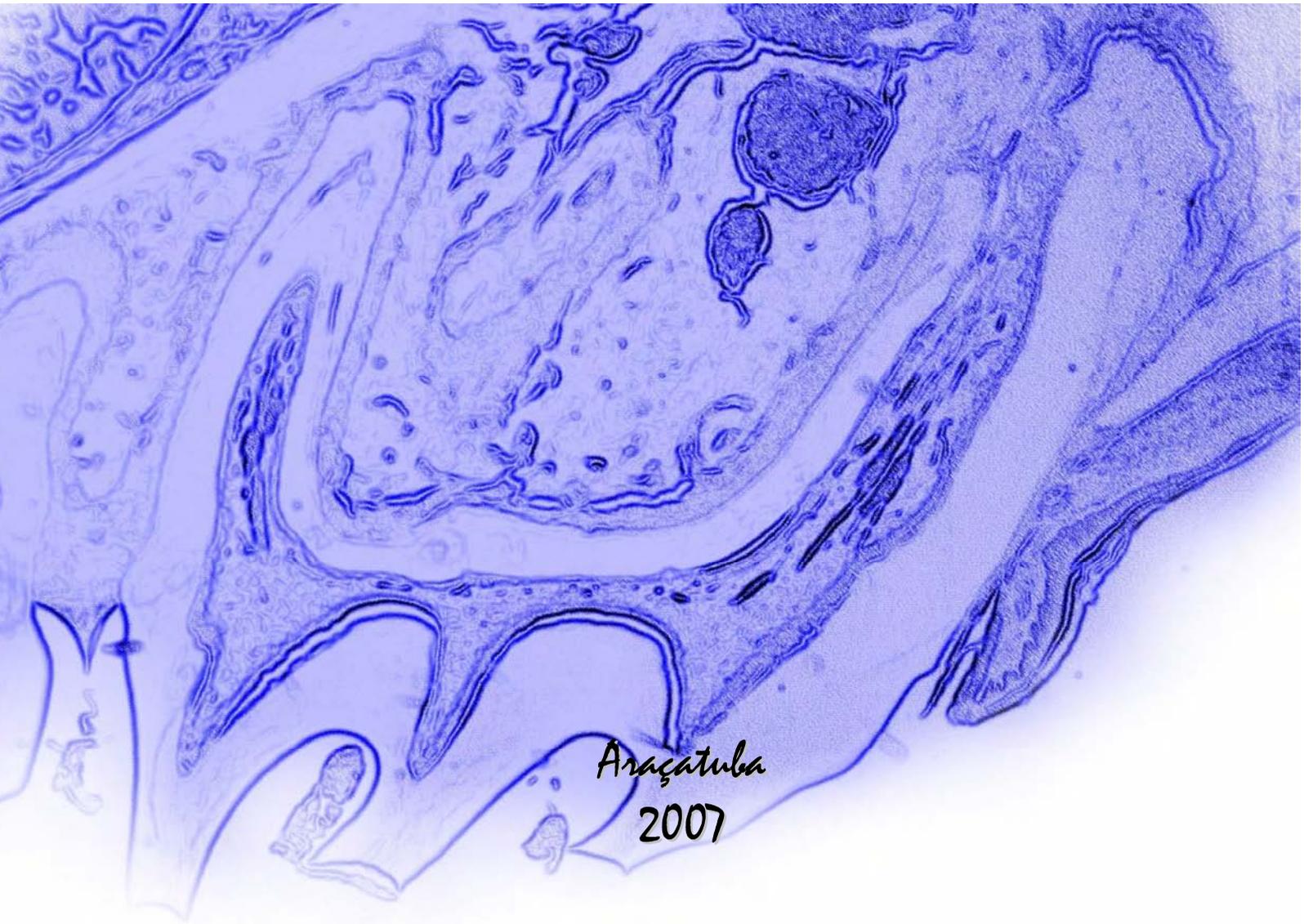


An Tien Li

*Histomorfometria do periodonto em estado  
diabético inicial após movimentação dentária  
experimental em ratos*



Araçatuba  
2007

**An Tien Li**

**Histomorfometria do periodonto em estado  
diabético inicial após movimentação dentária  
experimental em ratos**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Odontologia, área de Ortodontia.

**Orientador:** Prof. Dr. Francisco A. Bertoz

**Co-orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra M. Aranega

**Araçatuba**

**2007**

Catálogo-na-Publicação

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

A531h	<p>An, Tien Li</p> <p>Histomorfologia do periodonto em estado diabético inicial após movimentação dentária experimental em ratos / An Tien Li. - Araçatuba : [s.n.], 2007 153 f. : il.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2007 Orientador: Prof. Dr. Francisco Antonio Bertoz Orientador: Profa. Dra. Alessandra Marcondes Aranega</p> <p>1. Diabetes mellitus experimental 2. Movimentação dentária</p> <p>Black D4 CDD 617.643</p>
-------	--

## **Dados pessoais**

**Local de Nascimento:** Taiwan

**Data de nascimento:** 19 de Novembro de 1974

**Filiação:** An Ping Chia

An Ho Hsiu Yu

**2008** – Coordenador do Curso de Pós-Graduação *Lato sensu*, especialidade em Ortodontia, unidade em Brasília – SOEBRAS/FUNORTE.

**2005 – 2007:** Coordenador do Curso de Pós-Graduação *Lato sensu*, especialidade em Ortodontia, unidade em Brasília – SOEBRAS/FUNORTE.

**2004 – 2006:** Professor Substituto na área de Ortodontia do Departamento de Odontologia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.

**2001 – 2003:** Pós-Graduação em Odontologia, em nível de Mestrado, área de concentração Ortodontia, Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista.

**1994 – 1997:** Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista.

*Dedico esta obra aos meus pais*

*Que, genuinamente e de forma incontestável, apoiaram a minha  
escolha por uma formação acadêmica;  
Despercebidamente, constituíram a minha perseverança;  
Fazendo-me enxergar que formar e ser  
São frutos de inúmeras quedas,  
Incansáveis tentativas de levantar,  
Muito suor calado,  
Para finalmente alcançar a sabedoria além do conhecimento*

*Ao meu irmão*

*Simplemente de valor inestimável*

*Agradeço...*

*A Deus*

*Meu amparo espiritual*

*Ao Prof. Dr. Francisco Antonio Bertoz*

*Pelo respeito e liberdade cedida, como pai para um filho  
Pelos puxões de orelha, paciência e tapinha nas costas, de um mentor para um aprendiz  
Pela oportunidade e apoio, de um amigo*

*Ao Prof. Dr. Osmar Aparecido Cuoghi*

*Que pacientemente somava-me com suas dicas  
Acompanhou, percebeu e reconheceu o meu crescimento  
Tornando-me cada dia melhor  
Por mostrar que sempre deve buscar em aperfeiçoar*

*À Profa. Dra. Alessandra Marcondes Araneza*

*Pela orientação, âncora e assistência  
Fazendo-me visualizar aos poucos o que parecia impossível  
Tornar-se pedaços de realidade*

*À Profa. Dra. Ana Carolina Acevedo Poppe*

*Pelas dicas, disponibilidade, auxílio e amizade*

*Aos Prof. Dr. Marcos Rogério de Mendonça e Edurado Almada Santos,*

*Pela convivência e amizade*

*Aos amigos Maurício de Almeida Cardoso, Juliana Kina, Carlos Shimabucoro*

*Pelo auxílio contribuído tornando este trabalho possível*

*Pela amizade eterna*

*Pelo apoio nas horas mais oportunas*

*Aos colegas que lutam pela mesma causa*

*André Bertoz, Aginaldo Farias, Galdino, Carla, Lillian, Flávia*

*Aos amigos Geraldo, Alex, Zé Ricardo, Túlio, Ronan, Pedro,*

*Fernando Picoli, Ricardo Lessi,*

*Pela convivência, amizade, bons papos, troca de idéias, horas de risos*

*Tornando minha vida acadêmica mais enriquecida*

*Aos funcionários da FOA - UNESP*

*Aos funcionários da seção de pós-graduação Valéria, Marina e Diogo*

*À Maria da Glória do Laboratório multidisciplinar da UnB*

*Aos bibliotecários Izamar, Ana Cláudia, Cláudio, Ivone, Isabel, Claudia (FOA -UNESP)*

*Às bibliotecárias Jane e Ana Regina (HRAC-Bauru)*

*À Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP*

*"Se você conta com alguém que tem menos qualidades que você,  
isso levará à sua degeneração.*

*Se você conta com alguém com qualidades iguais às suas,  
você permanece onde está.*

*Somente quando conta com alguém cujas qualidades são superiores às suas  
é que você atinge uma condição sublime"*

*Dalai Lama*

AN, T.L. **Histomorfometria do periodonto em estado diabético inicial após movimentação dentária experimental em ratos**, 2007. 153 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.

## RESUMO

Este estudo avaliou histomorfometricamente o periodonto após a movimentação dentária experimental em ratos sob estado diabético inicial. Numa amostra de 40 ratos, 20 normais e 20 diabéticos induzidos por estreptozotocina, utilizou-se o lado esquerdo como lado experimental, movimentando o primeiro molar superior com uma mola fechada de 25 cN, enquanto que o lado direito, sem acessório, serviu como controle. Realizou-se a eutanásia dos animais, respectivamente, 3, 7, 14 e 21 dias após movimentação para proceder preparo histológico convencional e análises microscópicas quantitativas e qualitativas. Macroscopicamente, exceto no terceiro dia, os ratos diabéticos demonstraram menores magnitudes de movimentação dentária. Microscopicamente, houve diferenças significantes quando as áreas do espaço periodontal dos ratos normais ( $p < 0,01$ ) e diabéticos ( $p < 0,05$ ) foram comparadas com seus respectivos controles nos quadrantes cervicais diastais, respectivamente, no 3º, 7º e 14º dia. Não se observou diferenças significantes entre os ratos normais e diabéticos exceto o quadrante apical distal ( $p < 0,05$ ) no 7º dia pós-movimentação. Qualitativamente, a neoformação do osso alveolar dos ratos diabéticos foi menor quando comparado com os normais. Apesar das diferenças qualitativas nas respostas teciduais do periodonto, a condição diabética em estado inicial mostrou pouco impacto clínico sobre o procedimento de movimentação dentária induzida.

**Palavras-chave:** Diabetes mellitus. Movimentação dentária.

AN, T.L. **Periodontal histomorphometry following experimental tooth movement in short-term diabetic rats**, 2007. 153 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.

### **ABSTRACT**

This study performed histomorphometric analysis of the periodontium resulted from experimental tooth movement in short-term diabetic rats. Using a split mouth design, in a sample of 40 rats, 20 normal and 20 streptozotocin-induced diabetic rats, left side of upper jaw was used to induce first molar tooth movement with a 25 cN closed coil spring, and the right side without the appliance served as control. Animals were killed, respectively, at 3, 7, 14 and 21 days post-movement and hemi-maxillas were submitted to conventional histological procedures and microscopic quantitative and qualitative analysis. Macroscopically, except at the 3rd day, diabetic rats showed minor magnitude of tooth movement. Microscopically, significant differences were evidenced between the experimental and control side at the distocervical quadrant at day 3, 7 and 14 after experimental tooth movement for both normal rats ( $p<0.01$ ) and diabetic rats ( $p<0.05$ ). There was no difference between the areas of periodontal space of normal and diabetic group except the mesiocervical quadrant at day 7 ( $p<0.05$ ). Qualitatively, minor magnitude of alveolar bone neoformation was shown in diabetic group when compared with control group. Despite the qualitative differences observed in the periodontal tissue responses, the short-term diabetic state demonstrated little clinical impact on the experimental tooth movement.

**Keywords:** Diabetes mellitus. Tooth movement.

# LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Mola de secção fechada Sentalloy® utilizada para o presente estudo.	50
<b>Figura 2</b>	Desenho esquemático dos fios amarrando nos incisivos e no primeiro molar superior esquerdo, e a ativação da mola para movimentação dentária.	50
<b>Figura 3</b>	Fotografia demonstrando o corte para-sagital de interesse.	51
<b>Figura 4</b>	Imagens capturadas pela lupa estereomicroscópica das raízes de interesse para o estudo. <b>A.</b> Imagem da raiz disto-vestibular ampliada em 5,0x. <b>B.</b> Imagem da raiz méso-vestibular ampliada em 5,0x.	53
<b>Figura 5</b>	Imagem com os quadrantes delimitando a raiz de interesse para o estudo histométrico. DCM – Quadrante cervical mesial; DCD – Quadrante cervical distal; DAM – Quadrante apical mesial; e DAD – Quadrante apical distal.	55
<b>Figura 6</b>	Material e procedimento para mensuração macroscópica. A. Calibrador de folga de 20 lâminas variando, em escalas de 0,05mm de espessura, de 0,05mm a 1,00mm. B. Espaçamento conseqüente à movimentação (seta). C. Posicionando o calibrador de folga no espaçamento.	56
<b>Figura 7</b>	Aspectos microscópicos normais do periodonto da raiz distal do primeiro molar superior de ratos sem movimentação dentária.	76
<b>Figura 8</b>	Aspectos microscópicos normais do periodonto da raiz mesial do primeiro molar superior de ratos sem movimentação dentária.	77
<b>Figura 9</b>	Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato normal após 3 dias de movimentação dentária induzida.	80

<b>Figura 10</b>	Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato normal após 7 dias de movimentação dentária induzida.	81
<b>Figura 11</b>	Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato normal após 14 e 21 dias de movimentação dentária induzida.	82
<b>Figura 12</b>	Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato diabético após 3 dias de movimentação dentária induzida.	86
<b>Figura 13</b>	Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato diabético após 7 dias de movimentação dentária induzida.	88
<b>Figura 14</b>	Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato diabético após 14 dias de movimentação dentária induzida.	90
<b>Figura 15</b>	Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato diabético após 21 dias de movimentação dentária induzida.	91

# LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Classificação de Diabetes mellitus segundo os fatores etiológicos da doença.	39
<b>Tabela 2</b>	Relação das doses do relaxante muscular e do anestésico utilizada no presente estudo.	49
<b>Tabela 3</b>	Variáveis do estudo e as comparações efetuadas.	57
<b>Tabela 4</b>	Erro sistemático do método das mensurações em nível macroscópico e microscópico.	62
<b>Tabela 5</b>	Taxas de glicemia dos ratos diabéticos e normais agrupados de acordo com os dias da eutanásia.	63
<b>Tabela 6</b>	Peso inicial e final dos ratos normais e diabéticos (g) agrupados de acordo com os dias da eutanásia.	64
<b>Tabela 7</b>	Valores médios (mm) da largura dos espaços interproximais dos quatro grupos.	65
<b>Tabela 8</b>	Comparação dos valores médios (mm) da largura do espaço interproximal distal entre o grupo normal e diabético.	65
<b>Tabela 9</b>	Comparações das áreas médias ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais nos quadrantes do lado experimental e controle dos ratos normais nos quatro tempos de estudo.	66
<b>Tabela 10</b>	Comparações das áreas médias ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais nos quadrantes entre o lado experimental e controle dos ratos diabéticos nos quatro tempos de estudo.	67
<b>Tabela 11</b>	Comparações das áreas médias ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais nos quadrantes do lado experimental entre os ratos diabéticos e normais nos quatro tempos de estudo.	68
<b>Tabela 12</b>	Comparações das diferenças médias das áreas ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) nos quadrantes do lado experimental em relação ao controle dos grupos normal e diabético nos quatro tempos de estudo.	69

<b>Tabela 13</b>	Comparação das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado experimental do grupo normal nos diferentes tempos.	70
<b>Tabela 14</b>	Comparação das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado controle do grupo normal nos diferentes tempos.	70
<b>Tabela 15</b>	Comparação das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado experimental do grupo diabético nos diferentes tempos.	71
<b>Tabela 16</b>	Comparação das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado controle do grupo diabético nos diferentes tempos.	71
<b>Tabela 17</b>	Comparação das diferenças das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado experimental em relação ao controle do grupo normal nos diferentes tempos.	72
<b>Tabela 18</b>	Comparação das diferenças das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado experimental em relação ao controle do grupo diabético nos diferentes tempos.	72

# LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b>	Alterações dimensionais macroscópicas do espaço interproximal distal dos ratos normais e diabéticos.	100
<b>Gráfico 2</b>	Áreas médias do espaço periodontal dos 4 quadrantes analisados entre os grupos no 3º dia pós-movimentação.	101
<b>Gráfico 3</b>	Diferenças médias das áreas dos espaços periodontais do lado experimental em relação ao lado controle entre grupo normal e diabético no 3º dia pós-movimenta.	101
<b>Gráfico 4</b>	Áreas médias do espaço periodontal dos 4 quadrantes analisados entre os grupos no 7º dia pós-movimentação.	102
<b>Gráfico 5</b>	Diferenças médias das áreas dos espaços periodontais do lado experimental em relação ao lado controle entre o grupo normal e diabético no 7º dia pós-movimentação.	102
<b>Gráfico 6</b>	Áreas médias do espaço periodontal dos 4 quadrantes analisadas no 14º dia pós-movimentação.	104
<b>Gráfico 7</b>	Diferenças médias dos espaços periodontais do lado experimental em relação ao lado controle entre grupo normal e diabético no 14º dia pós-movimentação.	104
<b>Gráfico 8</b>	Áreas médias do espaço periodontal dos quadrantes analisados no 21º dia pós-movimentação.	105
<b>Gráfico 9</b>	Diferenças médias dos espaços periodontais do lado experimental em relação ao lado controle entre grupo normal e diabético no 21º dia pós-movimentação.	105
<b>Gráfico 10</b>	Áreas médias do espaço periodontal dos quadrantes cervicais mesiais analisados nos diferentes intervalos de tempo.	107
<b>Gráfico 11</b>	Áreas médias do espaço periodontal dos quadrantes cervicais distais analisados nos diferentes intervalos de tempo.	107
<b>Gráfico 12</b>	Diferenças médias dos espaços periodontais dos quadrantes cervicais entre o grupo normal e diabético nos 4 tempos de estudo.	108

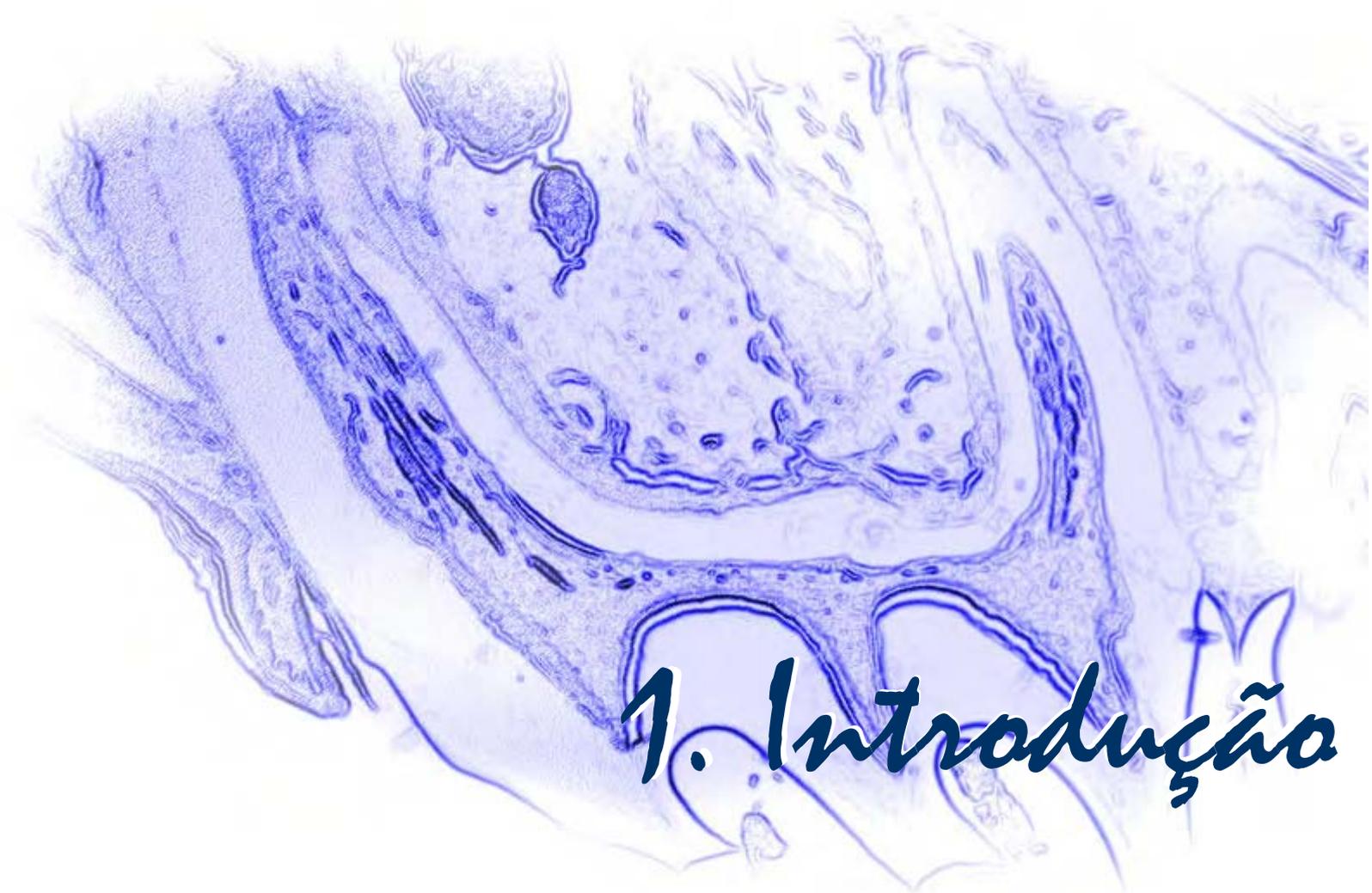
<b>Gráfico 13</b>	Áreas médias do espaço periodontal dos quadrantes apicais mesiais analisados nos diferentes intervalos de tempo.	108
<b>Gráfico 14</b>	Áreas médias do espaço periodontal dos quadrantes apicais distais analisados nos diferentes intervalos de tempo.	109
<b>Gráfico 15</b>	Diferenças médias dos espaços periodontais dos quadrantes apicais entre o grupo normal e diabético nos 4 tempos de estudo.	109

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>DCM</b>	Quadrante cervical mesial da raiz distal
<b>DCD</b>	Quadrante cervical distal da raiz distal
<b>DAM</b>	Quadrante apical mesial da raiz distal
<b>DAD</b>	Quadrante apical distal da raiz distal
<b>DE</b>	Diabético experimental
<b>DC</b>	Diabético controle
<b>NE</b>	Normal experimental
<b>NC</b>	Normal controle

# SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b>	17
<b>2. Revisão de Literatura</b>	21
2.1 Evolução histórica das pesquisas sobre movimentação dentária induzida	23
2.2 Histomorfologia do periodonto de ratos frente à movimentação dentária experimental	31
2.3 Diabetes mellitus e o periodonto	37
<b>3. Proposição</b>	44
<b>4. Material e Métodos</b>	46
4.1 Material	47
4.2 Métodos	47
4.2.1 Processamento dos animais	47
4.2.2 Processamento e análises de imagens	52
4.2.3 Métodos estatísticos	58
<b>5. Resultados</b>	60
5.1 Erro do método	61
5.2 Glicemia e peso corporal dos ratos	62
5.3 Análises quantitativas macroscópicas	65
5.4 Análises quantitativas microscópicas	65
5.5 Análises qualitativas	73
<b>6. Discussão</b>	92
6.1 Considerações sobre o experimento em ratos	93
6.2 Análises quantitativas	97
6.3 Análises qualitativas	110
6.4 Considerações finais	113
<b>7. Conclusões</b>	115
<b>Referências</b>	118
<b>Anexos</b>	133



# 1. Introdução



# INTRODUÇÃO

*E*ntre algumas condições sistêmicas que podem influenciar na reação biológica durante a movimentação ortodôntica, pode-se citar *diabetes mellitus*, doença caracterizada pelo aumento persistente dos níveis glicêmicos como consequência da deficiência na secreção de insulina, na ação deficiente da insulina ou de ambas. O *diabetes mellitus* é considerado, atualmente, um problema de saúde pública global;<sup>1</sup> até indivíduos, em tenra idade, podem adquirir, devido à dieta hipercalórica e sedentarismo, o diabetes tipo 2, antes comum somente em adultos.

