como controle negativo, os espécimes foram submetidos aos procedimentos descritos anteriormente suprimindo-se a utilização dos anticorpos primários.

As imunomarcações foram visualizadas em microscópio óptico com sistema de captura e de análise de imagem AxioVision. Um examinador treinado e cego aos tratamentos selecionou um corte histológico de cada um dos biomarcadores (RANK, RANKL, OPG e TRAP) de cada espécime

Para RANK, RANKL e OPG a análise semi-quantitativa da imunomarcaco foi efetuada na mesial da raiz vestibular do primeiro molar inferior direito do rato, região de pressão e adjacente a corticotomia e decorticalizaco com um aumento de 400x. Foi adotada uma modificaco dos critérios estabelecidos por Buduneli et al. (2007), onde o escore estabelecido são:

- Escore 0 – ausência de imunomarcaco (ausência total de células imunorreativas -IR);
- Escore 1- baixo padrão de imunomarcaco (1/4 das células-IR);
- Escore 2- moderado padrão de imunomarcaco (1/2 das células-IR);
- Escore 3- alto padrão de imunomarcaco (3/4 das células-IR).

Os escores de RANK, RANKL e OPG foram individualmente analisados em cada grupo experimental.

A imunomarcaco para TRAP foi definida como aquela de coloraco acastanhada presente no compartimento citosólico das células positivas. A imunomarcaco para TRAP foi realizada pela contagem de células TRAP-positivas localizadas na mesial da raiz vestibular do primeiro molar inferior direito do rato, região de pressão e adjacente a corticotomia e decorticalizaco com um aumento de 400x (Zeiss Axiovert 200 microscope), equipado com uma câmera de vídeo digital (Sony DFW-X700).

A atividade catabólica foi medida pelo registro do número de osteoclastos e pr osteoclastos corados com TRAP na região inter-radicular do primeiro molar inferior direito. Os osteoclastos e pr osteoclastos foram contados dentro de um centro geométrico das quatro raízes do primeiro molar (Dibart et al., 2014).

3.5.7 Estatística

Todas as análises foram efetuadas por pesquisador calibrado e experiente, sem conhecimento prévio dos grupos a serem avaliados. Os dados obtidos foram submetidos  análise estatística descritiva com o cálculo de mdias e desvio padrão

e estatística inferencial através dos programas SPSS V20, Minitab 16 e Excel Office 2010. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparação intragrupo nas medidas macroscópicas da movimentação, medida radiográfica da área interradicular e medida linear da crista óssea mesial. O teste de Kruskal-Wallis foram utilizados para as medidas intergrupos. Para as variáveis de MicroCT, Histomorfometria e Imunoistoquímica utilizou-se o teste de ANOVA Two-Way para análise inter e intragrupos e Tukey para análise post-hoc. O nível de significância definido para este trabalho foi de 5% e os intervalos de confiança estatística com 95%.

4 RESULTADOS

4.1 Medida macroscópica da movimentação ortodôntica

Os resultados estão apresentados na tabela 1. Foi observado que os 3 grupos apresentaram movimentação dos primeiros molares inferiores direitos estatisticamente significantes em relação aos molares contralaterais, as quais não receberam o aparelho ortodôntico ($p < 0,01$). Quando os grupos foram comparados entre si, verificou-se que somente existe diferença estatística entre os grupos na análise de 14 dias entre GC em comparação aos demais grupos G1 (7,52 mm) e G2 (7,36 mm) ($p = 0,009$ e $0,016$), no qual os animais do G1 e G2 apresentaram maior movimentação ortodôntica comparado com o GC .

Tabela 1 – Medida da Movimentação Ortodôntica nas mandíbulas direita e esquerda, mensuradas em milímetros com paquímetro digital

Período	Grupo Controle (GC)		Grupo 1 (G1)		Grupo 2 (G2)	
	MD	ME	MD	ME	MD	ME
7 Dias	6,98 ± 0,19Aa	6,78 ± 0,19Ba	7,12 ± 0,25Aa	6,96 ± 0,24Ba	7,18 ± 0,16Aa	6,93 ± 0,18Ba
14 Dias	7,21 ± 0,13Aa	6,77 ± 0,26Ba	7,52 ± 0,36Ab	6,98 ± 0,20Ba	7,36 ± 0,13Ab	6,93 ± 0,10Ba

Legenda: Letras maiúsculas distintas: diferença estatisticamente significativa na comparação intragrupo – Mann-Whitney. Letras minúsculas distintas: diferença estatisticamente significativa na comparação intergrupo – Kruskal-Wallis.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2 Medidas Radiográficas da Área Interradicular

Os resultados estão apresentados na tabela 2. Em sete dias não houve diferença estatisticamente significativa entre os três grupos. Porém existe diferença significativa entre GC e os demais grupos (p -valores $G1=0,041$ e $G2=0,004$) aos 14

dias, ou seja, GC apresentou uma menor área interradicular comparado aos animais dos demais grupos.

4.3 Medida linear da crista óssea mesial

Os resultados estão apresentados na tabela 2. Foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos aos 7 e 14 dias. Notamos que em 7 dias os animais do G1 e G2 ($p=0,003$), apresentaram uma menor medida linear com diferença estatística significativa comparado com GC. Em 14 dias a diferença é verificada apenas entre GC e G2 ($p\text{-valor} = 0,004$), no qual os animais do G2 apresentaram uma menor medida linear.