Entre outros efeitos sistêmicos, *diabetes mellitus* geralmente altera a síntese, a maturação e o *turnover* do colágeno, um dos constituintes principais do tecido periodontal, o que acarreta, em última instância, uma deficiência no reparo do tecido periodontal diante de um processo inflamatório seja bacteriano ou não.<sup>2,3,4,5,6</sup> Esta condição tem especial interesse para o ortodontista, uma vez que a movimentação ortodôntica pode ser interpretada como um processo inflamatório não bacteriano, visto que a força aplicada no dente é dissipada no tecido, gerando

uma resposta de recrutamento de células bem como dos mediadores químicos da inflamação, que no final promove a remodelação de todo o tecido periodontal.<sup>7,8,9</sup>

O interesse pelos mecanismos que regulam a movimentação dentária não é recente, as primeiras publicações datam desde início do século XX, atribuindo às publicações de Sandstedt.<sup>10,11,12</sup> Ao longo da história da Ortodontia, o conhecimento acumulado sobre esta área tornou-se extenso, partindo desde descrições sobre os aspectos teciduais e culminando em pesquisas genéticas, por meio da utilização de variados modelos experimentais. Ainda neste contexto, a movimentação dentária induzida em modelos de animais, especificamente em ratos, é bastante utilizada.<sup>4,5,9,13-21</sup> Estudos foram destinados para verificar as respostas biológicas em níveis macro e microscópico sob diferentes magnitudes de força,<sup>13,14,15,17</sup> sob ação de agentes químicos<sup>18,19</sup> e físicos,<sup>20</sup> sob diferentes condições de maturação,<sup>7,8,21</sup> e sob situações patológicas induzidas.<sup>4,5</sup>

Com relação à doença *diabetes mellitus*, a sua relação com a doença periodontal também foi amplamente estabelecida.<sup>2,3,6,15</sup> Todavia, poucos foram os estudos realizados que visaram avaliar a reação biológica da movimentação dentária induzida em estado metabólico diabético,<sup>4,22</sup> apesar de algumas publicações mencionarem cuidados especiais para os pacientes esta doença sistêmica.<sup>2,23</sup>

O estudo efetuado por Holtgrave e Donath,<sup>4</sup> publicado em língua alemã, teceu considerações histomorfológicas do peridonto em estado diabético após a movimentação dentária experimental, porém o estudo avaliou as reações teciduais num intervalo de 14 dias apenas. O estudo de Antonio,<sup>22</sup> por sua vez, comparou além das condições diabéticas e normais, o estado diabético tratado; porém a

amostra experimental utilizada consistiu-se de incisivos de ratos, o que segundo Ren e colaboradores,<sup>8</sup> não é a amostra mais apropriada devido à erupção contínua dos incisivos dos roedores. Assim, diante da escassez de informações, o presente estudo objetivou avaliar a histomorfometria do periodonto dos ratos portadores de diabetes em estado inicial após a movimentação dentária experimental, aumentando o tempo de estudo e utilizando o primeiro molar superior como amostra experimental.



## *2. Revisão de Literatura*

# REVISÃO DE LITERATURA



A preocupação em avaliar as reações teciduais frente à movimentação dentária induzida, numa condição sistemicamente comprometida, nos orienta à procura de fundamentos teóricos que sustentem para a execução deste estudo incomum.

A literatura ortodôntica está repleta sobre as respostas teciduais, celulares e, atualmente, moleculares que ocorrem numa reação em cascata quando o periodonto é submetido a um estímulo mecânico. Uma revisão com ênfase aos aspectos histológicos é de suma importância para construir uma linha de raciocínio coerente para guiar a posterior discussão do nosso estudo. Por outro lado, *diabetes mellitus* também se destaca pelo seu conhecimento remoto; além disso, trata-se de uma condição sistêmica que desafia a longevidade da saúde periodontal. Uma compreensão sobre o periodonto em estado diabético

certamente nos conduz a uma convergência de informações que abrem um horizonte peculiar relacionado à movimentação dentária sob esta condição.

## **2.1 Evolução histórica das pesquisas sobre movimentação dentária induzida**

A primeira publicação a respeito da movimentação dentária experimental tem sido atribuída ao estudo em cães de Sandstedt em 1901.<sup>10</sup> Apesar da idéia do movimento ortodôntico seja dependente da reabsorção e da aposição do alvéolo ser antiga, desde 1839,<sup>24</sup> os fundamentos sobre estes conhecimentos, que perduram até hoje, só foram possíveis de serem traçados no início do século XX com o estudo em nível tecidual de Sandstedt.<sup>10,11,12</sup>

A publicação de 1901<sup>10</sup> consistiu de um relatório em língua sueca do Departamento de Anatomia no Instituto de Karolinska em Estocolmo, que somente ganhou repercussão internacional em 1904 e 1905, após a morte do autor, quando foi publicado em três partes, de forma resumida, numa revista de língua alemã *Nordisk Tandläkare Tidskrift*.<sup>11,12</sup> A publicação intitulada “Algumas contribuições para a teoria da movimentação ortodôntica” foi resultado de um estudo em cães, onde foram avaliadas as alterações teciduais dos incisivos e caninos superiores submetidos ao movimento de lingualização com a utilização de acessórios ortodônticos. Numa época onde a movimentação dentária como sendo resultado do processo remodelador do osso ainda era um conceito controverso, Sandstedt demonstrou de forma convicta que realmente a movimentação dentária induzida suscitava processo de reabsorção e aposição óssea. Na afirmação do autor, a parede do osso alveolar parece mover-se à medida que a aposição no lado do osso alveolar era equilibrada pela reabsorção dos espaços vasculares adjacentes

e vice-versa. Nas secções transversais dos incisivos e caninos, áreas de neoformação óssea e de reabsorção foram observadas, respectivamente, nos lados de tensão e compressão.<sup>12</sup> Ainda nesta obra, pela primeira vez, descreveu-se a conhecida zona de hialinização, a reabsorção à distância além de observar indícios de reabsorção radicular.

Oppenheim,<sup>25,26</sup> alguns anos depois, publicou seus resultados após movimentar experimentalmente para vestibular os dentes decíduos de macacos. As reações teciduais observadas no lado de compressão foram substancialmente diferentes, observando um desaparecimento por completo e substituição do osso original por outro novo. Estas diferenças podem ser em consequência de métodos experimentais diferentes, uma vez que Oppenheim sacrificava seus animais vários dias após a ativação do aparelho, não observando os efeitos agudos da movimentação dentária experimental. As descrições pareceram ser sobre as respostas do periósteo e do endósteo em decorrência da deflexão da parede óssea alveolar vestibular. De qualquer forma, estas observações nortearam os conceitos clínicos sobre a Ortodontia na época, fazendo acreditar que seja possível a promoção de “crescimento ósseo” com a movimentação dentária, o que também contribuiu para sustentar a filosofia não-extracionista de Angle.<sup>27</sup> Com a vida dedicada, outros estudos da mesma autoria<sup>28,29</sup> foram conduzidos utilizando modelos experimentais com dentes de macacos, cães, como também de pré-molares humanos. Estas publicações realmente serviram como alicerces na primeira metade do século XX.

Além de Sandstedt e Oppenheim, outros autores também apareceram na literatura, a saber, Gottlieb e Orban em 1931.<sup>30</sup> Schwarz em 1932,<sup>31</sup> que

contribuiu com o seu conceito de força ortodôntica ideal não sendo superior à pressão capilar sanguínea, isto é, 20 a 25g/cm<sup>2</sup>; e, Breitner<sup>32</sup> em 1940 que relatou também as alterações ósseas decorrentes da movimentação ortodôntica. As observações histológicas culminaram com a proposição da teoria de pressão-tensão, a qual define que a movimentação dentária dentro do espaço periodontal gera lados de pressão e de tensão; no lado de pressão ocorrem desorganização e produção das fibras, diminui a proliferação celular devido à constrição vascular, enquanto que no lado de tensão, estímulos provocam estiramento das fibras do ligamento periodontal e aumentam a proliferação celular.

Apesar destas contribuições, somente depois de 1950 que os estudos sobre a movimentação dentária atraíram maior interesse com as publicações clássicas de Reitan,<sup>33,34,35,36</sup> as quais se destacaram pelo uso extensivo de dentes humanos nos seus estudos, principalmente de pré-molares.

Nos seus trabalhos, ênfases foram dadas à complexidade da resposta tecidual conseqüente à movimentação ortodôntica, a qual depende de fatores tais como duração e magnitude da força aplicada; o tipo de movimentação envolvido; e, individualidade da resposta. Nesse sentido, Reitan observou que nos estágios iniciais da movimentação por inclinação, áreas hialinizadas foram freqüentes sob uma magnitude de 30g e o tempo gasto para a remoção destas áreas por meio da reabsorção à distância durava em torno de 2 a 4 semanas, um tempo que variava dependendo do comprimento radicular.<sup>34,36</sup> De acordo com os resultados, áreas hialinizadas apareceram mesmo que a força fosse mínima, e constatou-se que as áreas de hialinização foram maiores quando a raiz dentária era mais curta. Zonas de hialinização também apareceram quando a força aplicada apresentava uma

magnitude mais intensa, sendo mais freqüentes quando o dente movimentava por inclinação do que por translação. Com base nestas evidências, concluiu-se que as zonas hialinizadas eram degenerações relacionadas à força por unidade de área, mas tentativas deveriam ser feitas para minimizá-las.

Num outro estudo, sobre dentes girovertidos em cães, Reitan observou que enquanto que as fibras do ligamento periodontal remodelavam dentro de 28 dias, as fibras gengivais da gengiva marginal livre ainda mantinham-se estiradas mesmo depois de 232 dias de contenção, atribuindo este comportamento à presença de fibras elásticas ou oxitalâmicas. Baseada nesta evidência, recomendou-se que o período de contenção para dentes girovertidos fosse mais prolongado.<sup>35</sup>

No intuito de conhecer melhor a relação força/resposta tecidual, Storey<sup>37,38,39</sup> além de estudar sobre o efeito das molas sobre os incisivos dos roedores e porcos, também avaliou, em nível experimental clínico, os níveis de força aplicados para retração de caninos. Para Storey e Smith,<sup>40</sup> uma força de retração variando de 150 a 250g era capaz de movimentar rapidamente o canino para o espaço do pré-mola extraído, enquanto forças de magnitudes abaixo de 150g ou variando entre 400 a 600g movimentavam muito pouco o canino, sendo esta última condição um fator que promovia perda de ancoragem. Estes experimentos, ainda que contestados pela presença de variação individual de cada paciente, se tornaram marcantes por colocar um conceito prevalente até os dias atuais, a existência de uma força diferencial para efetivar a movimentação ortodôntica.

Na década de 60, à medida que as técnicas histomorfológicas foram se aperfeiçoando, outros métodos mais sofisticados também foram desenvolvidos a fim de explorar de forma mais aprofundada as respostas teciduais. Um desses métodos foi a técnica autoradiográfica, que por meio do uso de moléculas marcadas por Tritium, fazia mensurações mais precisas sobre as alterações metabólicas e as proliferações celulares. Segundo Baumrind e Buck,<sup>41</sup> tanto os lados de compressão como de tensão, observava-se um aumento da proliferação celular e da atividade metabólica e diminuição da síntese protéica. Reproduzindo o mesmo modelo experimental, Roberts e Jee (1974),<sup>42</sup> Roberts *et al.* (1974),<sup>43</sup> e Smith e Roberts (1980)<sup>44</sup> estudaram sobre a cinética celular das células do ligamento periodontal no lado de tensão. Num curso de tempo de 20 horas, uma força contínua produziu uma resposta proliferativa que se subdividia em três estágios. Em síntese, o estímulo mecânico no lado de tensão produziu em duas horas um aumento marcante da atividade mitótica, sugerindo que o estímulo mecânico seja um sinal que permite as células entrarem no ciclo de mitose e síntese de DNA. Com estes experimentos, sugeriu-se que, sob condições de estiramento, as células do ligamento periodontal eram basicamente osteogênicas.

Enquanto os estudos efetuados por Roberts e colaboradores centralizaram no lado de tensão, estudos paralelos efetuados por Kvam<sup>45</sup> e Rygh<sup>46,47</sup> focaram no lado de compressão. Num estudo em microscopia eletrônica sobre as alterações vasculares do periodonto devido à movimentação dentária induzida, tanto nos humanos como nos ratos, Rygh<sup>47</sup> apontou que no lado de compressão ocorreu o empacotamento dos eritrócitos em vasos dilatados dentro de 30 minutos; fragmentação dos eritrócitos depois de 2 a 3 horas e desintegração das paredes dos

vasos sanguíneos e extravasamento de seus conteúdos depois de 1 a 7 dias. Observou-se também alterações necróticas nos fibroblastos do ligamento periodontal, tais como dilatação do retículo endoplasmático e tumefação da mitocôndria dentro de 30 minutos, seguido pela ruptura da membrana celular e fragmentação nuclear depois de 2 horas, sendo estes remanescentes necróticos retidos por vários dias na zona de hialinização. Segundo o autor, não havia diferença qualitativa entre as alterações observadas nos humanos e nos ratos, exceto a velocidade em que elas ocorreram; se nos humanos as alterações surgiram em dois dias, estas ocorram em duas horas nos ratos. Ainda neste contexto, evidenciou-se atividade celular para remoção do material necrótico contido nas zonas de hialinização e a presença de reabsorção radicular.

Se por um lado muitas informações foram alcançadas no estudo das movimentações dentárias induzidas, outras dúvidas ainda precisavam ser respondidas em torno da teoria de pressão-tensão, uma teoria que predominou até a metade do século XX e, pela sua difusão, ainda desempenha um papel essencial para organizar nossas idéias. Primeiro, as fibras estiradas realmente geram tensão? Segundo, dentro do espaço periodontal pode desenvolver pressões diferenciais?

Para Heller e Nanda,<sup>48</sup> com relação ao dente estimulado durante o tratamento ortodôntico, era improvável que as fibras principais do ligamento periodontal sejam submetidas à força de tensão constante, ou transferir estas tensões diretamente para o osso alveolar pelas fibras de Sharpey. Por outro lado, Baumrind<sup>49</sup> considerou que o sistema hidrostático do ligamento periodontal respeitava às leis físicas de Pascal, onde ao ser submetido à pressão, esta mesma seria distribuída igualmente para todas as regiões, sendo, portanto apenas poucas

áreas que desenvolveriam uma pressão diferencial. Além desta reconsideração, Baumrind<sup>49</sup> também observou que durante a movimentação dentária induzida, a coroa do molar se deslocava, em média, 10 vezes mais do que a média de redução da largura do espaço periodontal no lado de compressão, sugerindo que o osso se deformou mais prontamente do que o próprio ligamento periodontal. Assim, o mesmo autor ressuscitou em 1969 uma teoria alternativa, a teoria da deflexão óssea, a qual já foi previamente sugerida por Farrar em 1888,<sup>50</sup> além de ter sido demonstrada pelas pesquisas laboratoriais de Mühlemann, 1954,<sup>51</sup> Mühlemann e Zander, 1954,<sup>52</sup> Picton, 1965.<sup>53</sup>

Confirmada pelos experimentos em dentes de ratos<sup>49</sup> e humanos,<sup>54</sup> a teoria da deflexão óssea definia que uma vez ativado o aparelho ortodôntico, as forças liberadas aos dentes eram transmitidas para todos os tecidos adjacentes próximos à força aplicada. Estas forças deflexionavam o osso, o dente e as estruturas sólidas do ligamento periodontal. O osso, por ser mais elástico do que outras estruturas, reagiria melhor à deflexão. O processo biológico seguido da deflexão óssea envolve o *turnover* e renovação das frações celulares e inorgânicas. Estes processos eram acelerados enquanto o osso estiver em estado deformado. Além disso, os autores afirmaram que a reorganização se procedia não somente na lâmina dura do alvéolo, mas também na superfície de toda trabécula óssea. A força liberada para o dente era dissipada através do osso por desenvolver linhas de estresse, e mais aplicação de forças se tornaria estímulo para alterar as respostas biológicas das células em disposição perpendicular a estas linhas de estresse. A atividade alterada das células por sua vez modificaria a forma e a organização interna do osso, para acomodar as forças exógenas que agiram sobre ele.

Com a ajuda desta teoria, os autores<sup>49,54</sup> foram capazes de explicar alguns fatos tais como a relativa lentidão do movimento ortodôntico em massa, a rapidez com que ocorria o deslocamento do dente para o local de extração e a relativa rapidez com que ocorria a movimentação ortodôntica em crianças, as quais apresentavam estruturas ósseas menos calcificadas e mais flexíveis.

Paralelamente às duas teorias mencionadas, outra proposta conhecida como teoria dos sinais piezoelétricos também surgiu para complementar ainda mais o conhecimento sobre a complexidade das reações teciduais da movimentação ortodôntica.

Em 1962, Basset e Becker<sup>55</sup> propuseram que em resposta à força mecânica, havia geração de potenciais elétricos nos ossos estimulados. No osso deflexionado pela força mecânica, havia surgimento de superfícies de concavidade e de convexidade que estavam associadas, respectivamente, à eletronegatividade e eletropositividade. As respostas remodeladoras frente à eletronegatividade e eletropositividade foram, respectivamente, formação e reabsorção óssea.<sup>56</sup> Segundo Davidovitch *et al.*,<sup>57,58</sup> havia uma relação entre a perturbação mecânica e elétrica do osso. Seus experimentos com a corrente elétrica exógena em conjunção com forças ortodônticas demonstraram atividades celulares acentuadas no ligamento periodontal e no osso alveolar, bem como uma movimentação dentária experimental rápida. Ao todo, estes achados sugeriram que as respostas piezoelétricas propagadas pela deflexão óssea em decorrência da força ortodôntica poderiam funcionar como eixo dos primeiros mensageiros.