Tabela 2- Medidas radiográficas da área interradicular mensuradas em mm^2 e medida linear em milímetros

Período	Grupo Controle (GC)		Grupo 1 (G1)		Grupo 2 (G2)	
	Área	M.linear	Área	M.linear	Área	M.linear
7 dias	$0,94 \pm 0,21Aa$	$0,57 \pm 0,22Aa$	$1,05 \pm 0,27Aa$	$0,36 \pm 0,16Ab$	$1,08 \pm 0,27Aa$	$0,29 \pm 0,10Ab$
14 dias	$0,87 \pm 0,12Aa$	$0,50 \pm 0,17Aa$	$1,00 \pm 0,12Ab$	$0,46 \pm 0,28Aab$	$1,11 \pm 0,14Ab$	$0,30 \pm 0,09Ab$

Legenda: Letras maiúsculas distintas: diferença estatisticamente significativa na comparação intragrupo – Mann-Whitney. Letras minúsculas distintas: diferença estatisticamente significativa na comparação intergrupo – Kruskal-Wallis.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.4 Microtomografia computadorizada (Micro CT)

Os resultados estão apresentados na tabela 3. Na variável de fração de volume ósseo (BV/TV), não foram observadas diferenças significantes entre os

tempos 7 e 14 dias em nenhum dos grupos. Porém, quando a comparação intergrupo foi realizada, aos 7 dias o GC foi diferente do G2, onde os animais do GC apresentaram maior volume ósseo/volume total comparado com G2 e o G1 não foi significativamente diferente de nenhum dos grupos (GC e G2). Aos 14 dias, os animais do GC apresentaram um maior volume ósseo/volume total com G1 e G2.

Em relação à densidade mineral média (BMD), não foram observadas diferenças inter e intragrupo.

Tabela 3 - Medidas da fração mineral óssea e densidade mineral óssea no Micro CT

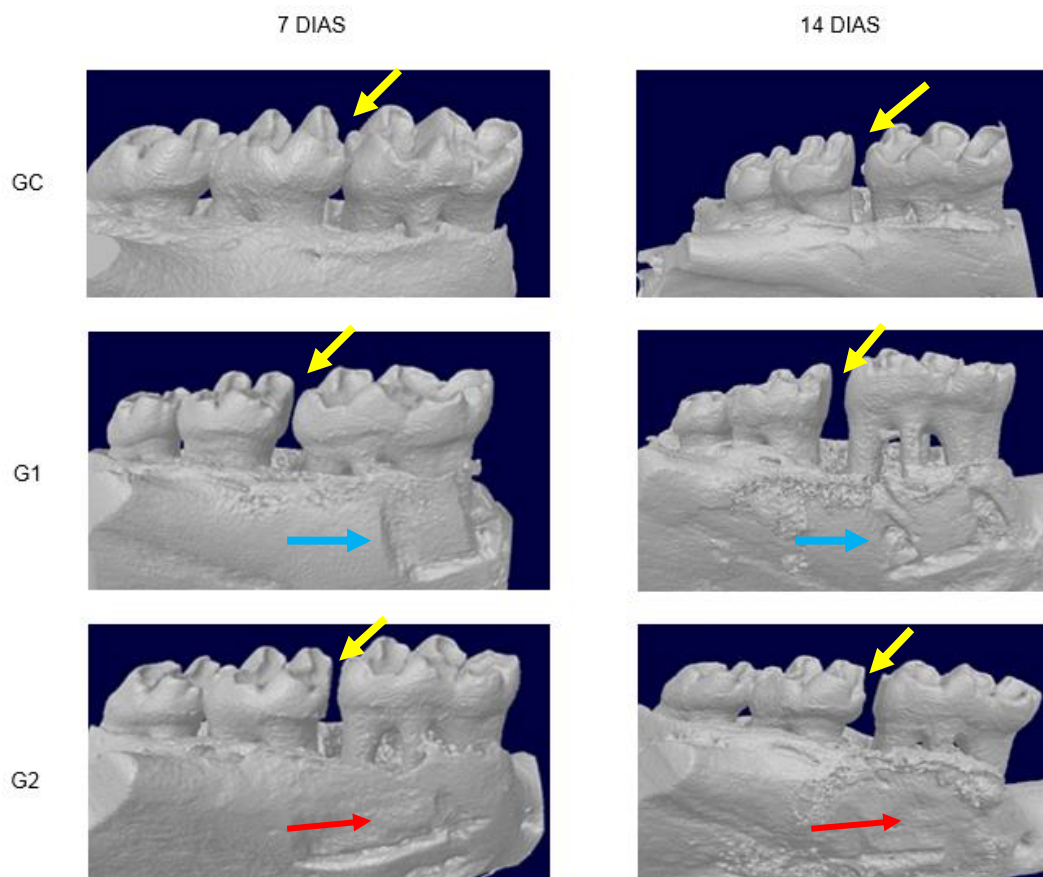
		7dias		14 dias	
	Grupos	M±DV	Me	M±DV	Me
BV/TV	GC	0,73±0,03Aa	0,72	0,87±0,04Aa	0,88
	G1	0,77±0,01Aab	0,77	0,77±0,11Ab	0,78
	G2	0,64±0,11Ab	0,63	0,73±0,03Ab	0,75
BMD	GC	0,82±0,04Aa	0,81	0,95±0,07Aa	0,97
	G1	0,90±0,01Aa	0,90	0,92±0,10Aa	0,94
	G2	0,80±0,11Aa	0,81	0,87±0,04Aa	0,88

Legenda: M, média; DV, desvio padrão; Me, mediana; BV/TV volume ósseo/volume total; BMD, densidade mineral óssea. Letras maiúsculas distintas: diferença estatisticamente significativa na comparação intragrupo – Anova Two way. Letras minúsculas distintas: diferença estatisticamente significativa na comparação intergrupo – Anova Two way.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para determinar como a corticotomia e decorticalização alveolar afetam o osso durante o movimento dentário, examinamos a estrutura óssea global e conteúdo mineral por Micro CT. Imagens representativas do primeiro molar e região de interesse (RI) foram obtidas nos grupos GC, G1 e G2 no período de 7 e 14 dias e mostradas na Figura 17.