A partir da exposição destes achados, ficou evidente que nenhuma das teorias ofereceu evidência conclusiva sobre a natureza detalhada do mecanismo

biológico da movimentação ortodôntica. Estudos teciduais, histoquímicos e imuno-histoquímicos no século XX e no início do século XXI demonstraram que muitos fenômenos, tanto físicos como biológicos, estão envolvidos na movimentação ortodôntica. Quando forças mecânicas são aplicadas, células, matriz extracelular do ligamento periodontal e osso alveolar respondem concomitantemente, resultando na remodelação óssea. Durante as fases iniciais da movimentação ortodôntica, o ligamento periodontal é deslocado, produzindo distorções da célula e da matriz bem como interação entre estes elementos. Em resposta a estes eventos físico-químicos e interações, citocinas, fatores de crescimento e outros mediadores químicos são liberados, iniciando e mantendo a atividade remodeladora que facilita a movimentação.<sup>59</sup>

## **2.2 Histomorfologia do periodonto de ratos frente à movimentação dentária experimental**

A literatura está repleta de pesquisas sobre a movimentação dentária induzida realizada em ratos, desde os estudos em nível tecidual até em nível molecular. Com relação às descrições histomorfológicas dos eventos que ocorrem durante a movimentação, recorreu-se a alguns estudos clássicos que estão resumidamente dispostos a seguir.

Um dos primeiros estudos realizados em ratos a fim de estudar os efeitos da movimentação dentária induzida pode ser atribuído ao estudo de Waldo e Rothblatt, em 1954,<sup>60</sup> no qual propuseram por meio da inserção de uma ligadura elástica entre o primeiro e o segundo molar superior do rato, promover a movimentação dentária. Este estudo clássico, que descreveu o renomado método

de Waldo e que hoje é muito criticado, caracterizava-se pela simplicidade no procedimento, apesar de apresentar pouco controle na intensidade da força para promover a movimentação dentária induzida. Depois, outros autores<sup>61,62</sup> também seguiram o mesmo protocolo estudando as respostas teciduais ocorridas em diferentes tempos após a inserção da ligadura elástica.

As reações evidenciadas no lado de compressão podem ser sintetizadas como se segue. Após 6 horas, houve uma predominância das fibras do ligamento periodontal comprimido sem aparentar limite definido no terço médio da raiz.<sup>61</sup> Com poucos capilares, poucos núcleos celulares, sendo os núcleos picnóticos pertencentes aos fibroblastos, observou-se ainda alguns osteoblastos nas áreas adjacentes.<sup>62</sup> Em muitos cortes houve indicativo do início da hialinização,<sup>61</sup> a qual foi referido como sendo uma associação de material de degradação celular, rompimento dos vasos e extravasamento dos seus conteúdos no tecido conjuntivo.<sup>34,36,47,63</sup>

Na porção cervical da crista óssea cervical, observou-se um arranjo peculiar das fibras colágenas em forma de alças.<sup>62</sup> Após 12 horas, observou-se desorganização das fibras; inclusão de alguns fibroblastos com núcleos picnóticos na área de hialinização. Observou-se também tanto na superfície do osso alveolar adjacente às áreas de hialinização como nos espaços medulares presença de osteoclastos.<sup>62</sup> No lado oposto à superfície do osso alveolar, no espaço medular, adjacente às áreas de reabsorção óssea, notou-se presença de numerosos osteoblastos, ao mesmo tempo, os vasos sanguíneos foram vistos nas proximidades das áreas de reabsorção.<sup>61</sup> Após 24 horas, houve estreitamento agravado do espaço periodontal, apresentando vasoconstrição localizada ou até

desaparecimento dos capilares e áreas de hialinização com variadas extensões e localizações.<sup>60,61,62</sup> Observou-se claramente presença de reabsorção indireta adjacente às áreas hialinas e reabsorção direta do osso alveolar em locais onde não houve hialinização, com cavidades cobertas pelos osteoclastos.<sup>62</sup> Após 48 horas, evidenciou-se persistência de áreas de hialinização com uma reabsorção óssea mais avançada, circundadas por fibrilas e fibroblasto. Em algumas lacunas, afastadas da região hialinizada, estavam repletas de fibroblastos, capilares e finas fibrilas de pré-colágeno. Algumas dessas fibrilas estavam incluídas no osso alveolar.<sup>62</sup> Depois de 3 dias, houve um aumento na intensidade dos eventos de reabsorção óssea, associada à hemorragia intensa e proliferação celular. As fibrilas finas no tecido de granulação da lacuna apresentaram-se em forma de redes, e muitas dessas fibrilas estavam incluídas no osso com exceção daquelas localizadas adjacentes às áreas com osteoclastos.<sup>61,62</sup> Após 5 dias, a maior parte das áreas de hialinização foram substituídas por tecido de granulação e as fibrilas anastomosavam entre si formando rede, ocorrendo ao mesmo tempo feixes de fibras incluídas no osso.<sup>62</sup> Observou-se também que não somente o quadrante do dente experimental que apresentou resposta, mas também o hemi-arco antagonista, como indícios de adaptações oclusais frente a presença da ligadura elástica.<sup>60</sup>

Decorrido de 7 dias, observou-se presença de pequenas ilhotas de hialinização sem contato com o osso alveolar e pequenas quantidades de osteoclastos junto à crista alveolar. Por outro lado, evidenciou-se presença de reabsorção radicular nas regiões próximas ao tecido de granulação localizado na porção cervical do dente. Já aos 14 dias, observou-se substituição completa de toda área hialinizada pelos tecidos de granulação com fibrilas pré-colágenas,

associad às pequenas quantidades de osteoclastos. Adjacente a estas áreas, odontoclastos e reabsorção radicular também foram evidentes. Aos 21 dias, observou-se osteoblastos, tecido osteóide e aposição óssea na porção mesial das raízes do primeiro molar, e osteoclastos e reabsorção óssea na porção distal em alguns cortes. Evidenciou-se reparação parcial da área radicular reabsorvida pelo cimento secundário e retorno à normalidade da espessura dos espaços periodontais, distal e mesial.<sup>62</sup>

De acordo com Kvam,<sup>64</sup> no lado de compressão, a quantidade de cementoblastos diminuiu em relação ao lado controle, enquanto que os osteoblastos encontravam-se em maior número em relação ao controle. Estes indícios sugeriam os comportamentos diferentes dessas células frente a um estímulo mecânico.

Especificamente com relação aos locais de reabsorção, Kurihara<sup>65</sup> observou presença de variados tipos de osteoclastos, a saber, os osteoclastos pequenos situados mais distantes da superfície óssea, grandes osteoclastos ricos em retículo endoplasmático rugoso, os osteoclastos grandes e os osteoclastos em degeneração. Ao mesmo tempo, nestes locais também estavam presentes dois tipos de células indiferenciadas, além dos macrófagos, um tipo celular com coloração mais clara em forma de bastão e, outro, com uma coloração mais escura e forma mais arredondada rico em mitocôndrias e ribossomos livres.

Com relação ao lado de tensão, após 6 horas, houve estiramento das fibras periodontais, diminuição de osteoclastos, estiramento e diminuição em espessura das fibras transseptais gengivais.<sup>61,62</sup> Um achado comum nos fibroblastos foi o alongamento dos seus núcleos na direção do estiramento das fibras periodontais.<sup>61</sup>

Após 12 horas, as fibras periodontais e gengivais mantiveram estiradas e houve proliferação dos fibroblastos e desaparecimento dos osteoclastos.<sup>62</sup> As luzes dos vasos exibiram forma ovóide, os núcleos dos fibroblastos se tornaram mais arredondados contrastando com os núcleos picnóticos do lado de compressão.<sup>61</sup> Depois de 24 horas, o quadro histológico se apresentou de forma similar, porém com uma intensidade de proliferação celular maior, podendo ser observado esporadicamente a camada de tecido osteóide e aparecimento de osteoblastos nas superfícies ósseas. Além disso, muitas fibras previamente estiradas ficaram mais frouxas.<sup>61,62</sup> Após 48 horas, observou-se presença de osteoblastos e cementoblastos, a aposição óssea avançou progressivamente e algumas trabéculas se formaram ao longo das fibras estiradas na área da crista do septo alveolar. Iniciou-se também a deposição do cimento, porém com pouca alteração no ligamento peridontal. Após 3 dias, maior quantidade de trabéculas ósseas puderam ser encontradas ao longo das fibras estiradas e os feixes das fibras mostraram padrões similares em relação ao lado controle, profundamente incluídas no osso alveolar. Aos 5 e 7 dias, a nova camada de osso tornou-se mais espessa e o tamanho das trabéculas ósseas aumentaram em tamanho, presenciando poucos osteoblastos, que foram bastante numerosos até o quinto dia.<sup>61,62</sup> Após 14 dias pós-inserção da ligadura elástica, os osteoblastos tornaram-se difíceis de serem distinguidos, ao mesmo tempo, houve aumento da camada do novo osso formado. Depois de 21 dias, o lado de tensão apresentou aparência tecidual semelhante à do lado de compressão.<sup>62</sup>

De acordo com as observações de Rygh,<sup>66</sup> o lado de tensão apresentou reações teciduais mais sutis em comparação com o lado de compressão, com

menos destruição e necrose do ligamento periodontal. Ao mesmo tempo, as atividades celulares pareceram também manter dentro dos limites fisiológicos com retículo endoplasmático altamente desenvolvido, caracterizando células com alto grau de atividade de síntese.

Utilizando um método diferente daquele proposto por Waldo e Rothblatt para movimentação dentária induzida, Otero *et al.*<sup>67</sup> colocaram uma alça confeccionada com fio de 0,3mm de diâmetro transversal a fim de vestibularizar os molares dos ratos, a qual liberava aproximadamente de 70g de força. Neste trabalho, com intervalo de tempo de 0 hora até 29 dias, os autores destacaram que as áreas de reabsorção óssea ficaram evidentes a partir de 12 horas, atingindo o máximo depois de 48 horas. Além disso, o aparecimento dos osteoclastos começou a intensificar depois de 20 horas, atingindo o máximo depois de 60 horas. Os aspectos histomorfológicos foram semelhantes aos estudos anteriores,<sup>60,61</sup> com diferença apenas quanto ao local onde os eventos ocorreram.

De forma repetitiva, a reação do osso alveolar perante a força ortodôntica também foi interesse de pesquisa ao longo da história da Ortodontia. De acordo com a literatura, há uma unanimidade entre os resultados histológicos clássicos evidenciados<sup>60-62,67</sup> bem como as novas descobertas por meio dos estudos histomorfométricos.<sup>68-75</sup> Em síntese, durante o processo da movimentação dentária induzida, houve deposição óssea na parede alveolar da região de tensão e reabsorção óssea na região de compressão. A reabsorção ocorreu não somente na parede alveolar adjacente à compressão dentro do ligamento periodontal (superfície periosteal), mas também dentro dos espaços inter-trabeculares vasculares (superfície endosteal).

Outros estudos mais específicos com relação à dinâmica celular, os sinais químicos, as alterações via expressão gênica culminaram os estudos desta área de pesquisa nos dias atuais, porém, devido à especificidade do presente estudo estar centrada no aspecto tecidual, esses estudos serão mencionados somente na discussão se houver uma implicação direta com os resultados obtidos.

## **2.2 Diabetes mellitus e o periodonto**

Diabetes mellitus é o termo usado para descrever um grupo de desordens metabólicas caracterizadas pela tolerância alterada de glicose e metabolismo deficiente de carboidratos.<sup>76</sup> Devido aos fatores tais como defeitos na secreção da insulina, na ação da mesma ou em ambos, os pacientes diabéticos apresentam hiperglicemia. Simultaneamente, alterações no metabolismo de lipídeos e proteínas podem ser observadas. A hiperglicemia está associada à disfunção crônica e danos de numerosos órgãos, com efeitos marcantes nos olhos, rins, coração, nervos e vasos sanguíneos.<sup>76</sup>

Diabetes é uma doença que afeta todas as idades, com o pico de incidência durante a quinta década de vida. A incidência de diabetes aumenta com a idade e uma vez que a expectativa de vida da população aumenta, o número de pacientes diabéticos aumentará também. Em 1997, uma estimativa de 124 milhões de pessoas no mundo tem sido diagnosticada com esta doença, e por volta de 2010, o número total de pessoas com diabetes foi estimado para 221 milhões.<sup>77</sup> Aproximadamente 3 a 10% de todos os pacientes diabéticos apresentam diabetes tipo 1,<sup>77,78</sup> a categoria que varia dramaticamente de acordo com o grupo racial e com os países onde foram realizados os levantamentos epidemiológicos.<sup>1</sup> Há uma

diferença evidente entre hemisfério norte e sul, com uma alta incidência para a população da Europa e América do Norte. Na Europa, existe uma variação ampla intra-continental, variando desde o máximo, de 35,3 por 100000 da população na Finlândia, e para o mínimo, de 4,6 para 100000 no norte da Grécia. Em geral, diabetes tipo 1 não apresenta dimorfismo sexual, em alguns casos, este tipo se desenvolve durante a oitava ou nona década de vida. O diabetes tipo 2 é um problema de saúde global que atinge de 5 a 7% da população mundial.<sup>79</sup> Esta prevalência, todavia, pode ter sido subestimada, porque muitos casos, chegando até 50% em algumas populações, continuam sem ser diagnosticados. O diabetes tipo 2 em crianças era considerado raro, responsável por menos de 5% de todos os casos de diabetes durante a infância,<sup>80</sup> entretanto, tem tido relatos de uma incidência aumentada do diabetes tipo 2 na infância nos Estados Unidos, Japão, Singapura e Austrália.<sup>81-85</sup> Nos Estados Unidos, 10% a 20% de crianças adolescentes diabéticos apresentam diabetes tipo 2.<sup>85</sup> Alimentação altamente calórica, diminuição da atividade física, e estresse mental podem contribuir para aumentar o diabetes tipo 2 em crianças e adolescentes.

Atualmente, diabetes mellitus pode ser classificado, segundo os fatores etiológicos, de acordo com a Tabela 1.<sup>76</sup>

Diabetes tem sido tradicionalmente associado a um grupo de complicações micro e macrovasculares. A gravidade da hiperglicemia desempenha papel primário tanto no estabelecimento como a progressão destas complicações. As complicações microvasculares de retinopatia, nefropatia e neuropatia têm sido especificamente associadas a diabetes, e o risco das doenças macrovasculares tem aumentado drasticamente nos pacientes diabéticos.<sup>87</sup>

**Tabela 1** – Classificação de Diabetes mellitus segundo os fatores etiológicos da doença

<p><b>I</b> <b>Tipo 1</b> (destruição das células <math>\beta</math>, geralmente levando à deficiência absoluta de insulina)</p> <p>A. Imuno-mediado</p> <p>B. Idiopático</p> <p><b>II</b> <b>Tipo 2</b> (pode variar desde uma resistência predominante à insulina, com resistência relativa à insulina até um defeito predominantemente secretor com resistência à insulina)</p> <p><b>III</b> <b>Outros tipos específicos</b></p> <p><b>A. Defeitos genéticos funcionais das células <math>\beta</math></b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Cromossomo 12, HNF-1<math>\alpha</math></li> <li>2. Cromossomo 7, glucoquinase</li> <li>3. Cromossomo 20, HNF-4<math>\alpha</math></li> <li>4. Cromossomo 13, fator-1 promotor de insulina</li> <li>5. Cromossomo 17, HNF-1<math>\beta</math></li> <li>6. Cromossomo 2, <i>Neuro D1</i></li> <li>7. DNA mitocondrial</li> <li>8. Outros</li> </ol> <p><b>B. Defeitos genéticos na ação da insulina</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Resistência à insulina tipo A</li> <li>2. Leprechaunismo</li> <li>3. Síndrome Rabson-Mendenhall</li> <li>4. Diabetes Lipotrófica</li> <li>5. Outros</li> </ol> <p><b>C. Doenças exócrinas do pâncreas</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pancreatite</li> <li>2. Trauma/Pancreactomia</li> <li>3. Neoplasias</li> <li>4. Cistos</li> <li>5. Hemocromatose</li> <li>6. Fibrocálculos pancreatopatia</li> <li>7. Outros</li> </ol>	<p><b>D. Endocrinopatias</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Aromegalia</li> <li>2. Síndrome de Cushing</li> <li>3. Glucagonoma</li> <li>4. Feocromocitoma</li> <li>5. Hipertireoidismo</li> <li>6. Somatostatina</li> <li>7. Aldosteronoma</li> <li>8. Outros</li> </ol> <p><b>E. Induzidos por drogas ou químicos</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Vacor</li> <li>2. Pentamidina</li> <li>3. Ácido nicotínico</li> <li>4. Glicocorticóides</li> <li>5. Hormônio da tireóide</li> <li>6. Diazóxido</li> <li>7. Agonistas <math>\beta</math>-adrenérgicos</li> <li>8. Tiazidos</li> <li>9. Dilantina</li> <li>10. Interferon-<math>\alpha</math></li> <li>11. Outros</li> </ol> <p><b>F. Infecções</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Rubéola congênita</li> <li>2. Citomegalovirus</li> <li>3. Outros</li> </ol> <p><b>G. Formas incomuns de diabetes imuno-mediados</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Síndrome de "Stiff-man"</li> <li>2. Antígenos de receptores inulínicos</li> </ol> <p><b>H. Síndromes genéticas às vezes associadas a diabetes</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Síndrome de Down</li> <li>2. Síndrome de Klinefelter</li> <li>3. Síndrome de Turner</li> <li>4. Síndrome de Wolfram</li> <li>5. Ataxia de Friedreich</li> <li>6. Corea de Huntington</li> <li>7. Sínd. de Lawrence Moon Beidel</li> <li>8. Disrofia Miotônica</li> <li>9. Profíria</li> <li>10. Síndrome de Prader Willi</li> </ol> <p><b>IV</b> <b>Diabetes gestacional</b></p>
---	--

A hiperglicemia resulta em alterações no metabolismo lipídica bem como a glicação não-enzimática de proteínas tais como o colágeno. Estas alterações provocam disfunção das membranas celulares e alterações nas interações célula-célula e célula-matriz. Isto pode levar ao aumento em espessura da parede vascular e formação de arteromas e microtrombos em grandes vasos, e alterações na função das células endoteliais e permeabilidade vascular nos pequenos vasos.<sup>87</sup>

A glicação de proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos em pacientes diabéticos resultam no acúmulo dessas proteínas glicadas nos pequenos vasos sanguíneos dos órgãos terminais como retina, região endoneural e nas paredes dos grandes vasos.<sup>88,89</sup> Essas proteínas glicadas, conhecidas como produtos terminais de glicação avançada (AGEs) são formadas tanto em pacientes diabéticos como não-diabéticos, entretanto, o acúmulo é intensamente aumentado nos diabéticos que mantêm a hiperglicemia. Como consequência, observa-se aumento de espessura da membrana basal na retina e nos nervos, espessamento da matriz mensagial no glomérulo, e acúmulo de colágeno em vasos maiores. O efeito acumulativo é um estreitamento progressivo da luz do vaso e diminuição da perfusão dos órgãos afetados.

Os AGEs se formam sobre o colágeno, aumentando o *cross-linking* do mesmo, resultando na formação de macromoléculas de colágeno altamente estáveis que são resistentes à degradação normal enzimática e *turnover* tecidual.<sup>88,89</sup> Nas paredes dos vasos sanguíneos, o colágeno modificado por AGEs se acumula, aumentando o espessamento das paredes e estreitamento da luz. A formação do AGE ocorre tanto nas artérias centrais como periféricas, contribuindo significativamente para as complicações macrovasculares dos diabéticos. O colágeno modificado por AGE nas paredes dos vasos faz *cross-link* por ligação covalente com as lipoproteínas circulantes de baixa densidade, contribuindo para arterosclerose. A modificação do colágeno também ocorre na membrana basal dos pequenos vasos sanguíneos. Mais uma vez, o colágeno modificado por AGE se acumula e aumenta a espessura da membrana basal, alterando o transporte homeostático através da membrana.