Figura 17 – Imagens do plano transversal realizado em tomografia micro computadorizada de alta resolução



Legenda: As reconstruções tridimensionais representam os dentes da mandíbula direita, região onde foi realizado a corticotomia (G1 - seta azul) e corticotomia e decorticalização (G2 – seta vermelha). As setas amarelas indicam o espaço criado entre os primeiros e os segundos molares na região vestibular do plano transversal.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5 Análise Histológica

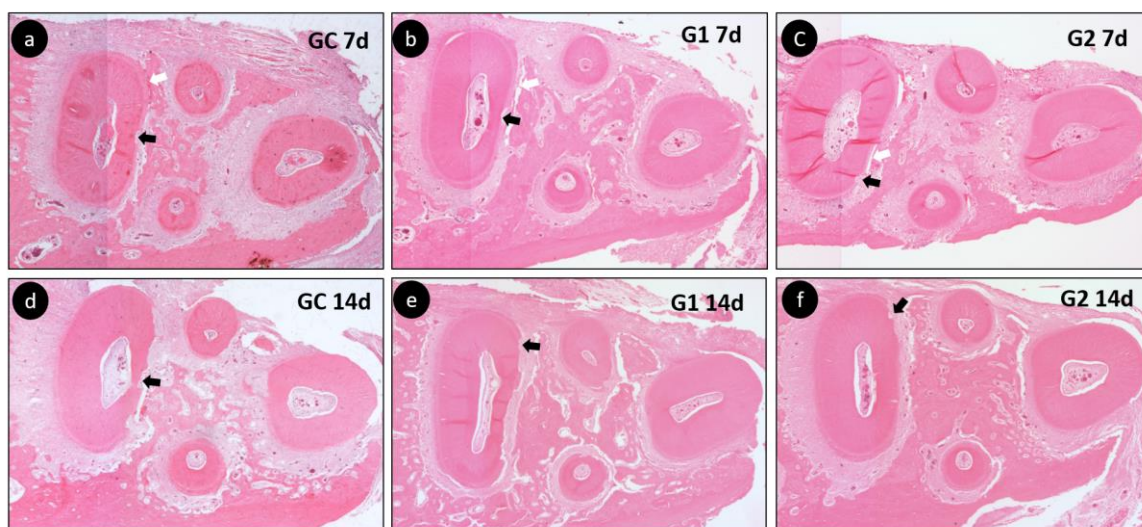
Os cortes microscópicos revelaram que no 7º dia de aplicação de força, o grupo G1 submetido a movimentação dentária com o procedimento de corticotomia, apresentou ao redor das raiz vestibular (RV) de menor calibre, do primeiro molar inferior movimentado, grande desorganização da inserção de fibras do ligamento periodontal no cemento radicular e osso alveolar no lado de pressão, com

frequentes áreas de hialinização, representadas pela total ausência de células no tecido ligamentar e a presença de infiltrado inflamatório adjacente. Pôde-se notar ainda, frequente reabsorção radicular inicial geralmente associada às áreas de hialinização.

Aos 14^o dia de aplicação de força nota-se menor desorganização do ligamento periodontal com menor presença do infiltrado inflamatório e com menor ocorrência de áreas hialinas. Porém, nas raízes vestibulares (RV) e distais (RD) houve uma consolidação de reabsorções radiculares, revelando-se mais profundas e mais amplas.

Nos grupos que sofreram corticotomia juntamente com a aplicação de força (G1 e G2) notou-se menor desorganização do ligamento periodontal com infiltrado inflamatório menos intenso e menor ocorrência de hialinização ligamentar em todas as raízes. O padrão de reabsorção radicular iniciado no 7^o dia de movimento e consolidado no 14^o dia de aplicação de força foi visto com maior frequência nas raízes de maior calibre, principalmente na distal (RD), ocorrência esta vista com maior diâmetro e maior profundidade no 14^o dia de aplicação de força, em ambos os grupos G1 e G2. Pode-se notar ainda maior atividade osteoclástica no osso alveolar ao redor das raízes dos dentes movimentados nestes grupos (Figura 18).

Figura 18 - Fotomicrografia evidenciando o periodonto dos primeiros molares inferiores



Legenda: GC 7d (a), G1 7d (b), G2 7d (c), GC 14d (d), G1 14d (e) e G2 14d (f). Aumento original: 200x. Coloração: Hematoxilina e Eosina. Setas brancas indicam áreas de hialinização e setas pretas indicam reabsorção dentária.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4 - Quantificação em porcentagem da reabsorção radicular e frequência de áreas hialinas do ligamento periodontal em cada raiz mesial (RM), distal (RD), que são de maior calibre e nas raízes menores vestibular (RV) e lingual (RL)

Período	Grupo Controle (GC)		Grupo 1 (G1)		Grupo 2 (G2)	
	Reabsorção(%)	Área hialina(%)	Reabsorção(%)	Área hialina(%)	Reabsorção(%)	Área hialina(%)
7 Dias	27,50± 18,44	27,50 ± 27,51	32,5 ± 23,71	40,0 ± 22,50	27,5 ± 29,93	24,15 ± 18,44
14 Dias	47,50 ± 24,86	20,0 ± 19,72	52,50 ± 29,93	5,0 ± 15,81	47,50 ± 21,88	10,0 ± 17,48

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.6 Histomorfometria

Na análise da Área Final, o GC apresentou aos 14 dias uma maior área final comparado aos 7 dias com uma diferença significativa ($p=0,001$). Os outros grupos não apresentaram tal comportamento. Quando a análise intergrupo foi realizada, aos 7 dias não foram observadas diferenças significativas. Porém, aos 14 dias, o GC apresentou valor significativamente maior do que os grupos G1 ($p=0,003$) e G2 ($p=0,001$) (Tabela 5).

Para a % de Osso, na análise intragrupo não mostrou diferença entre os tempos em nenhum dos grupos. Já na análise intergrupo, aos 14 dias, o grupo GC apresentou porcentagens significativamente maiores que G1 ($p=0,004$) e G2 ($p=0,002$) (Tabela 5).

Tabela 5 - Medidas histomorfométricas da área geométrica demarcada em mm²

	Grupos	7 dias		14 dias	
		M±DV	Me	M±DV	Me
Área Final (mm ²)	GC	0,35±0,19 Aa	0,38	0,54±0,15 Ba	0,60
	G1	0,35±0,16 Aa	0,35	0,41±0,17 Ab	0,38
	G2	0,36±0,15 Aa	0,38	0,40±0,17 Ab	0,43
% de Osso	GC	38,3%±17% Aa	42%	49%±11% Aa	52%
	G1	33,9%±13% Aa	35%	39%±12% Ab	37%
	G2	35,2%±13% Aa	37%	38%±15% Ab	43%

Legenda: M, média; DV, desvio padrão; Me, mediana.

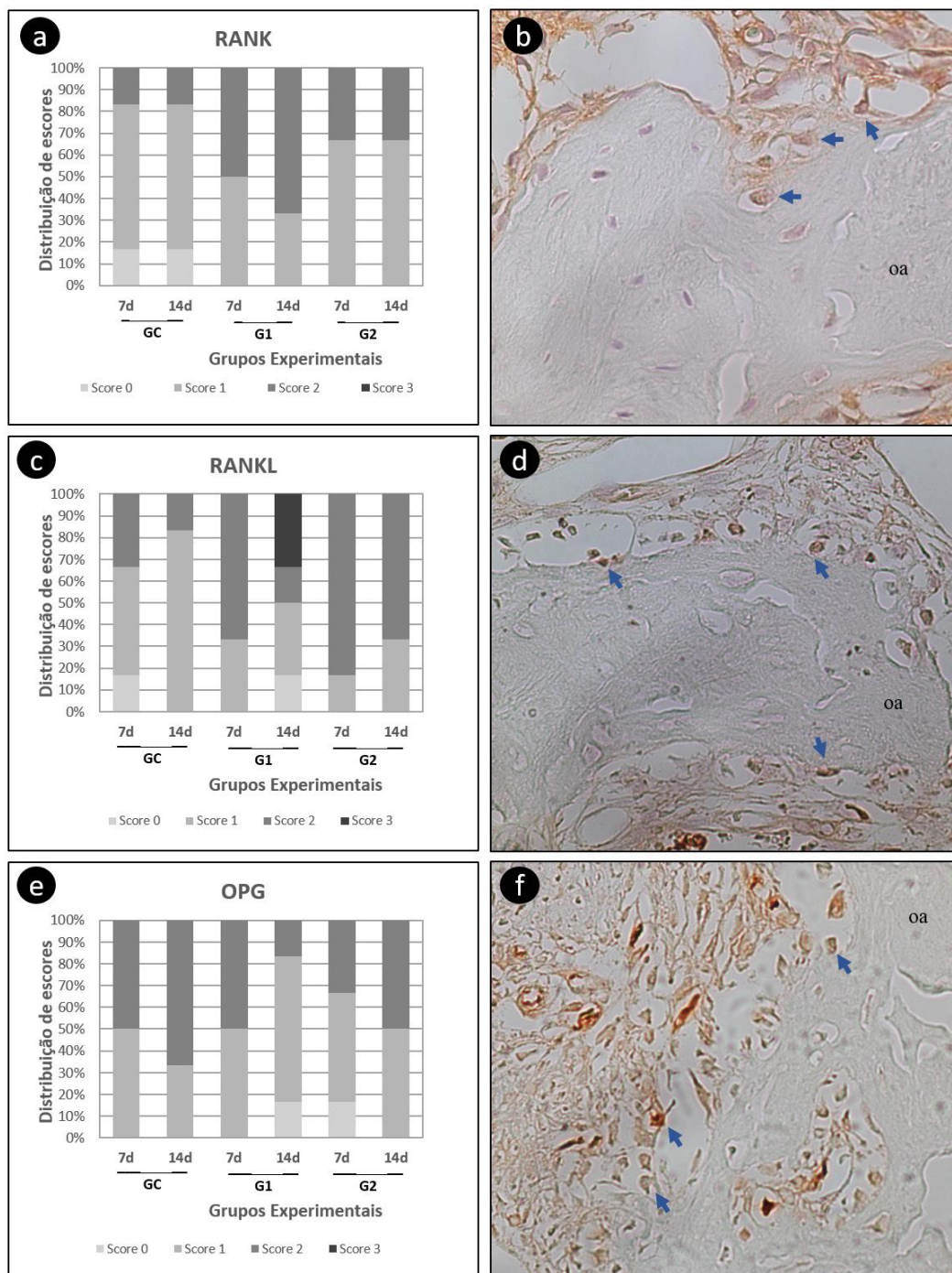
Letras maiúsculas distintas: diferença estatisticamente significativa na comparação intragrupo – Anova Two way. Letras minúsculas distintas: diferença estatisticamente significativa na comparação intergrupo – Anova Two way.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.7 Imunoistoquímica (RANK, RANKL, OPG e TRAP)