Os AGEs têm seus efeitos principalmente ao nível celular. Um receptor para AGE conhecido como RAGE (receptor de AGE) foi identificado na superfície das células endoteliais, neurônios, células do músculo liso, e monócitos e macrófagos. A hiperglicemia resulta na expressão aumentada do receptor e aumento na interação AGE-RAGE. O efeito sobre as células endoteliais é um aumento na permeabilidade vascular e formação de trombos. AGEs também são quimiotáticos por monócitos. A interação entre AGEs e o receptor RAGE sobre a membrana dos monócitos/macrófagos induz aumento do estresse celular oxidante e ativa a transcrição do fator NF-κB. Isto sinaliza uma alteração no fenótipo monócito/macrófago e resulta no aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias tais como interleucina 1 (IL-1) e fator de necrose tumoral, e fatores de crescimento tais como fatores derivados de plaquetas, fatores de crescimento insulina similar.<sup>6,90</sup>

O periodonto está constituído principalmente por colágeno, assim, as alterações no colágeno, conseqüentemente, podem contribuir para alterar a resposta da reparação bem como a iniciação e a progressão da doença periodontal. Estudos em animais mostraram que os fibroblastos da pele e da gengiva dos animais diabéticos produzem menor quantidade de colágeno e glicosaminoglicanas.<sup>91,92</sup> A taxa de produção do colágeno pode ser restaurada pela administração de insulina para normalizar o nível de glicose no sangue.<sup>93</sup> Além de diminuir a síntese, o colágeno neoformado é susceptível pela degradação da colagenase, uma metaloproteinase da matriz que é elevado em tecidos em estado diabético, incluindo o periodonto.<sup>94,95</sup> A fonte primária da colagenase no fluido gengival cervical dos pacientes diabéticos parece ser os neutrófilos.<sup>95</sup> Nos

pacientes diabéticos esta forma de collagenase ativa aparece com uma porcentagem maior quando comparado com pacientes não diabéticos.<sup>96</sup>

Alterações específicas na formação e reabsorção óssea têm sido associadas ao diabetes mellitus.<sup>97</sup> O metabolismo ósseo é prejudicado tanto pelo efeito direto da hiperglicemia como pelos efeitos a longo prazo da doença vascular, os quais são mais evidentes nos pacientes diabéticos tipo 1.<sup>98</sup>

A insulina é um regulador fisiológico da formação óssea,<sup>97,99</sup> seu papel na manutenção da síntese de colágeno no osso pode explicar algumas observações clínicas como: crescimento esquelético diminuído em pacientes jovens diabéticos tipo 1 e maior incidência de osteoporose em pacientes diabéticos.<sup>100</sup> Segundo Verhaeghe *et al.*<sup>101</sup> a osteoporose diabética está associada à deficiência de insulina ou de fatores de crescimento insulina símile. No diabetes mellitus tipo 1, os níveis de fator de crescimento insulina símile tendem a ser baixos ou nos limites inferiores da normalidade.<sup>102,103</sup>

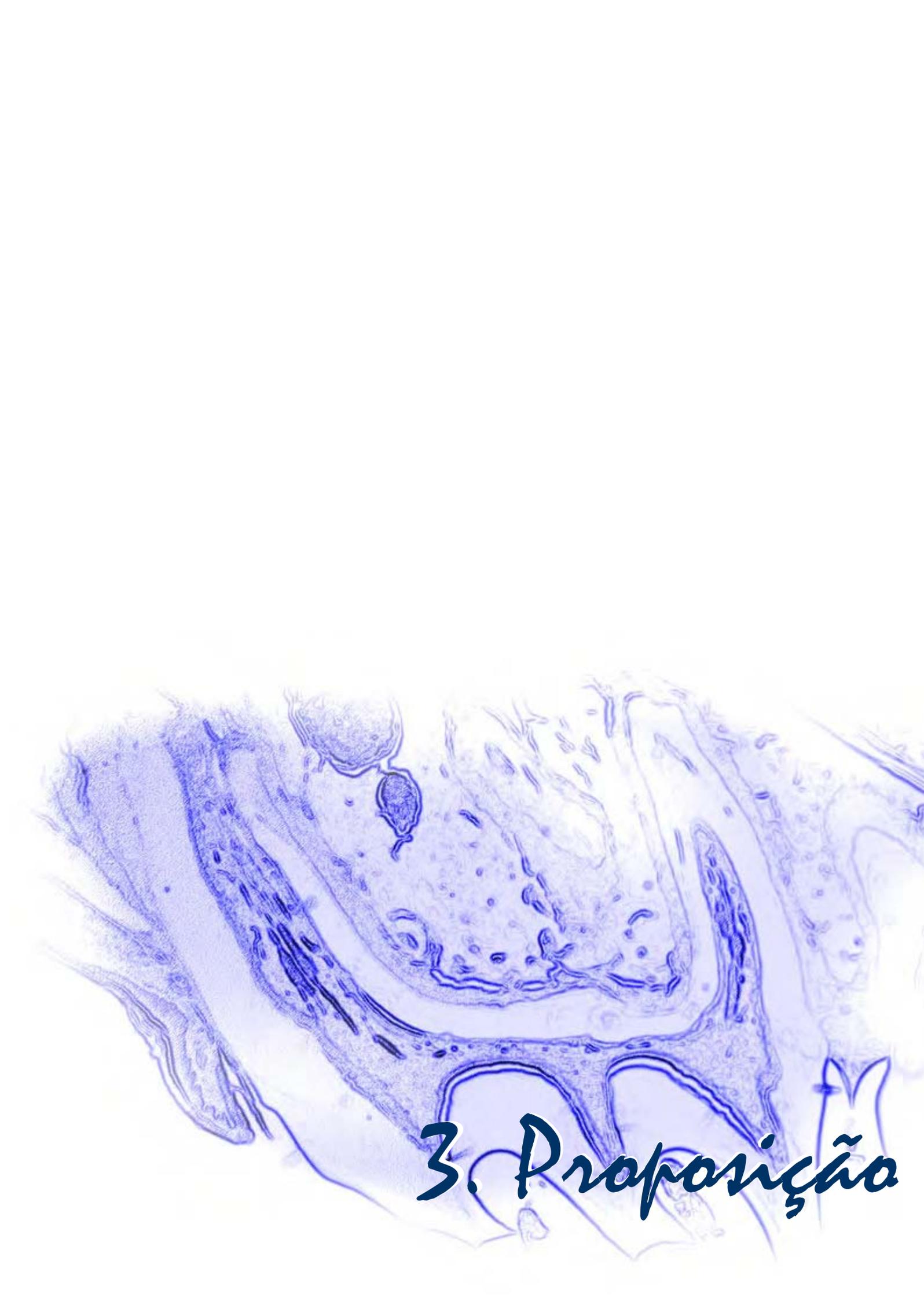
Em ratos diabéticos induzidos experimentalmente, evidenciou-se diminuição da síntese de matriz osteóide e redução no número de osteoclastos, mas o controle da doença com insulina tenderia a reverter este quadro.<sup>104</sup>

Em ratos portadores de diabetes espontâneos, verificou-se diminuição do número de osteoblastos e de aposição óssea, enquanto que os osteoclastos apareceram em quantidades normais. Este desequilíbrio osteoblástico pode resultar na redução do conteúdo mineral e na resistência óssea,<sup>101</sup> o que pode ser corrigido com o controle glicêmico.<sup>105</sup>

Avaliações histológicas revelaram que em animais diabéticos descompensados, a formação da estrutura colágena no alvéolo de dentes extraídos,

foi inibida, resultando em cicatrização deficiente e perda óssea.<sup>95,106</sup> Da mesma forma, a formação óssea, após colocação de implantes em ratos, mostrou-se diminuída no grupo diabético, devido à inativação dos osteoblastos seguidos dos osteoclastos, diminuição da síntese de proteínas, resultando em depressão do ciclo de metabolismo ósseo.<sup>107</sup> Nevis *et al.* apesar de terem observado quantidades semelhantes de osso neoformado em torno do implante, relataram a aparência imatura e desorganizada desse osso e taxa reduzida de osteointegração nos animais diabéticos quando comparados com os animais normais.<sup>97</sup>

No trabalho de Holtgrave e Donath,<sup>4</sup> mostrou-se que a presença do estado diabético reduziu a capacidade da resposta tecidual frente à movimentação dentária induzida. Uma resposta similar também foi encontrada por Antonio,<sup>22</sup> onde observou uma resposta tecidual desorganizada e mais demorada para o grupo diabético, apesar de não haver diferença estatisticamente significativa com relação à velocidade da movimentação dentária em termos macroscópicos.



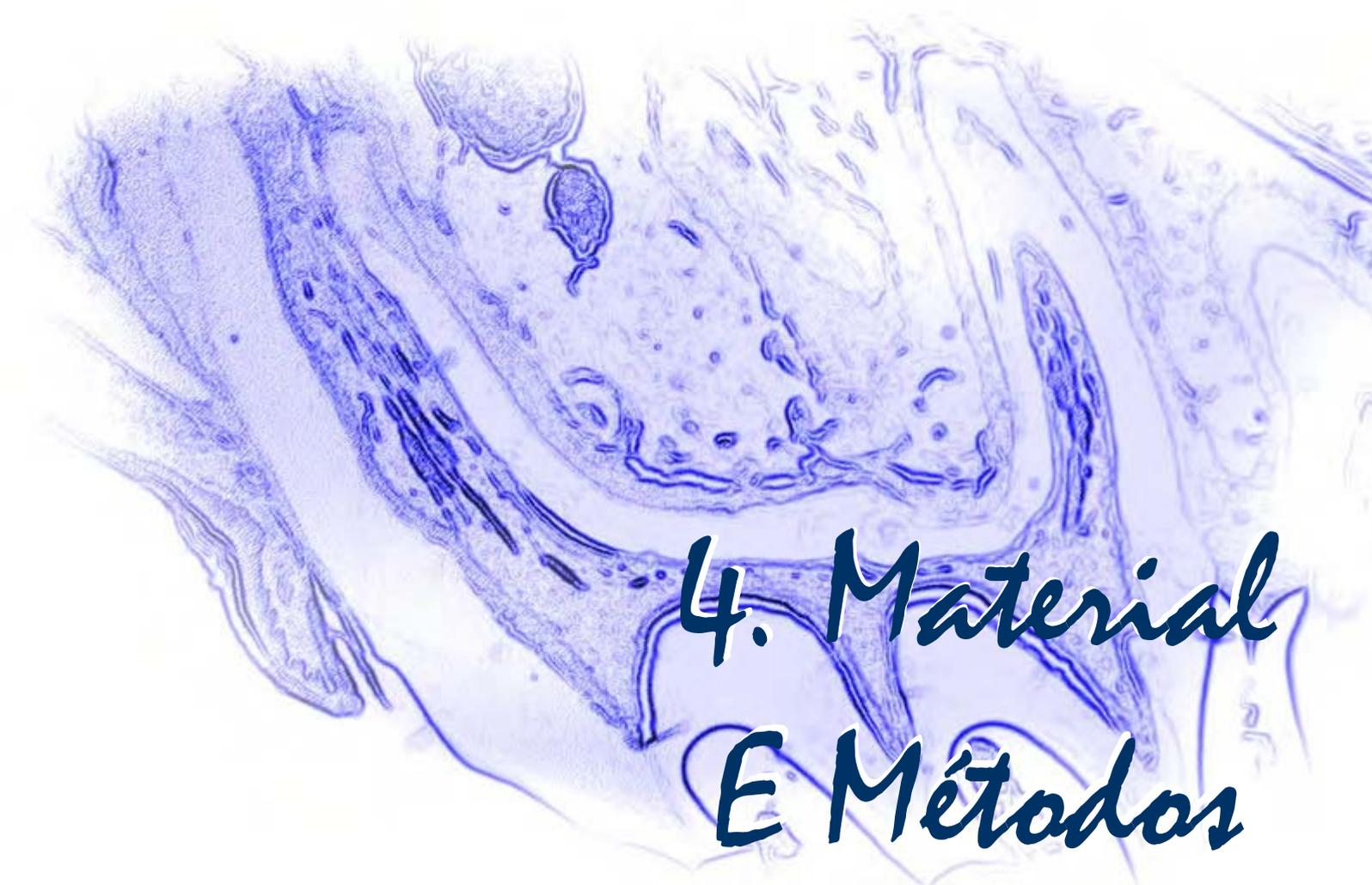
### 3. Proposição



# PROPOSIÇÃO

*D*iante do exposto, o presente estudo objetivou avaliar as alterações histomorfométricas e histomorfológicas do periodonto frente à movimentação dentária induzida em ratos portadores de diabetes mellitus induzidos experimentalmente. Especificamente, procedeu-se:

1. Comparação macroscópica quantitativa da movimentação dentária entre ratos normais e diabéticos;
2. Comparação microscópica quantitativa das alterações das áreas periodontais entre ratos normais e diabéticos;
3. Descrição histomorfológica qualitativa das alterações do periodonto dos ratos normais e dos diabéticos.



# 4. Material E Métodos



# MATERIAL E MÉTODOS

## **4.1 Material**

Estando devidamente aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal – CEEA, protocolo 98/05, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, o presente estudo utilizou 40 ratos machos (*Rattus norvegicus*, Wistar), pesando entre 250 a 320 gramas, sendo 20 ratos do grupo diabético e 20 ratos do grupo normal.

## **4.2 Métodos**

### **4.2.1 Processamento dos animais**

Para a realização do experimento, submeteu-se os animais, respectivamente, à ambientação durante 7 dias, à fase de indução, à fase de

movimentação dentária, à eutanásia aos 3, 7, 14 e 21 dias pós-movimentação e ao processamento histológico. Para ambientação, todos os animais foram mantidos em gaiolas, em número de dois animais por gaiolas, com temperatura ambiente, arejado, alimentados com ração moída\* e água *ad libitum*.

### **Fase de indução**

Após a ambientação, seguiu-se à fase de indução. Para isso, manteve-se os animais em estado de jejum por um período de 14 a 16 horas, e depois, sob anestesia de éter etílico, aplicou-se no Grupo 1 (n = 20), por via endovenosa na veia peniana, tampão citrato a 0,01Mol caracterizando o Grupo Normal; e, no Grupo 2 (n = 20), pela mesma via, estreptozotocina dissolvida em tampão citrato a 0,01Mol, pH 4,5, protegida da luz, sob concentração de 35mg/Kg, caracterizando o Grupo Diabético.<sup>108</sup>

Para averiguar o resultado da indução de diabetes, realizou-se controles, no início e no final antes do sacrifício, das taxas de glicemia dos ratos de ambos os grupos por meio da coleta de sangue. Previamente à coleta, colocou-se os animais em caixas de aquecimento para induzir a vasodilatação periférica e após corte da cauda do animal a 2 mm de sua extremidade distal, as amostras de sangue foram obtidas e levadas a um sistema automático de monitoração da glicemia<sup>†</sup> contendo tira de teste indicada para o sistema.<sup>108</sup>

No terceiro ou quarto dia após a indução, todos os animais foram anestesiados, via intramuscular, usando Coopazine<sup>‡</sup> e Vetaset<sup>§</sup> na dosagem de

---

\* Ração ativada Produtor - Anderson & Claiton S.A

† Accu-chek® advantage Meter - Roche

‡ Relaxante muscular: Xilazina - Coopers. Ltda.

§ Anestésico: Cloridrato de quetamina Fort Dodge, Saúde Animal Ltda.

acordo com as recomendações do fabricante (Tabela 2). Com o animal sedado, iniciou-se os procedimentos para a instalação do aparelho para movimentação dentária.

**Tabela 2** – Relação das doses do relaxante muscular e do anestésico utilizada no presente estudo.

Peso do Rato	Coopazine	Vetaset
175-225g	0,06ml	0,14ml
226-275g	0,08ml	0,18ml
276-325g	0,09ml	0,21ml
326-375g	0,11ml	0,24ml
376-415g	0,12ml	0,28ml

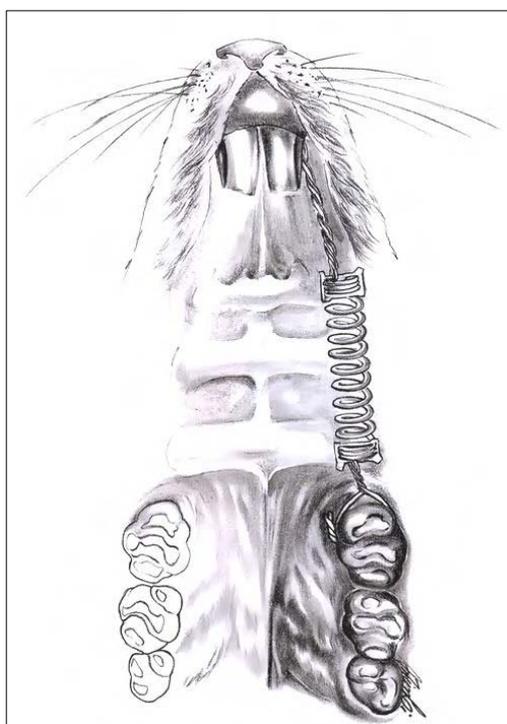
### Fase de movimentação dentária

O procedimento de instalação do aparelho adaptou-se dos métodos descritos por Verna, Dalstra e Melsen.<sup>21</sup> O aparelho consistiu de uma mola cuja luz tem um diâmetro de 0,56mm (Sentalloy®, GAC, Nova York, NY, Estados Unidos), calibrada para liberar 25 cN de força (Fig. 1); sendo amarrada com fios de amarrilho de 0,20 mm de diâmetro transversal (Morelli, Brasil) nas extremidades mesial e distal, respectivamente, nos dentes incisivos superiores e no primeiro molar superior esquerdo. Nas extremidades das molas, havia anéis que seriam usados para amarrações, mas devido aos seus tamanhos inadequados, estes foram cortados (Fig. 2). Na região cervical dos incisivos, utilizou-se uma ponta diamantada cônica fina KG 2200, (KG Sorensen, São Paulo, Brasil) para criar sulcos de retenção a fim de alojar o fio de amarrilho, o qual é protegido por uma camada de resina composta auto-polimerizável Concise (3M Unitek, Sumaré, SP, Brasil).

Para diminuir a variabilidade individual, o próprio animal serviu como controle. Instalou-se a mola somente no lado esquerdo, o lado experimental, enquanto que no lado direito, o controle, não se colocou nenhum acessório ortodôntico (Fig. 2). Realizou-se a eutanásia dos ratos, respectivamente nos dias 3, 7, 14 e 21 dias após o início da movimentação dentária induzida, por meio de inalação excessiva de éter etílico.



**Fig. 1** – Mola de secção fechada Sentalloy® utilizada para o presente estudo.

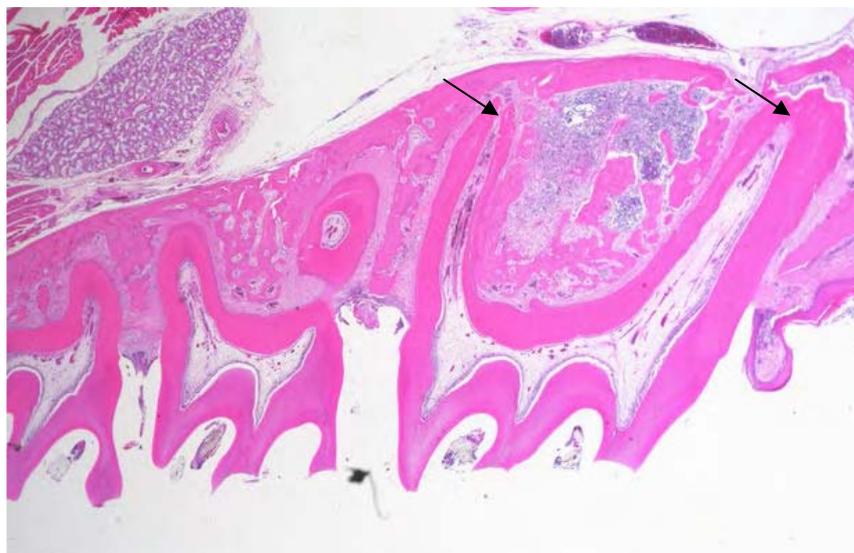


**Fig. 2** - Desenho esquemático dos fios amarrando aos incisivos e ao primeiro molar superior esquerdo, e a ativação da mola para movimentação dentária.

### Eutanásia e processamento histológico

Após eutanásia, seccionou-se e coletou-se as hemi-maxilas experimental e controle, preservando apenas as regiões dos molares, para serem fixadas em formol neutro a 10% por no mínimo 24 horas. Após fixação, lavou-se as peças anatômicas em água corrente por 24 horas e descalcificadas em solução de E.D.T.A a 18%. Posteriormente à descalcificação, procedeu-se a desidratação, clarificação e inclusão em parafina.

Com as peças anatômicas incluídas em parafina e montadas em blocos, submeteu-se estas peças aos cortes seriados no sentido para-sagital da peça com 6  $\mu\text{m}$  de espessura. Dispondo os cortes seriados em grupo de três cortes por lâmina, procedeu-se a coloração convencional utilizando hematoxilina e eosina.



**Fig. 3** – Fotografia demonstrando o corte para-sagital de interesse, cuidado foi tomando para obter as raízes no seu longo eixo maior. Note a continuidade da câmara pulpar e da polpa radicular até o terço apical das raízes (setas). (Aumento original 1,6x).

Durante o processo de corte, tomou-se o cuidado de posicionar o bloco de parafina para conseguir cortes para-sagitais que englobam o maior longo eixo das raízes méso-vestibular e disto-vestibular do primeiro molar superior, sendo

primordial para esta finalidade a visualização contínua da câmara pulpar e da polpa radicular até o terço apical das raízes (Fig. 3).

#### **4.2.2 Processamento e análises de imagens**

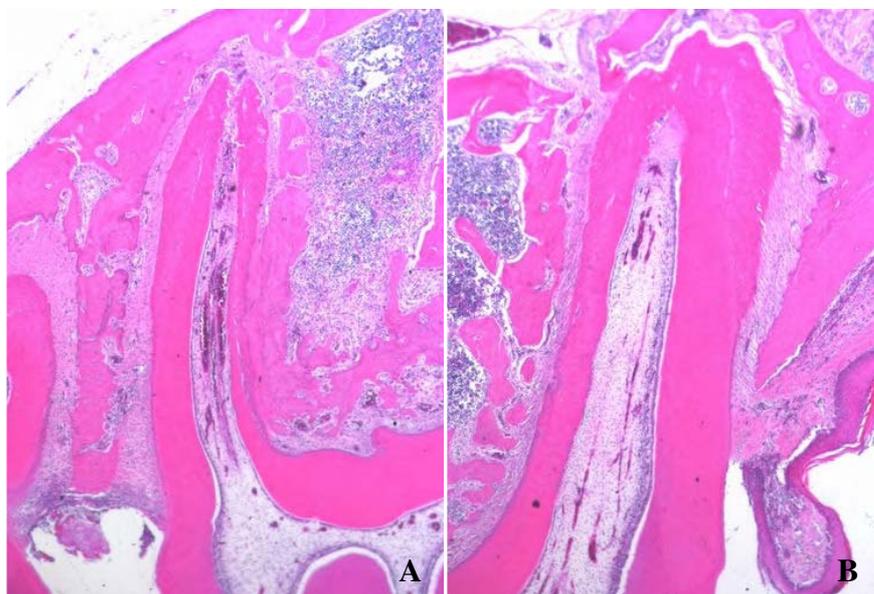
Na fase do processamento e análise de imagens, procedeu-se, respectivamente, captura de imagens, delimitação dos quadrantes de interesse, mensuração das áreas do ligamento periodontal dentro dos quadrantes, análises quantitativas e análises qualitativas.

##### **Captura de imagens**

Com as lâminas preparadas, selecionou-se o melhor corte para-sagital de cada hemi-maxila do animal para ser submetido à captura de imagens, que procurou respeitar ao máximo os seguintes critérios: 1) Visualização da continuidade da câmara pulpar e da polpa radicular até o término do terço apical; 2) Integridade do primeiro molar; 3) Integridade das estruturas periodontais; e 4) Mínimo de artefato no corte.

A captura de imagem se procedeu por meio da utilização de uma lupa estereomicroscópica Stemi 2000C (Carl Zeiss, Göttingen, Alemanha), no qual estava acoplada uma câmera microscópica Carl Zeiss AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Göttingen, Alemanha) e uma fonte de luz transmitido por fibra óptica KL 1500 LCD (Schott, Mainz, Alemanha). O computador utilizado para o armazenamento das imagens possuía configuração de Pentium 4, Processador Intel, Memória RAM de 512Mb, plataforma Windows XP e o software utilizado para esta finalidade foi AxioVision 4.5 (Carl Zeiss, Göttingen, Alemanha ).

Usando a lupa estereomicroscópica, ampliou-se as regiões de interesse em 5,0x, para logo em seguida, capturar a imagem sob uma fonte de luz de temperatura de 2950 K. Durante a captura de imagem, a posição da lâmina com o corte foi ajustada de acordo com o campo de visão da lupa que aparecia na tela do monitor, até conseguir obter a visualização de toda região da raiz méso-vestibular ou disto-vestibular. A ampliação de 5,0x impossibilitou a presença simultânea das raízes méso e disto-vestibular, portanto, a imagem de cada raiz foi capturada separadamente (Fig. 4).



**Fig. 4** – Imagens capturadas pela lupa estereomicroscópica das raízes de interesse para o estudo. **A.** Imagem da raiz disto-vestibular ampliada originalmente em 5,0x. **B.** Imagem da raiz méso-vestibular ampliada originalmente em 5,0x.

Uma vez dentro do computador, editou-se as imagens apenas para melhorar a tonalidade da coloração, sem alterar a dimensão da imagem capturada. Com a imagem editada aproximando ao máximo possível à coloração real dos cortes, ela foi armazenada para posterior uso.

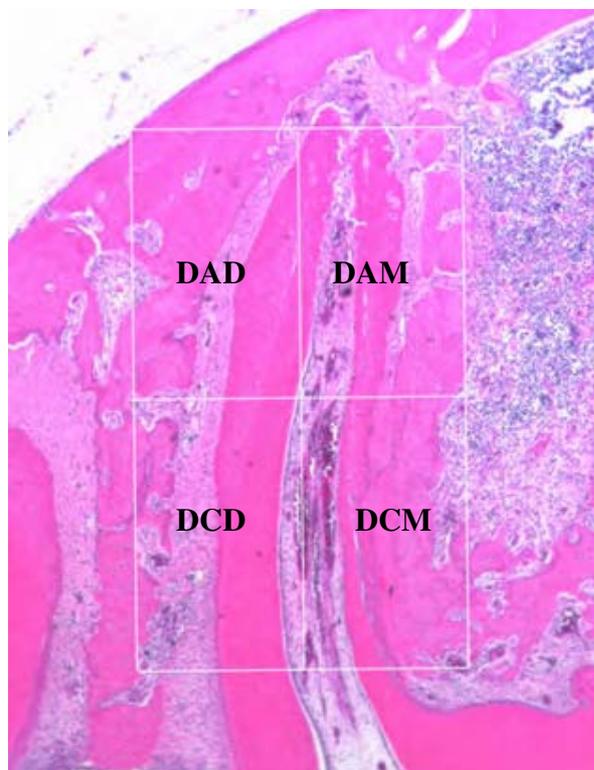
### **Delimitação dos quadrantes de interesse**

Antes da mensuração, delimitou-se quatro quadrantes ao longo das raízes de interesse, utilizando-se o programa Corel Photo-Paint X3 (Corel Corporation, Ottawa, Ontário, Canadá). Para a delimitação dos quadrantes, utilizou-se a ferramenta auxiliar **Grade** do menu **Visualizar**. A **Grade** serviu para padronizar o tamanho dos quadrantes. Com a **Grade** que permitia visualizar a divisão da imagem, utilizou-se a ferramenta **Linha** para realizar os traçados dos quadrantes. Primeiramente, traçou-se uma caixa retangular. Esta caixa retangular apresentava uma largura que incluía uma parte do osso alveolar distal e mesial, com o ponto médio da largura localizando-se aproximadamente no meio da raiz de interesse. A altura da caixa retangular, por sua vez, correspondia à altura da porção radicular dentro do osso alveolar.

Após traçar a caixa retangular, dividiu-se esta mesma em quatro quadrantes com a mesma dimensão (largura e altura), acrescentando-se uma linha horizontal e outra vertical. Após os traçados, agrupou-se a caixa retangular e as linhas horizontal e vertical usando a ferramenta **Agrupar**, da barra de ferramenta **Organizar**, do menu **Objeto**. Para finalizar, posicionou-se a caixa retangular dividida com a sua linha vertical ajustada bem próximo do longo eixo da raiz (Fig. 5).

Assim, a imagem final antes de ser submetida para mensuração de áreas apresentava uma caixa retangular dividida em quatro quadrantes denominados, respectivamente, como quadrante cervical mesial (DCM), quadrante cervical distal (DCD), quadrante apical mesial (DAM) e quadrante apical distal (DAD). Somente as raízes disto-vestibulares foram utilizadas para estudo histométrico,

devido à uniformidade em que as raízes se apresentavam dentro das cristas alveolares.



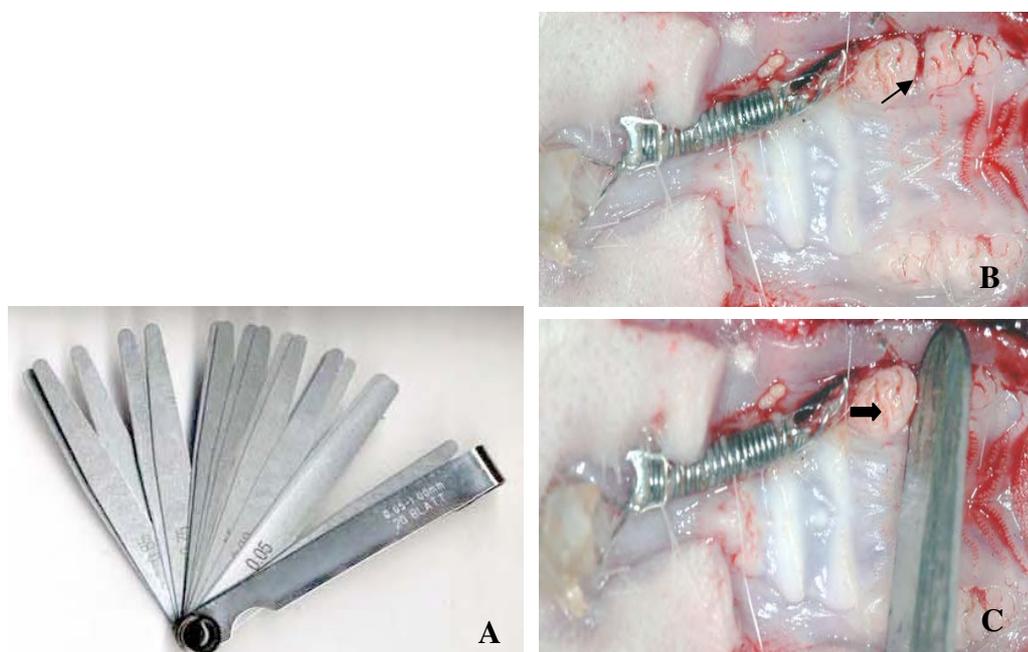
**Fig. 5** – Imagem com os quadrantes delimitando a raiz de interesse para o estudo histométrico. DCM – Quadrante cervical mesial; DCD – Quadrante cervical distal; DAM – Quadrante apical mesial; e DAD – Quadrante apical distal. (Aumento original 5,0x)

### **Mensuração das áreas do ligamento periodontal**

Para a mensuração das áreas, utilizou-se as ferramentas do programa Image-Pro Plus 5.0 (Media Cybernetics, Inc., Bethesda, MD, Estados Unidos). Antes da mensuração, todas as imagens foram previamente calibradas usando a ferramenta **Calibration** do menu **Measure**. Depois, utilizou-se a ferramenta **Irregular AOI** para traçar a área do espaço periodontal. Uma vez traçada a área, o valor mensurado era gerado automaticamente e armazenado no arquivo, para depois ser transferido para o programa Excel. A fim de amenizar o erro sistemático e casual, mensurou-se todas as áreas por três vezes, utilizando-se o valor médio das três mensurações como resultado para comparação.

### Análises quantitativas

As análises quantitativas consistiram de comparações macroscópicas e microscópicas. Nas comparações macroscópicas, mensurou-se o espaçamento existente entre o primeiro e o segundo molar superior por meio da utilização de um calibrador de folga no ato da eutanásia aos 3, 7, 14 e 21 dias, tanto no lado experimental como no lado controle. O calibrador de folga possuía 20 lâminas com espessura, variando em escalas de 0,05mm, de 0,05mm a 1,00mm (Fig. 6). A fim de diminuir o erro sistemático e casual, repetiu-se três vezes cada mensuração. Nas análises microscópicas, as comparações efetuadas estão dispostas na tabela 3. Considerou-se nas comparações os seguintes fatores: 1) Raízes distais e os quatro quadrantes; 2) Controle interno - hemi-maxilas com movimentação e sem movimentação; 3) Ratos normais e diabéticos induzidos experimentalmente; 4) Tempo da eutanásia de 3, 7, 14 e 21 dias.



**Fig. 6** – Mensuração macroscópica. **A.** Calibrador de folga de 20 lâminas variando, em escalas de 0,05mm de espessura, de 0,05mm a 1,00mm. **B.** Espaçamento conseqüente à movimentação (seta). **C.** Posicionando o calibrador de folga no espaçamento.

**Tabela 3 – Variáveis do estudo e as comparações efetuadas**

<b>Variáveis</b>	<b>Comparações</b>
<b>1. Comparação interna do grupo normal e do grupo diabético</b>	1) Comparação entre os DCM do lado controle e experimental do grupo normal e do diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias; 2) Comparação entre os DCD do lado controle e experimental do grupo normal e do diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias; 3) Comparação entre os DAM do lado controle e experimental do grupo normal e do diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias; 4) Comparação entre os DAD do lado controle e experimental do grupo normal e do diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias.
<b>2. Comparação externa entre grupo normal e diabético</b>	1) Comparação entre as áreas do espaço periodontal do DCM do grupo normal e diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias; 2) Comparação entre as áreas do espaço periodontal do DCD do grupo normal e diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias; 3) Comparação entre as áreas do espaço periodontal do DAM do grupo normal e diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias; 4) Comparação entre as áreas do espaço periodontal do DAD do grupo normal e diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias.
<b>3. Comparação externa entre grupo normal e diabético</b>	1) Comparação entre as diferenças de áreas do lado controle e experimental do DCM do grupo normal e diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias; 2) Comparação entre as diferenças de áreas do lado controle e experimental do DCD do grupo normal e diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias; 3) Comparação entre as diferenças de áreas do lado controle e experimental do DCM do grupo normal e diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias; 4) Comparação entre as diferenças de áreas do lado controle e experimental do DAD do grupo normal e diabético respectivamente aos 3, 7, 14 e 21 dias.
<b>4. Comparação em função do tempo</b>	1) Comparação entre os DCM do lado experimental dos ratos normais e diabéticos aos 3, 7, 14 e 21 dias; 2) Comparação entre os DCD do lado experimental dos ratos normais e diabéticos aos 3, 7, 14 e 21 dias; 3) Comparação entre os DAM do lado experimental dos ratos normais e diabéticos aos 3, 7, 14 e 21 dias; 4) Comparação entre os DAD do lado experimental dos ratos normais e diabéticos aos 3, 7, 14 e 21 dias.

Considerando que pode haver influência do crescimento nas alterações dimensionais do espaço periodontal, além de comparar os valores absolutos entre os lados e entre os grupos, comparou-se também as diferenças médias, das áreas do espaço periodontal dos quadrantes, calculadas do lado controle em relação ao experimental entre os grupos normal e diabético.

### **Análises qualitativas**

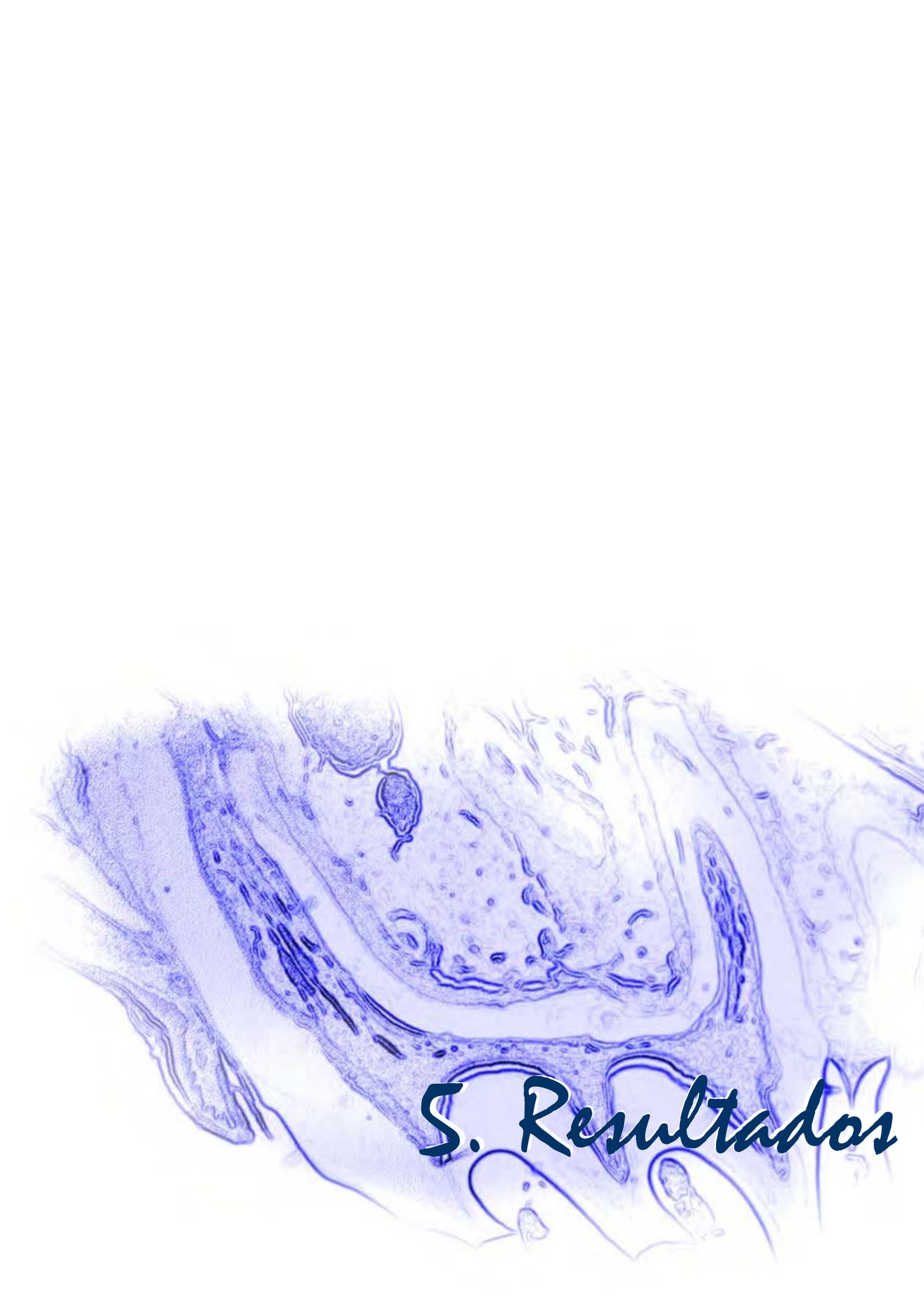
As análises qualitativas consistiram de avaliações subjetivas das morfologias do contorno ósseo, gengival e membrana periodontal, visualização do infiltrado inflamatório, presença de clastos, dos fibroblastos, áreas de hialinização, organização das fibras colágenas, dos vasos sanguíneos e formação do tecido osteóide. Considerou-se para estas análises as faces méso-distais das raízes méso e disto-vestibular.

### **4.2.3 Métodos estatísticos**<sup>110,111,112</sup>

Após a obtenção dos resultados, organizou-se os dados em tabelas para análise estatística por meio do software GraphPad InStat 3,0 para Windows 98 ou versão mais recente (GraphPad Software, San Diego, CA - Estados Unidos, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)). Utilizou-se os seguintes testes foram utilizados:

1. **Teste de normalidade de Kolmogorov e Smirnov:** para verificar a distribuição dos parâmetros quantitativos estudados, uma vez tendo distribuição normal os seguintes testes foram empregados;
2. **Teste *t* para dados emparelhados:** para comparação entre as áreas do espaço periodontal nos quadrantes entre o lado experimental e controle;

3. **Teste *t* para dados independentes:** para comparação entre as áreas do espaço periodontal nos quadrantes entre o grupo normal e diabético, e das diferenças das áreas do lado experimental em relação ao lado controle entre o grupo normal e diabético;
4. **Análise de variância para dados independentes (one-way ANOVA):** para comparação dos parâmetros quantitativos obtidos entre os tempos 3,7,14 e 28 dias, respectivamente, nos ratos normais e diabéticos;
5. **Teste *post-hoc* de Tukey:** para detectar onde se encontrava a diferença após a utilização de ANOVA.
6. **Erro do método:** utilizou-se análise de variância para dados repetidos (one-way ANOVA) para verificar a significância do erro sistemático. Na realização deste teste, selecionou-se aleatoriamente 30 ratos, independentemente do grupo e do tempo, e efetuou-se as comparações entre as três mensurações obtidas macro e microscopicamente a partir desses ratos.



## 5. Resultados



# 5

## RESULTADOS

**A**pós a obtenção dos resultados, organizou-se os dados em forma de tabelas para proceder tratamentos estatísticos. Representou-se também os dados em forma de gráficos para facilitar interpretação. Os resultados obtidos foram categorizados em cinco itens, a saber, erro do método, descrição da glicemia e do peso corporal e dos ratos, análises macroscópicas e microscópicas quantitativas e análises qualitativas.

### **5.1 Erro do método**

O resultado do erro do método, especificamente, o erro sistemático está representado na Tabela 4. Não se observou diferenças significativas entre as três mensurações repetidas tanto para as mensurações macroscópicas como para as microscópicas. Portanto, pode-se dizer que o erro sistemático foi amenizado a

ponto de não influenciar nas conclusões alcançadas sobre as variáveis quantitativas.

**Tabel 4** – Erro sistemático do método das mensurações em nível macroscópico e microscópico

Variáveis	Média da 1 <sup>a</sup>	Média da 2 <sup>a</sup>	Média da 3 <sup>a</sup>	F	p
	Mensuração	Mensuração	Mensuração		
<b>Macro (mm)</b>	0,198	0,202	0,205	2,071	0,1352
<b>DCM (10<sup>3</sup> µm)</b>	54,37	54,98	55,05	1,874	0,1627
<b>DCD (10<sup>3</sup> µm)</b>	110,87	110,33	111,27	1,127	0,3311
<b>DAM (10<sup>3</sup> µm)</b>	63,75	64,73	64,17	1,854	0,1658
<b>DAD (10<sup>3</sup> µm)</b>	85,85	86,05	86,43	0,760	0,4724

Quanto ao erro aleatório, utilizou-se para amenizar esta probabilidade as médias das três mensurações como médias para efetuar as comparações. Assim, pode-se dizer que embora houvesse a presença do erro aleatório, isto apresentou pouca influência sobre as conclusões do presente estudo.

## 5.2 Glicemia e peso corporal dos ratos

As taxas de glicemia dos ratos mensuradas após a indução e antes do sacrifício mostraram que os ratos diabéticos mantiveram em estado diabético no início e no final do experimento, apresentando um valor aproximadamente três a quatro vezes maiores em relação aos ratos normais. Esses dados foram importantes apenas para indicar a manutenção do estado diabético, não sendo necessário efetuar comparações estatísticas (Tabela 5).