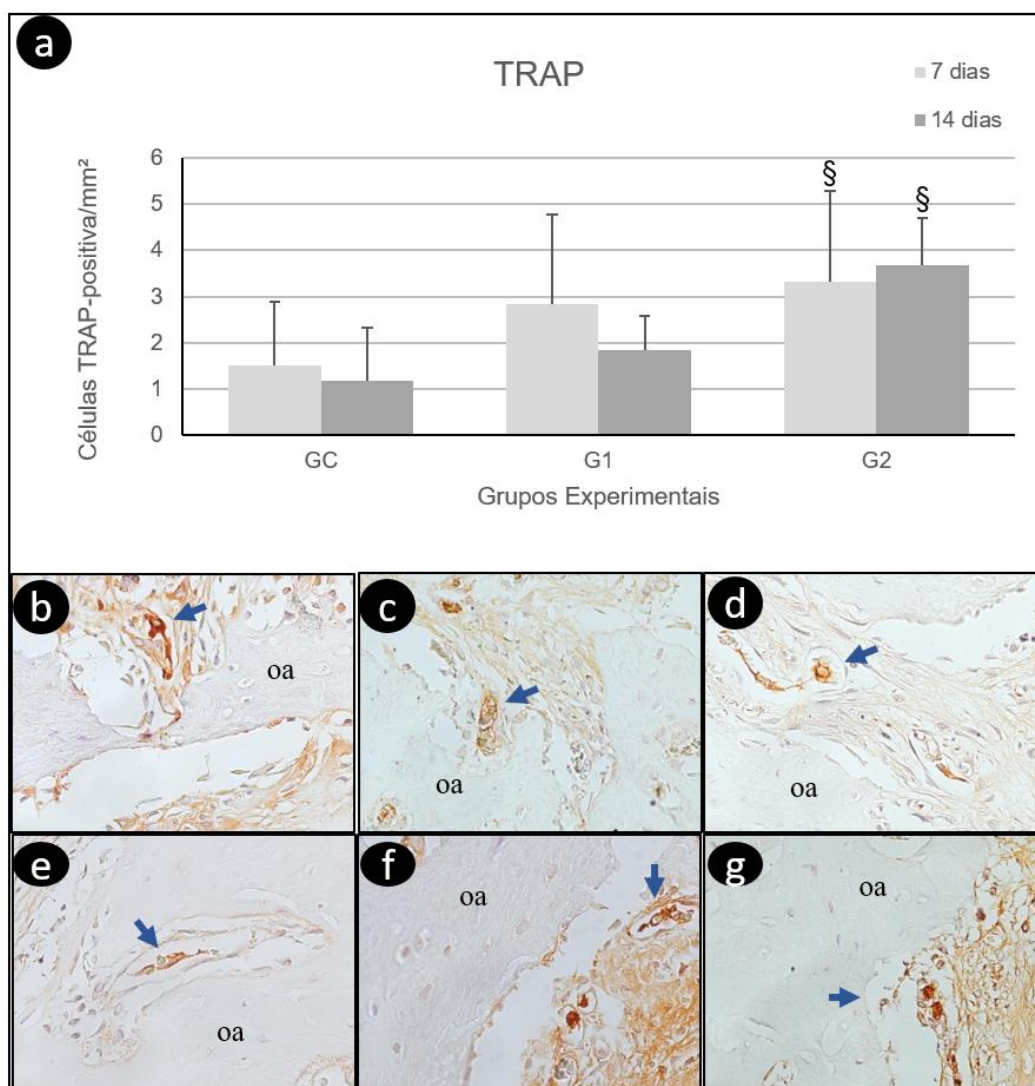
Nas análises dos biomarcadores imunoistoquímicos, os valores de RANK, RANKL e OPG não apresentaram diferenças estatisticamente significantes nas análises intra e intergrupos (Figura 19). Na análise do TRAP, foi observado que o grupo G2 apresentou maior número de células TRAP positivas aos 7 dias ($p=0,04$) quanto aos 14 dias ($p=0,04$) em relação aos grupos GC e G1 (Figura 20).

Figura 19 – Imunomarcção para RANK, RANKL e OPG na região dos primeiros molares inferiores



Legenda: Gráfico mostrando a distribuição dos escores (em porcentagem) referente ao padrão de imunomarcção para RANK (a) RANKL (c) e OPG (e). (c-f) fotomicrografia evidenciando o padrão de imunomarcção para RANK (b), fotomicrografias evidenciando o padrão de imunomarcção para RANKL (d) e fotomicrografias evidenciando o padrão de imunomarcção para OPG (f). Abreviações e símbolos: ao, osso alveolar. Aumento original: 400x. Contra-coloração: Hematoxilina de Harris. Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 20 – Imunomarcaco para TRAP na região dos primeiros molares inferiores



Legenda: (a) Gráfico mostrando a média e desvio-padrão da quantidade de células TRAP-positivas por mm² nos diferentes grupos experimentais e períodos. (b-g) Fotomicrografias evidenciando o padrão de imunomarcaco para TRAP (setas azuis) nos grupos GC 7D (b), GC 14D (c), G1 7D (d), G1 14D (e), G2 7D (f), G2 14D (g). Abreviaes e símbolos: oa, osso alveolar; §, diferença estatisticamente significativa em relao ao grupo GC e G1 no mesmo período. Aumento original: 400x. Contra-colorao: Hematoxilina de Harris.

Fonte: Elaborada pelo autor.

5 DISCUSSÃO

A busca pelo aumento na eficiência dos tratamentos ortodônticos é uma constante na Ortodontia atual (Oliveira et al., 2010). A realização de corticotomias alveolares durante a aplicação de forças ortodônticas vem sendo sugerida como uma forma de potencializar movimentação dentária e, viabilizando tratamentos mais complexos e diminuindo o tempo terapêutico.

A movimentação ortodôntica convencional é um processo biológico caracterizado pela reação sequencial do tecido periodontal e do osso alveolar adjacente às forças mecânicas geradas pelos aparelhos ortodônticos (Krishnan, Davidovitch, 2006). As características de *turnover* do ligamento periodontal e os níveis de metabolismo ósseo exercem papéis importantes na determinação do tipo e quantidade da movimentação dentária obtida (Baloul et al., 2011).

Como possibilidade de acelerar a movimentação ortodôntica para diminuir o tempo total da terapia alguns estudos sugerem a aplicação da corticotomia (Dibart et al., 2009, 2010; Brugnami et al., 2013). Portanto, hipotetizamos que o movimento ortodôntico associado a um procedimento cirúrgico de corticotomia poderia aumentar a quantidade do movimento dentário. Adicionalmente, comparou-se dois protocolos cirúrgicos, um com corticotomia e outro com corticotomia e decorticalização em modelo experimental.