**Tabela 5** – Taxas de glicemia dos ratos diabéticos e normais agrupados de acordo com os dias da eutanásia

Grupo diabético			Grupo normal	
Dias	Glicemia inicial	Glicemia final	Glicemia inicial	Glicemia final
3	315	303	98	90
3	381	320	84	86
3	380	378	90	84
3	323	310	101	95
3	377	377	92	96
<b>Média</b>	<b>355,20</b>	<b>337,60</b>	<b>93,00</b>	<b>90,20</b>
7	329	303	94	86
7	316	346	106	110
7	393	428	96	95
7	352	364	112	110
7	376	315	95	98
<b>Média</b>	<b>353,20</b>	<b>351,20</b>	<b>100,60</b>	<b>99,80</b>
14	363	322	93	102
14	310	290	87	93
14	339	314	89	97
14	320	307	109	100
14	340	410	103	101
<b>Média</b>	<b>334,40</b>	<b>328,60</b>	<b>96,20</b>	<b>98,60</b>
21	325	395	91	104
21	332	371	99	109
21	365	398	96	91
21	344	352	103	89
21	332	375	87	92
<b>Média</b>	<b>339,60</b>	<b>378,20</b>	<b>95,20</b>	<b>97,00</b>

Os valores do peso corporal inicial e final de cada animal apresentaram oscilações tanto de perda como de ganho. As perdas de peso foram mais notáveis nos animais sacrificados nos primeiros períodos da fase experimental, os animais

sarificados nos períodos mais tardios mostraram peso acima dos valores iniciais tanto nos ratos diabéticos como nos ratos normais.

**Tabela 6** - Peso inicial e final dos ratos normais e diabéticos (g) agrupados de acordo com os dias da eutanásia

Dias	Grupo diabético		Grupo normal	
	Peso inicial	Peso final	Peso inicial	Peso final
3	275	245	320	310
3	280	260	285	270
3	290	270	300	260
3	285	270	300	290
3	270	250	275	250
<b>Média</b>	<b>280</b>	<b>259</b>	<b>296</b>	<b>276</b>
7	280	270	285	275
7	310	285	310	310
7	295	285	310	300
7	320	320	300	285
7	275	280	295	290
<b>Média</b>	<b>296</b>	<b>288</b>	<b>300</b>	<b>292</b>
14	250	265	295	320
14	250	275	295	310
14	260	280	290	315
14	260	275	300	310
14	260	290	305	320
<b>Média</b>	<b>256</b>	<b>277</b>	<b>297</b>	<b>315</b>
21	250	280	310	350
21	270	295	300	340
21	275	295	320	330
21	260	290	290	335
21	275	300	320	345
<b>Média</b>	<b>266</b>	<b>292</b>	<b>298</b>	<b>340</b>

### 5.3 Análises quantitativas macroscópicas

As dimensões das larguras dos espaços interproximais distais mostraram alteradas quando o lado experimental foi comparado com o lado controle, tanto para os ratos diabéticos como para os normais (Tabela 7). Quando comparou as alterações do lado experimental entre os ratos diabéticos e ratos normais, observou-se diferenças estatisticamente significantes, exceto para o os valores obtidos 3 dias após a movimentação dentária experimental (Tabela 8).

**Tabela 7** – Valores médios (mm) da largura dos espaços interproximais dos quatro grupos

Grupos Dias	Normal experimental	Normal controle	Diabético experimental	Diabético controle
3	0,200	0,003	0,180	0,000
7	0,260	0,002	0,190	0,007
14	0,340	0,020	0,220	0,010
21	0,380	0,000	0,270	0,020

**Tabela 8** – Comparação dos valores médios (mm) da largura do espaço interproximal distal entre o grupo normal e diabético

Grupos Dias	Normal	Diabético	<i>t</i>	<i>p</i>
3	0,20	0,18	1,098	0,304
7	0,26	0,19	3,504	0,008*
14	0,34	0,22	7,530	0,0001*
21	0,38	0,27	7,282	0,0002*

\*Diferenças estatisticamente significantes ao nível de 1%

### 5.4 Análises quantitativas microscópicas

Os resultados das comparações entre as áreas médias do espaço periodontal nos quadrantes do lado experimental e controle dos grupos normal e

diabético estão dispostas, respectivamente, nas tabelas 9 e 10. Tanto para o grupo normal como diabético, as diferenças significantes ocorreram principalmente nos quadrantes cervicais distais (DCD), havendo um aumento das áreas para o lado experimental. Estas diferenças foram mais significantes no grupo normal nos dias 3, 7 e 14, e mais discretas no grupo diabético, ocorrendo no dia 3, 14 e 21 após a movimentação.

**Tabela 9** – Comparações das áreas médias ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais nos quadrantes do lado experimental e controle dos ratos normais nos quatro tempos de estudo

Grupos Quadrantes	Normal Experimental	Normal Controle	<i>t</i>	<i>p</i>
<b>3 DCM</b>	30,84 ± 10,18	72,26 ± 82,74	18,007	0,0004**
<b>3 DCD</b>	130,81 ± 15,24	73,83 ± 11,14	4,564	0,0197*
<b>3 DAM</b>	68,35 ± 23,39	68,12 ± 5,73	0,07211	0,9471
<b>3 DAD</b>	120,45 ± 24,24	76,68 ± 9,36	2,394	0,0964
<b>7 DCM</b>	46,36 ± 19,60	59,34 ± 10,97	2,284	0,0844
<b>7 DCD</b>	118,55 ± 32,01	64,12 ± 14,42	5,540	0,0052**
<b>7 DAM</b>	64,05 ± 14,44	57,52 ± 6,67	0,8627	0,4370
<b>7 DAD</b>	79,36 ± 21,09	59,90 ± 11,90	3,112	0,0358*
<b>14 DCM</b>	57,03 ± 15,65	62,22 ± 14,57	0,6925	0,5267
<b>14 DCD</b>	129,99 ± 36,50	69,15 ± 11,03	4,627	0,0098**
<b>14 DAM</b>	56,66 ± 8,22	60,04 ± 11,32	0,7735	0,4824
<b>14 DAD</b>	101,16 ± 33,54	76,62 ± 5,73	1,689	0,1665
<b>21 DCM</b>	44,95 ± 12,81	69,61 ± 9,67	1,901	0,1976
<b>21 DCD</b>	118,33 ± 18,41	80,88 ± 2,50	3,271	0,0821
<b>21 DAM</b>	77,12 ± 10,52	72,53 ± 18,31	0,2956	0,7954
<b>21 DAD</b>	110,56 ± 37,42	89,19 ± 13,12	0,7663	0,5236

\* Diferenças estatisticamente significantes ao nível de 5%

\*\* Diferenças estatisticamente significantes ao nível de 1%

**Tabela 10** – Comparações das áreas médias ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais nos quadrantes entre o lado experimental e controle dos ratos diabéticos nos quatro tempos de estudo

Grupos Quadrantes	Diabético Experimental	Diabético Controle	<i>t</i>	<i>p</i>
<b>3 DCM</b>	50,19 ± 16,20	67,68 ± 72,50	3,245	0,0315*
<b>3 DCD</b>	123,36 ± 15,45	73,43 ± 11,45	6,766	0,0025**
<b>3 DAM</b>	65,24 ± 20,28	72,92 ± 6,91	0,7849	0,4764
<b>3 DAD</b>	98,89 ± 20,40	78,27 ± 10,22	3,606	0,0226*
<b>7 DCM</b>	58,68 ± 6,31	63,81 ± 8,17	0,5801	0,6205
<b>7 DCD</b>	131,56 ± 44,18	69,65 ± 8,07	1,979	0,1864
<b>7 DAM</b>	73,83 ± 30,07	73,19 ± 2,12	0,9898	0,4266
<b>7 DAD</b>	134,89 ± 32,75	73,96 ± 8,05	1,921	0,1947
<b>14 DCM</b>	64,57 ± 33,98	54,88 ± 2,45	0,5585	0,6155
<b>14 DCD</b>	113,47 ± 32,27	54,83 ± 7,68	3,513	0,0391*
<b>14 DAM</b>	73,55 ± 19,22	63,61 ± 10,79	1,049	0,3713
<b>14 DAD</b>	84,76 ± 22,29	68,22 ± 12,95	1,056	0,3684
<b>21 DCM</b>	65,31 ± 22,08	52,71 ± 6,25	1,124	0,3238
<b>21 DCD</b>	99,27 ± 15,86	54,86 ± 9,34	4,402	0,0117*
<b>21 DAM</b>	75,11 ± 9,95	64,65 ± 11,63	1,445	0,2220
<b>21 DAD</b>	102,03 ± 34,09	70,63 ± 15,05	1,599	0,1850

\*Diferenças estatisticamente significantes ao nível de 5%

\*\*Diferenças estatisticamente significantes ao nível de 1%

Além das comparações entre o lado experimental e controle, efetuou-se também comparação entre as áreas médias do espaço periodontal nos quadrantes do lado experimental do grupo normal com o diabético, que está descrita na tabela 11. Nestas comparações, houve uma semelhança entre os valores dos grupos normal e diabético, mostrando diferença significativa somente no quadrante apical distal no sétimo após movimentação.

**Tabela 11** – Comparações das áreas médias ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais nos quadrantes do lado experimental entre os ratos diabéticos e normais nos quatro tempos de estudo

<b>Grupos</b>	<b>Diabético</b>	<b>Normal</b>	<i>t</i>	<i>p</i>
<b>Quadrantes</b>	<b>Experimental</b>	<b>Experimental</b>		
<b>3 DCM</b>	30,84 ± 10,18	50,19 ± 16,20	2,261	0,0536
<b>3 DCD</b>	130,81 ± 15,24	123,36 ± 15,45	0,7677	0,4647
<b>3 DAM</b>	68,35 ± 23,39	65,24 ± 20,28	0,2249	0,8277
<b>3 DAD</b>	120,45 ± 24,24	98,89 ± 20,40	1,522	0,1666
<b>7 DCM</b>	46,36 ± 19,60	58,68 ± 6,31	1,338	0,2176
<b>7 DCD</b>	118,55 ± 32,01	131,56 ± 44,18	0,5334	0,6083
<b>7 DAM</b>	64,05 ± 14,44	73,83 ± 30,07	0,6555	0,5306
<b>7 DAD</b>	79,36 ± 21,09	134,89 ± 32,75	3,1888	0,0128*
<b>14 DCM</b>	57,03 ± 15,65	64,57 ± 33,98	0,4460	0,6691
<b>14 DCD</b>	129,99 ± 36,50	113,47 ± 32,27	0,7085	0,5061
<b>14 DAM</b>	56,66 ± 8,22	73,55 ± 19,22	1,795	0,1158
<b>14 DAD</b>	101,16 ± 33,54	84,76 ± 22,29	0,8360	0,4308
<b>21 DCM</b>	44,95 ± 12,81	65,31 ± 22,08	1,431	0,2024
<b>21 DCD</b>	118,33 ± 18,41	99,27 ± 15,86	1,558	0,1703
<b>21 DAM</b>	77,12 ± 10,52	75,11 ± 9,95	0,2716	0,7950
<b>21 DAD</b>	110,56 ± 37,42	102,03 ± 34,09	0,3317	0,7514

\*Diferenças estatisticamente significantes ao nível de 5%

Além das áreas médias acima descritas, calculou-se também as diferenças médias do lado experimental em relação ao lado controle de cada rato. Depois, comparou-se as diferenças obtidas para o grupo normal com as obtidas para o grupo diabético, observando-se diferenças estatisticamente significantes apenas em duas ocasiões, a saber, no terceiro dia e no sétimo dia, respectivamente, nos quadrantes DCM e DAD (Tabela 12).

**Tabela 12** – Comparações das diferenças médias das áreas ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) nos quadrantes do lado experimental em relação ao controle dos grupos normal e diabético nos quatro tempos de estudo

<b>Grupos Quadrantes</b>	<b>Diabético</b>	<b>Normal</b>	<b>t</b>	<b>p</b>
<b>3 DCM</b>	-17,50 ± 12,06	-43,54 ± 4,26	4,073	0,0047*
<b>3 DCD</b>	49,94 ± 16,50	60,01 ± 19,23	0,847	0,4251
<b>3 DAM</b>	-7,68 ± 21,89	-1,22 ± 28,20	0,389	0,7089
<b>3 DAD</b>	20,61 ± 12,78	49,58 ± 26,54	2,172	0,0665
<b>7 DCM</b>	-1,61 ± 8,61	-12,98 ± 12,71	1,353	0,2247
<b>7 DCD</b>	65,86 ± 45,60	54,43 ± 21,97	0,491	0,6406
<b>7 DAM</b>	14,75 ± 38,79	6,53 ± 16,94	0,427	0,6840
<b>7 DAD</b>	77,16 ± 8,12	19,46 ± 13,98	6,400	0,0007*
<b>14 DCM</b>	9,51 ± 34,47	-5,19 ± 16,75	0,8467	0,4252
<b>14 DCD</b>	61,89 ± 34,43	60,84 ± 29,40	0,0499	0,9616
<b>14 DAM</b>	6,80 ± 13,97	-3,38 ± 9,79	1,291	0,2377
<b>14 DAD</b>	15,59 ± 26,85	24,54 ± 32,49	0,4420	0,6718
<b>21 DCM</b>	12,61 ± 25,07	-24,66 ± 22,47	2,105	0,0799
<b>21 DCD</b>	44,40 ± 22,55	37,45 ± 19,83	0,439	0,6759
<b>21 DAM</b>	10,46 ± 16,18	4,59 ± 26,90	0,3940	0,7072
<b>21 DAD</b>	31,40 ± 43,90	21,37 ± 48,31	0,3022	0,7727

\*Diferenças estatisticamente significantes ao nível de 1%

As comparações quantitativas também foram realizadas em função do tempo. Assim, comparou-se as áreas médias do espaço periodontal nos diferentes quadrantes mensuradas nos dias 3, 7, 14 e 21 dias pós-movimentação para os lados experimental e controle dos grupos normal e diabético (Tabelas 13 a 16). Além disso, comparou-se também as diferenças médias das áreas do espaço periodontal do lado experimental em relação ao controle dos grupos normal e diabético (Tabela 17 e 18).

**Tabela 13** – Comparação das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado experimental do grupo normal nos diferentes tempos

Grupos	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	F	p
<b>Quadrantes</b>						
<b>DCM</b>	30,84 ± 10,18	46,36 ± 19,60	57,03 ± 15,65	44,95 ± 12,81	2,485	0,1034
<b>DCD</b>	130,81 ± 15,24	118,55 ± 32,01	129,99 ± 36,50	118,33 ± 18,41	0,2685	0,8470
<b>DAM</b>	68,35 ± 23,39	64,05 ± 14,44	56,66 ± 8,22	77,12 ± 10,52	1,124	0,3728
<b>DAD</b>	120,45 ± 24,24	79,36 ± 21,09	101,16 ± 33,54	110,56 ± 37,42	1,832	0,1876

**Tabela 14** – Comparação das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado controle do grupo normal nos diferentes tempos

Grupos	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	F	p
<b>Quadrantes</b>						
<b>DCM</b>	72,26 ± 82,74	59,34 ± 10,97	62,22 ± 14,57	69,61 ± 9,67	1,191	0,3516
<b>DCD</b>	73,83 ± 11,14	64,12 ± 14,42	69,15 ± 11,03	80,88 ± 2,50	1,471	0,2682
<b>DAM</b>	68,12 ± 5,73	57,52 ± 6,67	60,04 ± 11,32	72,53 ± 18,31	1,688	0,2186
<b>DAD</b>	76,68 ± 9,36 (AB)	59,90 ± 11,90 (A)	76,62 ± 5,73 (AB)	89,19 ± 13,12 (AB)	5,810	0,0096*

\*Diferenças estatisticamente significantes ao nível de 1%; letras diferentes indicam diferença significativa.

**Tabela 15** – Comparação das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado experimental do grupo diabético nos diferentes tempos

Quadrantes	Tempos				F	p
	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias		
DCM	50,19 ± 16,20	58,68 ± 6,31	64,57 ± 33,98	65,31 ± 22,08	0,5348	0,6655
DCD	123,36 ± 15,45	131,56 ± 44,18	113,47 ± 32,27	99,27 ± 15,86	1,119	0,3727
DAM	65,24 ± 20,28	73,83 ± 30,07	73,55 ± 19,22	75,11 ± 9,95	0,2239	0,8783
DAD	98,89 ± 20,40	134,89 ± 32,75	84,76 ± 22,29	102,03 ± 34,09	2,609	0,0899

**Tabela 16** – Comparação das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado controle do grupo diabético nos diferentes tempos

Quadrantes	Tempos				F	p
	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias		
DCM	67,68 ± 72,50 (A)	63,81 ± 8,17 (AB)	54,88 ± 2,45 (AB)	52,71 ± 6,25 (B)	6,477	0,0056**
DCD	73,43 ± 11,45 (A)	69,65 ± 8,07 (AB)	54,83 ± 7,68 (AB)	54,86 ± 9,34 (B)	5,032	0,014*
DAM	72,92 ± 6,91	73,19 ± 2,12	63,61 ± 10,79	64,65 ± 11,63	1,108	0,3788
DAD	78,27 ± 10,22	73,96 ± 8,05	68,22 ± 12,95	70,63 ± 15,05	0,6198	0,6137

\*Diferenças estatisticamente significantes ao nível de 5%; letras diferentes indicam diferença significante.

\*\*Diferenças estatisticamente significantes ao nível de 1%; letras diferentes indicam diferença significante.

**Tabela 17** – Comparação das diferenças das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado experimental em relação ao controle do grupo normal nos diferentes tempos

Grupos	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	F	p
<b>Quadrantes</b>						
<b>DCM</b>	-43,54 ± 4,26 (A)	-12,98 ± 12,71 (B)	-5,19 ± 16,75 (B)	-24,66 ± 22,47 (AB)	5,548	0,0113*
<b>DCD</b>	60,01 ± 19,23	54,43 ± 21,97	60,84 ± 29,40	37,45 ± 19,83	0,7102	0,563
<b>DAM</b>	-1,22 ± 28,20	6,53 ± 16,94	-3,38 ± 9,79	4,59 ± 26,90	0,2458	0,8629
<b>DAD</b>	49,58 ± 26,54	19,46 ± 13,98	24,54 ± 32,49	21,37 ± 48,31	0,8883	0,4729

\*Diferenças estatisticamente significantes ao nível de 5%; letras diferentes indicam diferença significativa.

**Tabela 18** – Comparação das diferenças das áreas do espaço periodontal nos quadrantes ( $10^3 \mu\text{m}^2$ ) do lado experimental em relação ao controle do grupo diabético nos diferentes tempos

Grupos	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	F	p
<b>Quadrantes</b>						
<b>DCM</b>	-17,50 ± 12,06	-1,61 ± 8,61	9,51 ± 34,47	12,61 ± 25,07	1,712	0,2137
<b>DCD</b>	49,94 ± 16,50	65,86 ± 45,60	61,89 ± 34,43	44,40 ± 22,55	0,4855	0,6981
<b>DAM</b>	-7,68 ± 21,89	14,75 ± 38,79	6,80 ± 13,97	10,46 ± 16,18	0,8269	0,5023
<b>DAD</b>	20,61 ± 12,78	77,16 ± 8,12	15,59 ± 26,85	31,40 ± 43,90	3,188	0,0596

Quando as comparações foram feitas para o mesmo lado, experimental ou controle, do mesmo grupo, observou-se diferenças significantes para o lado controle, no quadrante apical distal para o grupo normal e cervical mesial e distal para o grupo diabético (Tabelas 14 e 16). Enquanto que as diferenças foram detectadas somente para o quadrante cervical mesial do grupo normal quando foi realizada a comparação das diferenças médias das áreas mensuradas (Tabela 17).

## **5.5 Análises qualitativas**

### **Lado controle do grupo normal**

O quadro histológico apresentado por este grupo foi similar para todos os tempos de estudo, devido à ausência da movimentação dentária induzida (Figura 7), sendo sua descrição sintetizada a seguir:

Na região cervical, evidenciou-se presença do epitélio juncional respeitando o limite cemento-esmalte tanto na papila distal quanto na mesial do primeiro molar. Na camada mais profunda no sentido apical, observou-se discreto número de fibroblastos, alguns capilares e presença discreta do infiltrado inflamatório do tipo linfocitário em pequena extensão. Além disso, evidenciou-se muitas fibras colágenas na região, cujas fibras dento-gengivais, crestos-dentais e transseptais podiam ser identificadas na face distal do molar. Embora elas também estivessem presentes na face mesial, tais fibras eram mais frouxas e sem direção definida. Tanto na face mesial como na distal, ao nível da crista alveolar as fibras se arranjavam de forma mais paralela, tornando mais oblíquas quando localizadas entre as paredes do osso alveolar e do cemento celular.

Não se observou presença de reabsorção nas superfícies radiculares tanto da raiz méso-vestibular como disto-vestibular, evidenciando nos terços cervical e apical radicular camada de cimento acelular e celular preservada. Houve poucos linfócitos e raros macrófagos em toda extensão do ligamento periodontal, observando predomínio de fibroblastos e fibras colágenas, com presença esporádica dos capilares.

Com relação ao septo interdental distal, na sua face mesial, evidenciou-se poucas áreas de reabsorções sem localizações definidas, que continham algumas células multinucleadas do tipo osteoclástica. As áreas de reabsorção e as de neoformação óssea distribuíam-se similarmente. Estas áreas de reabsorção tiveram menos presença no septo alveolar mesial do primeiro molar avaliado.

### **Lado controle do grupo diabético**

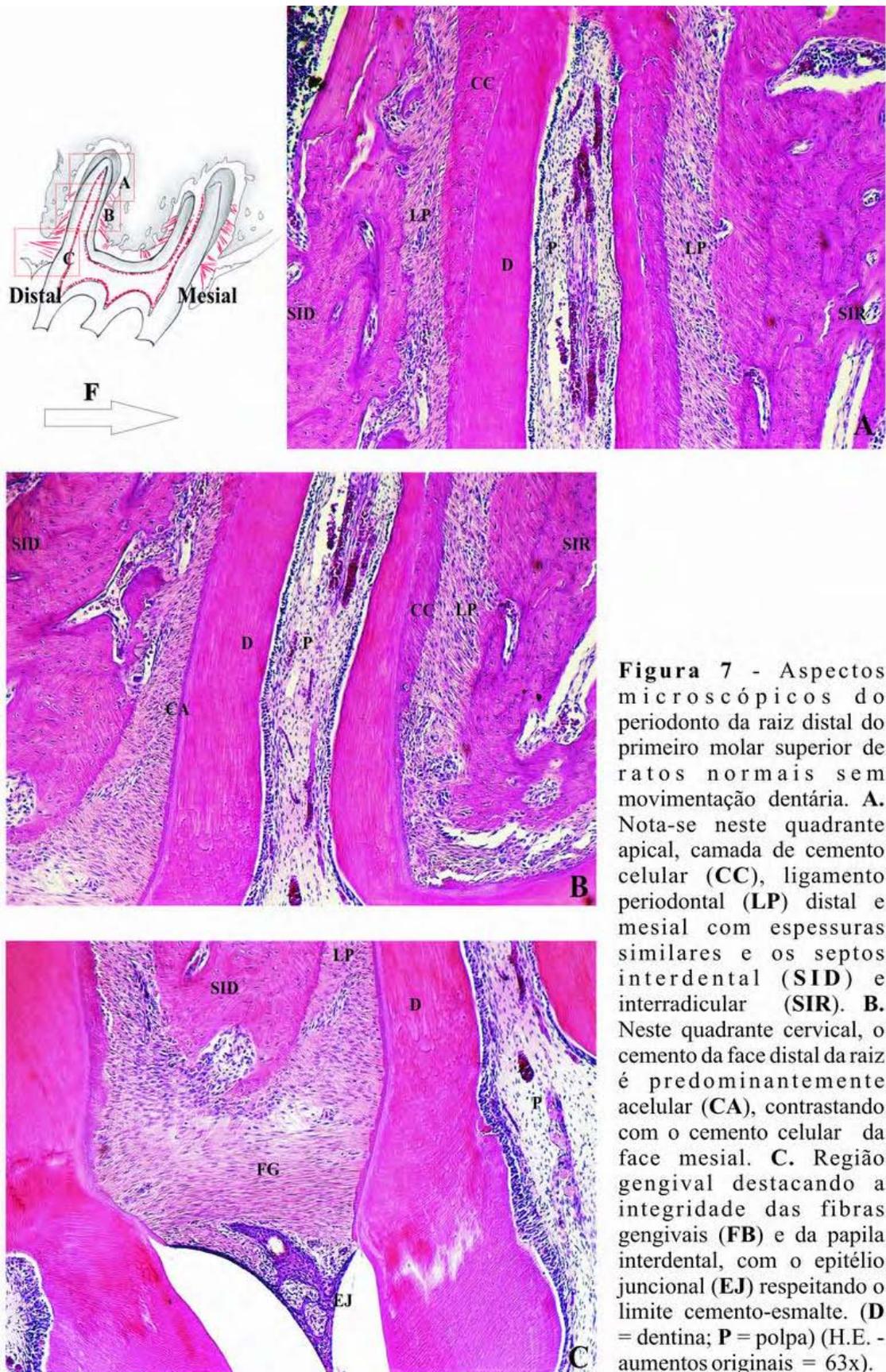
O quadro histológico apresentado por este grupo, de forma semelhante ao grupo normal, também apresentou poucas diferenças ao longo dos quatro tempos de estudo (Figura 8). Diante desta similaridade, a descrição histomorfológica pode ser sintetizada a seguir:

De aspecto similar, evidenciou-se na região cervical presença de epitélio juncional respeitando o limite cimento-esmalte nas papilas mesial e distal do dente analisado. Na camada mais profunda no sentido apical, havia discreto número de fibroblastos, moderado número de capilares e infiltrado inflamatório discretamente em maior número quando comparado com o grupo normal, com predomínio linfocitário, embora houvesse alguns polimorfonucleares neutrófilos.

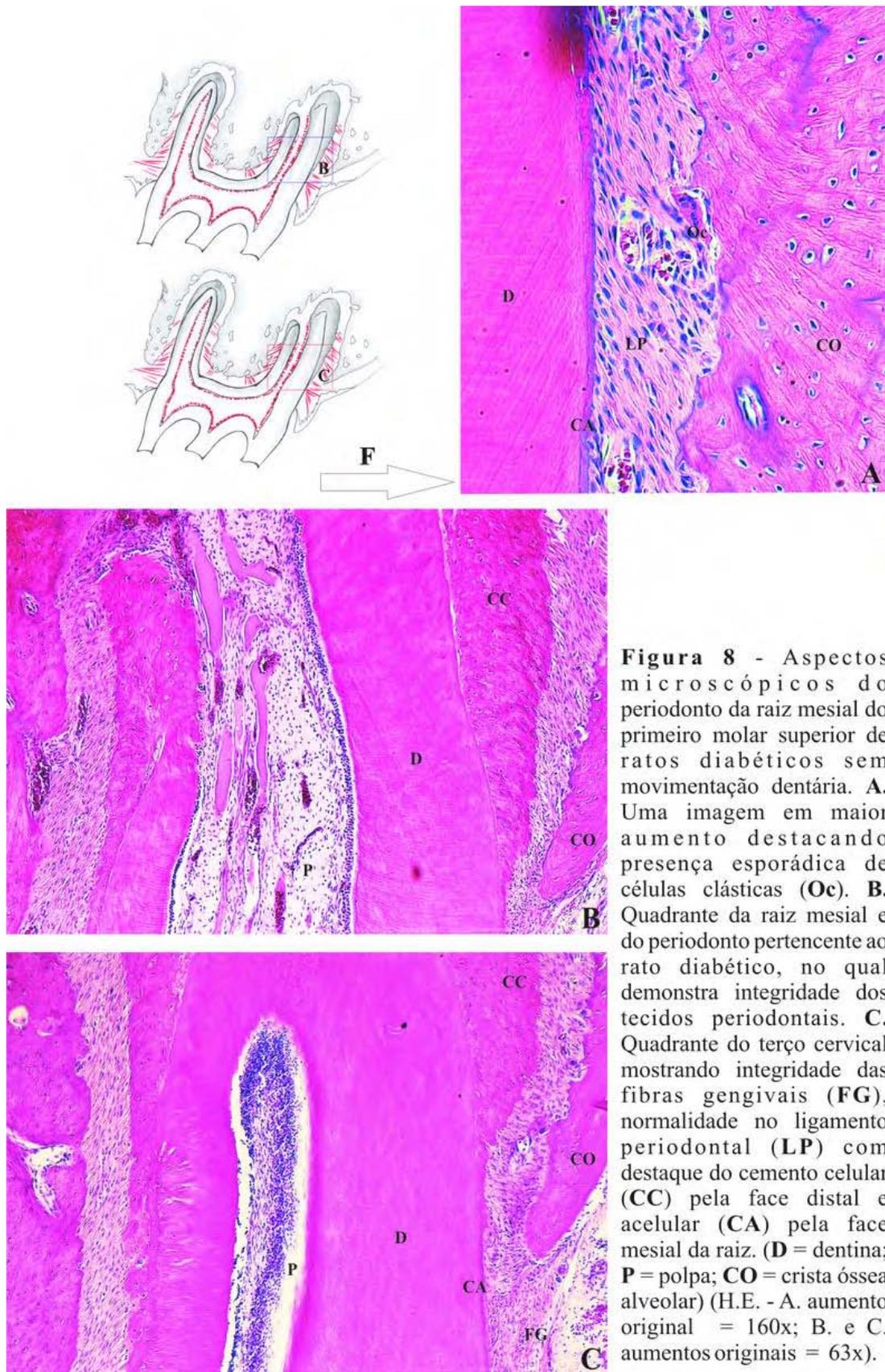
A superfície radicular dos terços cervical e apical possuía camada de cimento acelular preservada, com raras áreas de reabsorções atingindo cimento. A camada de cimento celular presente na região apical também se encontrava preservada.

Com relação ao ligamento periodontal, as fibras, do tipo dento-gengivais, transeptais, crestos dentais e horizontais, com suas aparências íntegras, podiam ser identificadas na face distal do primeiro molar. Entretanto, observou-se uma discreta perda de orientação de fibras colágenas pela presença de fibroblastos jovens com seus núcleos mais volumosos quando comparados com o grupo controle, que se caracterizava pelo predomínio da morfologia alongada ou estrelada. Ainda na papila distal, as fibras gengivais eram frouxas, sem uma orientação definida quando comparada com o grupo controle. As fibras oblíquas e apicais estavam preservadas em toda extensão do ligamento periodontal, tanto na face mesial como na distal das raízes disto-vestibular e mésio-vestibular, porém com maior perda de orientação e se apresentavam mais delgadas no grupo diabético em comparação com o controle.

O infiltrado inflamatório é discreto do tipo linfocitário com raros macrófagos em toda extensão da membrana periodontal, havendo um predomínio de fibroblastos e fibras colágenas. Células multinucleadas, compatíveis com osteoclastos, em pequeno número, eram vistas especialmente na face mesial do septo interdental do primeiro molar inferior, tanto no grupo diabético como no controle, sendo mais freqüentes no grupo controle, ao contrário dos capilares, que eram mais numerosos no grupo diabético em toda extensão da membrana periodontal.



**Figura 7** - Aspectos microscópicos do periodonto da raiz distal do primeiro molar superior de ratos normais sem movimentação dentária. **A.** Nota-se neste quadrante apical, camada de cimento celular (CC), ligamento periodontal (LP) distal e mesial com espessuras similares e os septos interdental (SID) e interradicular (SIR). **B.** Neste quadrante cervical, o cimento da face distal da raiz é predominantemente acelular (CA), contrastando com o cimento celular da face mesial. **C.** Região gengival destacando a integridade das fibras gengivais (FB) e da papila interdental, com o epitélio juncional (EJ) respeitando o limite cimento-esmalte. (D = dentina; P = polpa) (H.E. - aumentos originais = 63x).



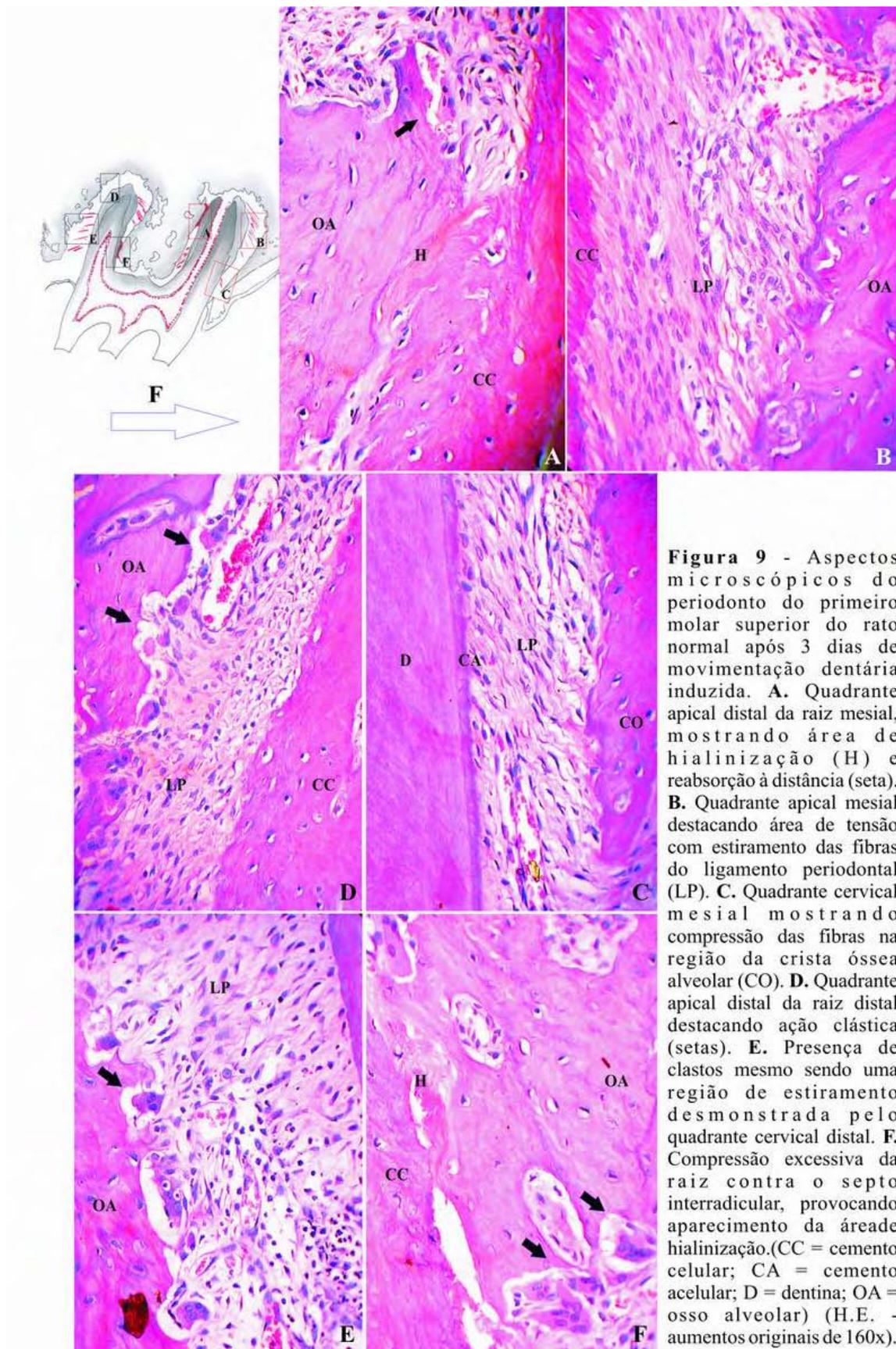
### **Lado experimental do grupo normal**

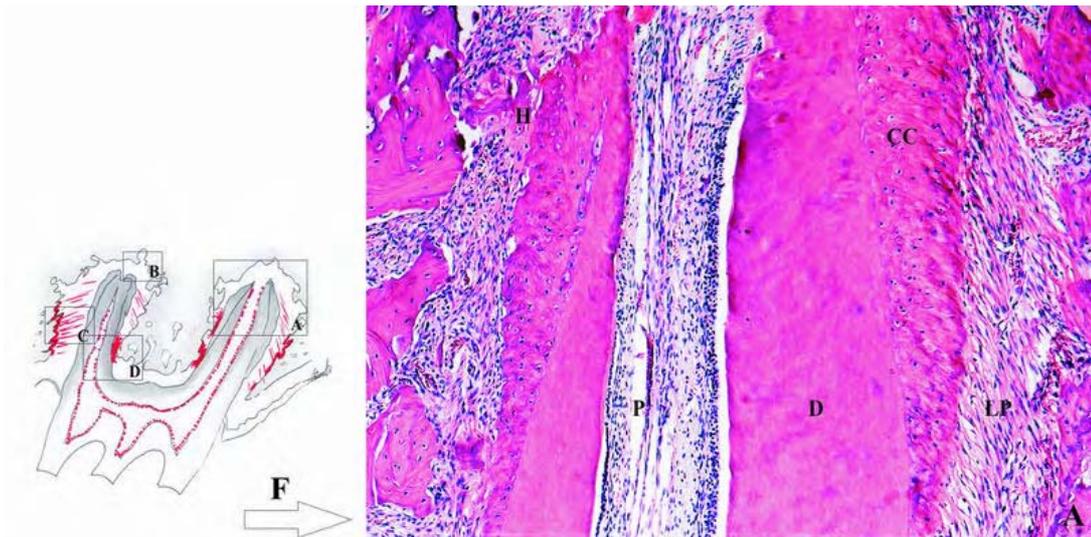
Numa vista panorâmica, observou-se que os movimentos dentários induzidos foram predominantemente de inclinação, podendo presenciar na mesma face, distal ou mesial, de uma raiz regiões de compressão e de tensão. Os quadros histológicos apresentados no lado experimental indicaram reações teciduais mais intensas nos períodos de 3 e 7 dias pós-movimentação, enquanto que nos períodos de 14 e 21 dias, os quadros denotaram condições de reparação e tendência para retornar à normalidade (Figuras 9 a 11).

No terceiro dia pós-movimentação, na região cervical da raiz disto-vestibular, presenciou-se grandes alterações teciduais na papila gengival, sendo estas alterações mais intensas em comparação com a papila mesial do mesmo grupo, provavelmente devido à presença do fio de amarelo utilizado para induzir o movimento dentário. Numa camada mais profunda, observou-se quantidade discreta de fibroblastos e de capilares, predominando um infiltrado inflamatório com polimorfonucleares neutrófilos estendendo até o nível da crista alveolar. No quadrante cervical mesial da raiz disto-vestibular, evidenciou-se um espaço periodontal bastante comprimido, com poucos núcleos corados, fibras desorganizadas e comprimidas impossibilitando a identificação, poucos capilares e presença de áreas de hialinização. Na superfície radicular, evidenciou-se poucos cementoblastos distribuídos, e poucos osteoblastos presentes no osso alveolar frontalmente à hialinização. Nos espaços medulares e nas superfícies do osso alveolar adjacente às áreas de hialinização, observou-se presença de células clásticas promovendo reabsorção óssea à distância. Por outro lado, no quadrante cervical distal, observou-se aumento do espaço periodontal em relação ao controle

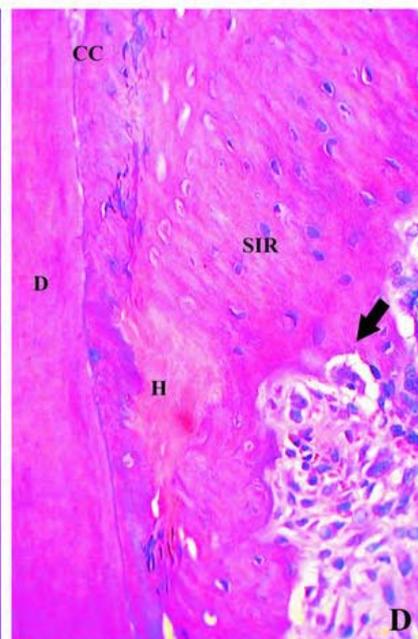
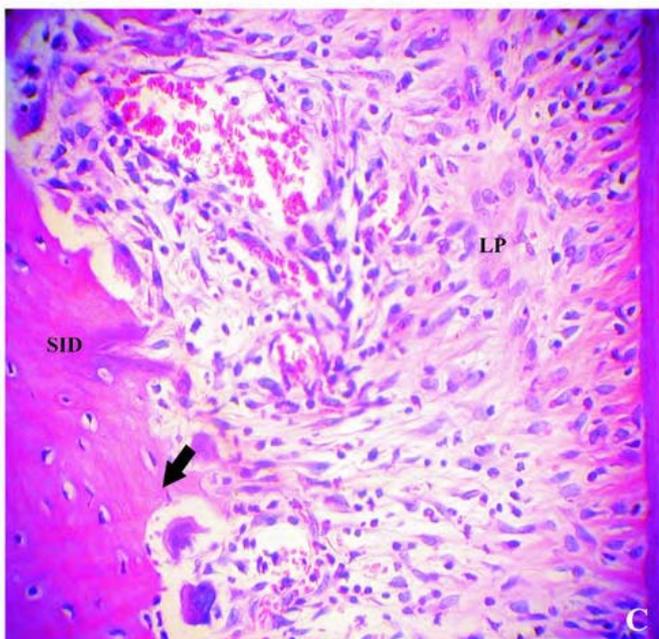
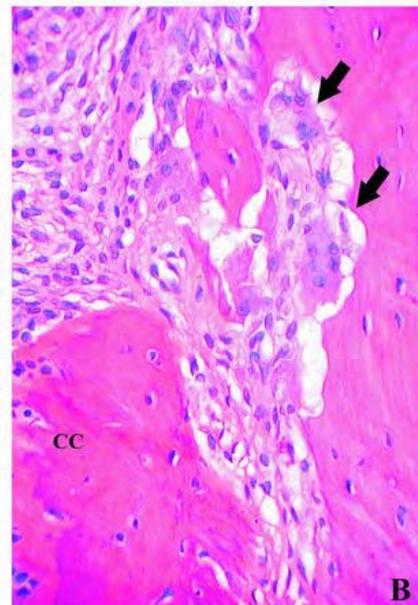
do mesmo grupo, com suas fibras estiradas, mas bem orientadas, maior quantidade de capilares em relação à face mesial comprimida, além da presença de clastos e processo de reabsorção óssea nas superfícies mesiais do septo interdental; este quadro também persistiu para o quadrante apical distal. No quadrante apical mesial, observou-se também compressão do espaço periodontal, porém menos intensa em relação ao quadrante cervical mesial, podendo ser observadas fibras comprimidas e desorganizadas, maiores quantidades de núcleos, menos quantidade de hialinização e, em alguns locais, presença de clastos e reabsorção frontal do osso alveolar. Nas superfícies radiculares pertencentes aos quadrantes apicais, os cementoblastos estavam com maior presença em relação às superfícies radiculares do quadrante cervical mesial.