A escolha do rato como modelo experimental baseou-se no fato de se tratar de um modelo já consagrado em função do baixo custo, facilidade de armazenamento e boa disponibilidade (Heller, Nanda, 1979), e facilidade da logística. Para testar esta hipótese, o presente estudo avaliou o processo de remodelação óssea em nível tomográfico, histológico e imunoistoquímico.

Na análise do movimento dentário nos diferentes períodos estudados associados ou não aos procedimentos cirúrgicos, quando se comparou o lado que recebeu o aparato ortodôntico com o contralateral houve diferença estatisticamente significantes ($p < 0,01$) confirmando a validade deste modelo experimental consagrado na literatura para movimentação dentária induzida (Librizzi et al., 2017; Lazzari et al., 2017). Quando os grupos foram comparados entre si, verificou-se que somente existe diferença estatística entre os grupos na análise de 14 dias entre GC

em comparação aos demais grupos, onde G1 e G2 apresentaram uma maior movimentação ortodôntica comparado com GC.

Nas análises radiográficas e tomográficas os grupos G1 e G2 aos 14 dias de aplicação de força apresentaram maior movimentação ortodôntica. A análise radiográfica mostrou evidente movimento dos molares, com maior deslocamento e inclinação dos dentes que sofreram corticotomia. Este deslocamento foi maior nos grupos experimentais pois na análise tomográfica o osso na região movimentada apresentou menor proporção mineral nos grupos que sofreram corticotomia, principalmente no 14º dia.

Em relação a fração mineral óssea (BV/TV) foi observado apenas uma diferença intergrupo, aos 7 dias onde o GC apresentou maior volume ósseo/volume total em relação ao G2. Na densidade óssea (BMD) não foi observado diferença estatística significativa, porém as mudanças ocorridas podem sugerir um aumento dos espaços medulares, afluxo de células inflamatórias e aumento da vascularização na região (Baloul et al., 2011).

As análises histológicas confirmam os resultados demonstrados nas imagens da tomografia computadorizada com menor área de osso interradicular nos animais que sofreram corticotomia

O procedimento cirúrgico de piezoincisão com o movimento ortodôntico estimulam a remodelação óssea alveolar formando a base do movimento dentário rápido produzindo uma osteopenia transitória induzida pela cirurgia, o que pode ser evidenciado histologicamente a desmineralização em comparação ao tratamento ortodôntico convencional (Dibart et al., 2014). Os resultados histomorfométricos do presente estudo corroboram com o estudo anterior, onde se demonstrou uma maior reabsorção e hialinização nos animais do G1.

Estes processos morfológicos podem ser entendidos na investigação dos biomarcadores de remodelação e maturação óssea.

Forças ortodônticas promovem respostas celulares de hialinização no ligamento periodontal, que induzem reabsorção óssea no lado da pressão e deposição óssea no lado da tração (Zaniboni et al., 2017). Esse processo envolve a indução de osteoclastos através da via RANK-RANKL e de várias citocinas inflamatórias (Garlet et al., 2007). A estimulação do ligamento periodontal também aumenta a velocidade da remodelação óssea e diversos métodos e técnicas são

utilizados para esse propósito (Spadari et al., 2017). A ligação RANKL/OPG modula favoravelmente a osteoclastogênese e é considerado um importante fator no controle da reabsorção óssea (Boyce, Xing, 2007).

Na análise imunoistoquímica avaliando os biomarcadores RANK/RANKL/OPG ficou evidente a expressão maior de RANKL e seu balanço com OPG nos animais que sofreram corticotomia evidenciando a maior maturação dos osteoclastos e favorecendo a remodelação óssea nestes animais, que pode ser confirmado no maior número de células-TRAP positivas principalmente nos animais do Grupo 2.

Este estudo mostrou que apesar da técnica mais invasiva (G2) apresentar maior número de osteoclastos na região do dente movimentado a expressão de RANKL/OPG em ambos os grupos experimentais aponta para um equilíbrio na modulação da diferenciação óssea em ambos os grupos corticotomizados, permitindo inferir que a técnica menos invasiva promoveu resultados clínicos semelhantes no seu efeito biológico e no deslocamento clínico do dente.

Desta forma, efeitos adversos da hialinização do ligamento periodontal e consequente presença de reabsorções dentárias podem ser minimizados mesmo com procedimentos mais conservadores de corticotomia, aumentando, da mesma forma, a eficiência no deslocamento dentário.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados deste estudo, concluímos que os procedimentos de corticotomização aceleram a movimentação ortodôntica em 14 dias, independente da magnitude da injúria cirúrgica. Sendo a técnica cirúrgica menos invasiva efetiva na movimentação ortodôntica em ratos.

REFERÊNCIAS*

Alexander SA. Effects of orthodontic attachments on the gingival health of permanent second molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1991 Oct; 100 (4):337-40. doi: 10.1016/0889-5406(91)70071-4.

Alves JB, Ferreira CL, Martins AF, Silva GA, Alves GD, Paulino TP, et. al. Local delivery of EGF-liposome mediated bone modeling in orthodontic tooth movement by increasing RANKL expression. *Life Sci.* 2009 Nov 4;85(19-20):693-9. doi: 10.1016/j.lfs.2009.09.010. Epub 2009 Sep 29.

Baloul SS, Gerstenfeld LC, Morgan EF, Carvalho RS, Van Dyke TE, Kantarci A. Mechanism of action and morphologic changes in the alveolar bone in response to selective alveolar decortication–facilitated tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011 Apr; 139(4 Suppl):S83-101. doi: 10.1016/j.ajodo.2010.09.026.

Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther.* 2007;9 (Suppl 1):S1. doi.org/10.1186/ar2165.

Brugnami F, Caiazzo A, Dibart S. Lingual orthodontics: accelerated realignment of the “social six” with Piezocision™. *Compend Contin Educ.* 2013 Sep;34:608–10.

Buduneli E, Vardar-Sengül S, Buduneli N, Atilla G, Wahlgren J, Sorsa T. Matrix metalloproteinases, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1, and laminin-5 gamma2 chain immune localization in gingival tissue of endotoxin-induced periodontitis in rats: effects of low-dose doxycycline and alendronate. *J Periodontol.* 2007 Jan;78(1):127-34.

Dibart S, Sebaoun JD, Surmenian J. Piezocision: a minimally invasive, periodontally accelerated orthodontic tooth movement procedure. *Compend Contin Educ Dent.* 2009;30(6):342-4, 346, 348-50.

Dibart S, Surmenian J, Sebaoun JD, Montesani L. Rapid treatment of Class II malocclusion with piezocision: two case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2010;30(5):487–93.

Dibart S, Yee C, Surmenian J, Sebaoun JD, Baloul S, Goguet-Surmenian E, et al. Tissue response during Piezocision-assisted tooth movement: a histological study in rats. *Eur J Orthod.* 2014 Aug;36(4):457-64. doi: 10.1093/ejo/cjt079.

Ferreira CL, Rocha VC, Ursi W, De Marco AC, Santamaria M, Santamaria MP, et. al. Periodontal response to orthodontic tooth movement in diabetes-induced rats with or without periodontal disease. *J Periodontol.* Send to *J Periodontol.* 2018 Mar;89(3):341-50. doi: 10.1002/JPER.17-0190. Epub 2018 Feb 27.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jun 2017]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Franzen TJ, Monjo M, Rubert M, Vandevska-Radunovic V. Expression of bone markers and micro-CT analysis of alveolar bone during orthodontic relapse. *Orthod Craniofac Res.* 2014 Nov;17(4):249-58. doi: 10.1111/ocr.12050.

Frost HM. The regional acceleratory phenomenon: a review. *Henry Ford Hosp Med J.* 1983;31(1):3-9.

Garlet TP, Coelho U, Silva JS, Garlet GP. Cytokine expression pattern in compression and tension sides of the periodontal ligament during orthodontic tooth movement in humans. *Eur J Oral Sci.* 2007 Oct;115(5):355-62. PubMed PMID: 17850423.

Geiger AM. Mucogingival problems and the movement of mandibular incisors: A clinical review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1980 Nov;78(5):511-27. doi: doi.org/10.1016/0002-9416 (80)90302-4.

Grunheid T, Morbach BA, Zentner A. Pulpal cellular reactions to experimental tooth movement in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007 Sep;104(3):434-41.

Hassan AH, Al-Fraidi AA, Al-Saeed SH. Corticotomy-Assisted Orthodontic Treatment: Review. *Open Dent J.* 2010;4:159-64. doi: 10.2174/1874210601004010159

Heller IJ, Nanda R. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontic tooth movement. An experimental study. *Am J Orthod.* 1979;75(3):239-58.

Iseri H, Kishnisci R, Bzizi N, Tuz H. Rapid canine retraction and orthodontic treatment with dentoalveolar distraction osteogenesis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2005 May;127(5):533-41; quiz 625.

Kim SJ, Park YG, Kang SG. Effects of corticision on paradental remodeling in orthodontic tooth movement. *Angle Orthod.* 2009;79:284-91.

Köle H. Surgical operations on the alveolar ridge to correct occlusal abnormalities. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1959 May;12(5):515-29.

Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reaction to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006 Apr;129(4):469.e1-32.

Lazzari AP, Johann AC, Papalexiou V, Tanaka OM, Guariza-Filho O, Ignácio SA, et al. Tissue responses resulting from tooth movement surgically assisted by corticotomy and corticision in rats. *Angle Orthod.* 2017 Jan;87(1):118-24.

Lee W. Experimental study of the effect of prostaglandin administration on tooth movement with particular emphasis on the relationship to the method of PGEI administration. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1990;98:231-41.

Lee W, Karapetyan G, Moats R, Yamashita DD, Moon HB, Ferguson DJ, et. al. Corticotomy-/osteotomy-assisted tooth movement microCTs differ. *J Dent Res*. 2008 Sep;87(9):861-7. PubMed PMID: 18719214.

Librizzi Z, Kalajzic Z, Camacho D, Yadav S, Nanda R, Uribe F. Comparison of the effects of three surgical techniques on the rate of orthodontic tooth movement in a rat model. *Angle Orthod*. 2017 Sep;87(5):717-24.

Lino S, Sakoda S, Miyawaki S. An adult bimaxillary protrusion treated with corticotomy-facilitated orthodontics and titanium miniplates. *Angle Orthod*. 2006 Nov;76(6):1074-82.

Merrill RG, Pedersen GW. Interdental osteotomy for immediate repositioning of dental-osseous elements. *J Oral Surg*. 1976 Feb;34(2):118-25.

Miyoshi K, Igarashi K, Saeki S, Shinoda H, Mitani H. Tooth movement and changes in periodontal tissue in response to orthodontic force in rats vary depending on the time of day the force is applied. *Eur J Orthod*. 2001 Aug;23(4):329-38. PubMed PMID: 11544782.

Mostafa YA, Mohamed Salah Fayed M, Mehanni S, ElBokle NN, Heider AM. Comparison of corticotomy-facilitated vs standard tooth-movement techniques in dogs with miniscrews as anchorage units. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2009 Oct; 136(4):570-7. doi: 10.1016/j.ajodo.2007.10.052.

Murphy KG, Wilcko MT, Wilcko WM, Ferguson DJ. Periodontal accelerated osteogenic orthodontics: a description of the surgical technique. *J Oral Maxillo fac Surg*. 2009 Oct;67(10):2160-6. doi: 10.1016/j.joms.2009.04.124.

Murphy CA, Chandhoke T, Kalajzic Z, Flynn R, Utreja A, Wadhwa S, et al. Effect of corticision and different force magnitudes on orthodontic tooth movement in a rat model. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2014 Jul;146(1):55-66. doi: 10.1016/j.ajodo.2014.03.024.

Nogueira AV, de Molon RS, Nokhbehsaim M, Deschner J, Cirelli JA. Contribution of biomechanical forces to inflammation-induced bone resorption. *J Clin Periodontol*. 2017 Jan;44(1):31-41. doi: 10.1111/jcpe.12636.

Oliveira DD, Oliveira BF, Soares RV. Corticotomias alveolares na Ortodontia: indicações e efeitos na movimentação dentária. *Dental Press J Orthod*. 2010 July-Aug;15(4):144-57.

Richter AE, Arruda AO, Peters MC, Sohn W. Incidence of caries lesions among patients treated with comprehensive orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011 May;139(5):657-64. doi: 10.1016/j.ajodo.2009.06.037.

Sebaoun JD, Kantarci A, Turner JW, Carvalho RS, Van Dyke TE, Ferguson DJ. Modeling of trabecular bone and lamina dura following selective alveolar

decortication in rats. *J Periodontol.* 2008 Sep; 79(9):1679-88. doi: 10.1902/jop.2008.080024 .

Spadari GS, Zaniboni E, Vedovello SAS, Santamaria MP, Amaral MEC, Santos GMT, et al. Electrical stimulation enhances tissue reorganization during orthodontic tooth movement in rats. *Clin Oral Invest.* 2017;21:111–20. doi: 10.1007/s00784-016-1759-6.

Sukurica Y, Karaman A, Gurel HB, Dolanmaz D. Rapid canine distalization through segmental alveolar distraction osteogenesis. *Angle Orthod.* 2007 Mar;77(2):226-36.

Wang L, Lee W, Lei DL, Liu YP, Yamashita DD, Yen SL. Tissue responses in corticotomy- and osteotomy-assisted tooth movements in rats: histology and immunostaining. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009 Dec;136(6):770.e1-11; discussion 770-1. doi: 10.1016/j.ajodo.2009.05.015. PubMed PMID: 19962598.

Weltman B, Vig KW, Fields HW, Shanker S, Kaizar EE. Root resorption associated with orthodontic tooth movement: a systematic review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2010 Apr; 137(4):462-76; discussion 12A. doi: 10.1016/j.ajodo.2009.06.021.

Wilcko WM, Wilcko MT, Bouquot JE, Ferguson DJ. Rapid orthodontics with alveolar reshaping: two case reports of decrowding. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2001 Feb;21(1):9-19.

Wilcko MT, Wilcko MW, Pulver JJ, Bissada NF, Bouquot JE. Accelerated osteogenic orthodontics technique: a 1-stage surgically facilitated rapid orthodontic technique with alveolar augmentation. *J Oral Maxillo fac Surg.* 2009 Oct;67(10):2149-59. doi: 10.1016/j.joms.2009.04.095.

Wilcko WM, Wilcko MT. Accelerating tooth movement: The case for corticotomy-induced orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2013;144:4-13. doi.org/10.1016/j.ajodo.2013.04.009

Yaffe A, Fine N, Binderman I. Regional accelerated phenomenon in the mandible following mucoperiosteal flap surgery. *J Periodontol.* 1994 Jan;65(1):79-83. PubMed PMID: 8133418.

Yamaguchi M. RANK/RANKL/OPG during orthodontic tooth movement. *Orthod Craniofac Res.* 2009 May; 12(2):113-9. doi: 10.1111/j.1601-6343.2009.01444.x.

Yen SL, Gross J, Wang P, Yamashita DD. Closure of a large alveolar cleft by bony transport of a posterior segment using orthodontic wires attached to bone: report of a case. *J Oral Maxillo fac Surg.* 2001 Jun;59(6):688-91.

Yen SL, Yamashita DD, Gross J, Meara JG, Yamazaki K, Kim TH, et al. Combining orthodontic tooth movement with distraction osteogenesis to close cleft spaces and improve maxillary arch form in cleft lip and palate patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2005 Feb;127(2):224-32.

Yen SL, Yamashita DD, Kim TH, Baek HS, Gross J. Closure of an unusually large palatal fistula in a cleft patient by bony transport and corticotomy-assisted expansion. *J Oral Maxillo fac Surg.* 2003 Nov;61(11):1346-50.

Zaniboni E, Vedovello EF, Santamaria MP, Jardini MAN, Ortiz MFM, Consolaro A, et. al. Root morphology can be a risk factor for periodontal damage and root resorption in orthodontic movement. *Braz J Oral Sci.* 2017;16:e17090.
doi.org/10.20396/bjos.v16i1.8651188

ANEXO A – Certificado do Comitê de Ética**CERTIFICADO
CEUA – Comissão de Ética no
Uso de Animais**

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº **08/2015-CEUA/ICT-CJSC-UNESP**, sobre "Efeito da corticotomia na movimentação ortodôntica. Estudo histomorfométrico e imunoistoquímico em ratos", sob responsabilidade de **MARIA APARECIDA NEVES JARDINI**, tendo como colaborador Marcelo Lelis Zuppardo, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal – CONCEA e Lei Arouca nº 11.794 de 08/10/2008 e foi aprovado por esta CEUA.

São José dos Campos, 02 de setembro de 2015

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "P. Komori".

Profa.Dra. **PAULA CAROLINA KOMORI DE CARVALHO**
Coordenadora

Obs:- Para este trabalho serão utilizados:- 60 (sessenta) ratos heterogênicos de 90 dias e 300 grs.