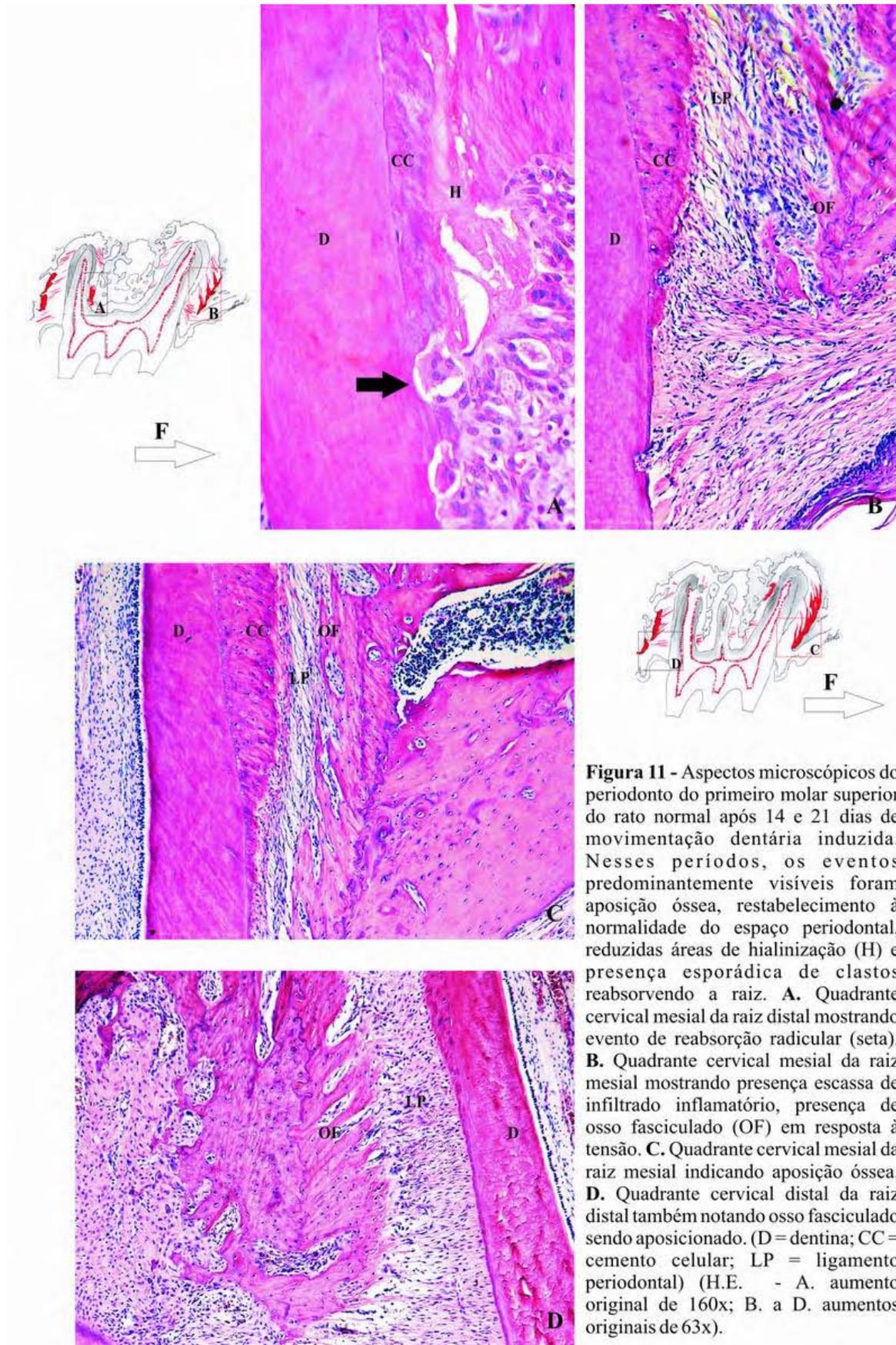
Com relação à raiz méso-vestibular, no quadrante cervical mesial, observou-se compressão das fibras, porém, com raras áreas de hialinização, mas proliferação celular. Devido à inclinação e ao tamanho relativamente maior da raiz méso-vestibular em relação à raiz disto-vestibular, na maioria dos espécimes analisadas, o quadrante cervical incluía uma área radicular que não apresentava restrição do osso alveolar, portanto, a força aplicada não apresentava os mesmos efeitos da raiz distal. Enquanto que o quadrante apical mesial incluía a porção radicular que apresentava movimento no sentido contrário da força aplicada, devido ao tipo de movimento ser predominantemente de inclinação. Portanto, na face mesial do ápice radicular méso-vestibular, o quadro histológico apresentado era de tensão em vez de ser de compressão, sendo inverso os eventos ocorridos na face distal do mesmo terço apical radicular.





**Figura 10** - Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato normal após 7 dias de movimentação dentária induzida. Os mesmos eventos foram observados porém com maior intensidade. **A.** Quadrante apical da raiz mesial mostrando o estiramento das fibras do ligamento periodontal na face mesial e ilhotas de hialinização (H) na face distal. **B.** Quadrante apical mesial da raiz distal, mostrando áreas de reabsorção frontal (setas). **C.** Quadrante cervical distal da raiz distal, demonstrando fibras do ligamento periodontal tensionadas e presença de clastos nas proximidades dos capilares sanguíneos. **D.** Quadrante cervical mesial da raiz distal notando uma área de compressão excessiva e grande área de hialinização (H), simultaneamente aparecem clastos na face da superfície óssea oposta à zona hialina excutando reabsorção à distância (Seta). (CC = cemento celular; LP = ligamento periodontal; SID = septo interdental; SIR = septo interradicular) (H.E. - A. aumento original de 63x; B. a D. aumentos originais de 160x).





**Figura 11** - Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato normal após 14 e 21 dias de movimentação dentária induzida. Nesses períodos, os eventos predominantemente visíveis foram aposição óssea, restabelecimento à normalidade do espaço periodontal, reduzidas áreas de hialinização (H) e presença esporádica de clastos reabsorvendo a raiz. **A.** Quadrante cervical mesial da raiz distal mostrando evento de reabsorção radicular (seta). **B.** Quadrante cervical mesial da raiz mesial mostrando presença escassa de infiltrado inflamatório, presença de osso fasciculado (OF) em resposta à tensão. **C.** Quadrante cervical mesial da raiz mesial indicando aposição óssea. **D.** Quadrante cervical distal da raiz distal também notando osso fasciculado sendo aposicionado. (D = dentina; CC = cimento celular; LP = ligamento periodontal) (H.E. - A. aumento original de 160x; B. a D. aumentos originais de 63x).

Aos 7 dias pós-movimentação, as alterações permaneceram intensas em ambas papilas, mesial e distal, predominando um quadro de desorganização do epitélio e presença de polimorfonucleares neutrófilos.

No quadrante cervical mesial da raiz distal, observou-se inúmeras áreas de reabsorções, presença de células multinucleadas do tipo osteoclásticas, bem como áreas de hialinização, mas com maior atividade clástica em sua volta. Ao mesmo tempo, observou também presença de clastos adjacentes às áreas de hialinização reabsorvendo o cimento. O osso alveolar apresentava maiores quantidades de trabéculas quando comparado com o osso alveolar do lado controle. Os quadrantes cervicais e apicais distais, quadrante apical mesial e os quadrantes da raiz mesial mantiveram um panorama histomorfológico semelhante àquele encontrado no terceiro dia pós-movimentação.

Observou-se a partir desta fase, tanto no septo interdental distal como no septo mesial, indícios de linhas de neoformação óssea, que delimitavam o osso alveolar maduro e o tecido osteóide.

No décimo quarto dia, observou-se aspecto de organização na região cervical, onde predominava um tecido conjuntivo imaturo contendo proliferação fibroblástica, vasos neoformados e infiltrado inflamatório diminuído em comparação com as fases anteriores. No quadrante cervical mesial, restou apenas pequenas áreas de hialinização, já presenciando os osteoblastos distribuídos ao longo da superfície óssea alveolar, quase não podendo ser identificadas áreas de reabsorção; ao mesmo tempo, observou-se lacunas de reabsorção maiores em alguns pontos da superfície radicular em alguns animais. No quadrante cervical distal, observou-se redução do espaço periodontal por meio da neoformação óssea.

Em alguns pontos isolados da crista alveolar distal, sem nenhum padrão definido, ainda podia ser presenciado lacunas de reabsorção óssea. Com relação à raiz mesial, presenciou-se maior quantidade de neoformação do que reabsorção óssea em comparação com a raiz distal.

Os resultados observados no décimo-quarto dia pós-movimentação persistiram após 21 dias, apresentando, no entanto, áreas maiores de neoformação óssea.

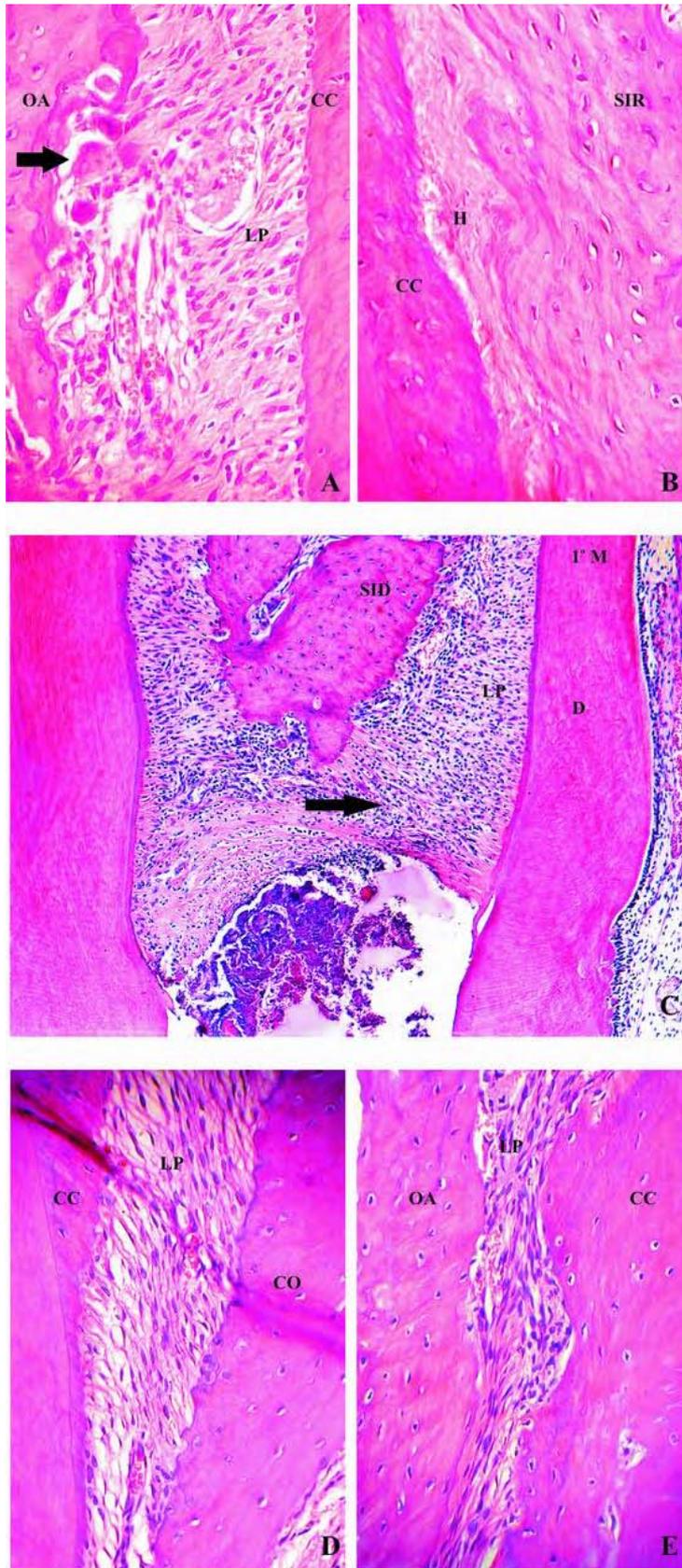
### **Lado experimental do grupo diabético**

De forma semelhante ao grupo normal, o primeiro molar do rato do grupo diabético também apresentou uma predominância do movimento por inclinação. O lado experimental do grupo diabético apresentou alterações teciduais com uma magnitude inflamatória mais intensa em relação ao mesmo lado do grupo normal, devido à persistência do infiltrado inflamatório intenso na maioria dos animais avaliados, especialmente nas regiões cervicais da papila distal, com a formação, até mesmo de seqüestros ósseos em alguns animais.

No terceiro dia pós-movimentação (Figura 12), na região cervical distal, houve destruição da papila distal devido à presença do fio de amarrilho ou, provavelmente, ao trauma provocado durante o processamento do animal, não se observando o mesmo quadro no lado mesial. As fibras dento-gengivais, crestodentais e transseptais estavam estiradas. Na camada mais profunda, observou-se presença de poucos fibroblastos e de capilares neoformados, assim como presença de infiltrado inflamatório com predomínio de neutrófilos polimorfonucleares.

No quadrante cervical mesial, observou-se espaço periodontal reduzido, com as fibras da membrana periodontal comprimidas e desorganizadas, e pouca visualização de capilares, já podendo notar áreas de hialinização bem como indícios de reabsorção à distância. À superfície radicular apresentava poucos cementoblastos distribuídos. No quadrante apical mesial, além dos aspectos de compressão em menor intensidade, evidenciou-se em alguns animais, disposição das fibras estiradas, típicas das regiões de tensão, provavelmente em decorrência do tipo de movimentação dentária promovida. Por outro lado, no quadrante cervical distal, evidenciou-se um aumento do espaço periodontal, associado ao estiramento das fibras com os núcleos celulares orientados na direção do estiramento. Também podia encontrar lacunas de reabsorção com os clastos em alguns pontos da superfície mesial do septo interdental e, em suas proximidades, vasos sangüíneos. À superfície radicular ainda possuía uma distribuição visível de cementoblastos. Estas situações também se repetiam para o quadrante apical distal. O septo interdental também apresentou maior quantidade de trabéculas quando comparado com o lado controle do mesmo animal.

Na raiz mesial, o quadro histomorfológico foi semelhante ao do grupo normal. Devido ao movimento de inclinação, o terço cervical mesial promovia compressão, enquanto que o terço apical promovia tensão, e um panorama inverso era visto na face distal da mesma raiz. No quadrante cervical mesial, onde ocorreu compressão, observou intenso infiltrado inflamatório, desorganização das fibras, porém raras áreas de hialinização, enquanto que na mesma face, na sua região apical, as fibras se tornaram estiradas. Um local comum em encontrar pequenas áreas de hialinização foi no quadrante apical distal da raiz méso-vestibular.



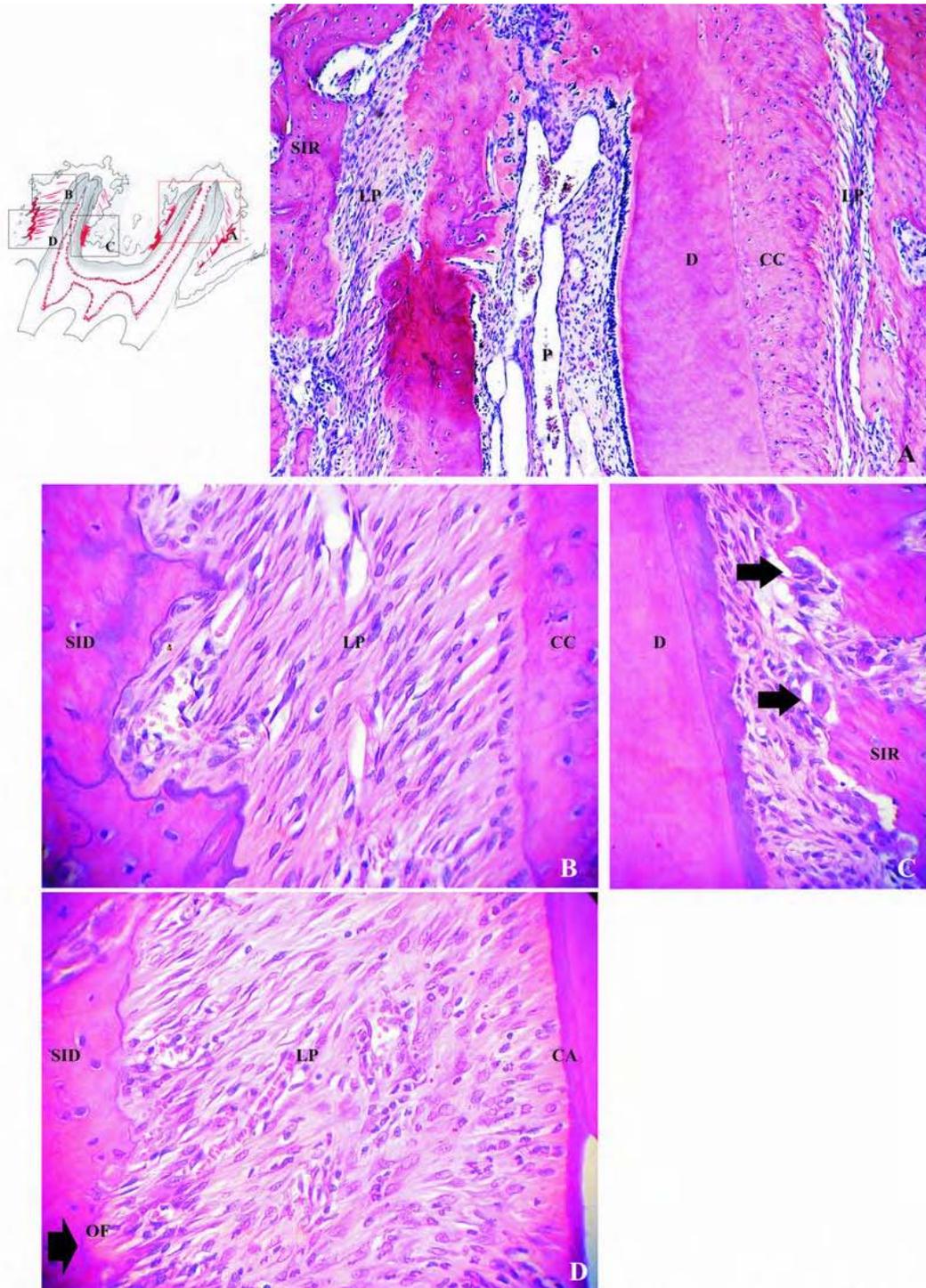
**Figura 12** - Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato diabético após 3 dias de movimentação dentária induzida. **A.** Quadrante cervical distal da raiz distal mostrando estiramento das fibras e áreas de reabsorção óssea (seta). **B.** Quadrante cervical mesial da mesma raiz mostrando presença em grande extensão da área hialina (H) devido à compressão da raiz contra o septo interradicular (SIR). **C.** Região cervical do septo interdental (SID) mostrando presença de infiltrado inflamatório (seta) e solução de integridade da papila. **D.** Quadrante cervical mesial da raiz mesial mostrando compressão ao nível da crista alveolar (CO). **E.** Quadrante apical distal mostrando compressão das fibras já desorganizadas. (CC = cimento celular; LP = ligamento periodontal; D = dentina; OA = osso alveolar; 1° M = primeiro molar) (H.E. - A, B, D, E aumentos originais de 160x; C - aumento original de 63x).

No sétimo dia (Figura 13), as alterações permaneceram intensas em ambas papilas, mesial e distal, com aspecto de desorganização do epitélio e quadro inflamatório com predominância polimorfonucleares neutrófilos. Estas reações teciduais persistiram desde o terceiro dia pós-movimentação.

No quadrante cervical mesial da raiz distal, encontrou-se áreas de hialinização, e indícios de atividade clástica em sua volta, bem como na superfície do cimento, e à distância nos espaços medulares. O osso alveolar apresentava maiores quantidades de trabéculas quando comparado com o osso alveolar do lado controle. Os quadrantes cervicais e apicais distais, quadrante apical mesial e os quadrantes da raiz mesial mantiveram um panorama histomorfológico semelhante àquele encontrado no terceiro dia pós-movimentação.

Observou-se a partir desta fase, tanto no septo interdental distal como no septo mesial, indícios de linhas de neoformação óssea, que delimitavam o osso alveolar maduro e o tecido osteóide.

Após 14 dias de movimentação dentária induzida (Figura 14), persistiu um infiltrado inflamatório crônico de moderada extensão na camada subjacente ao epitélio e acima da crista alveolar. No quadrante cervical mesial, persistiu poucas áreas de hialinização, porém agravou a profundidade das crateras nas superfícies radiculares que sofreram reabsorção. Nas áreas onde houve hialinização, ainda não se observava distribuição normal dos cementoblastos ao longo da superfície radicular. No quadrante cervical e apical distal, evidenciou uma aparência mais discreta da neoformação óssea em comparação com o grupo normal. Ainda podia observar presença de atividade clástica em lacunas nos espaços medulares.



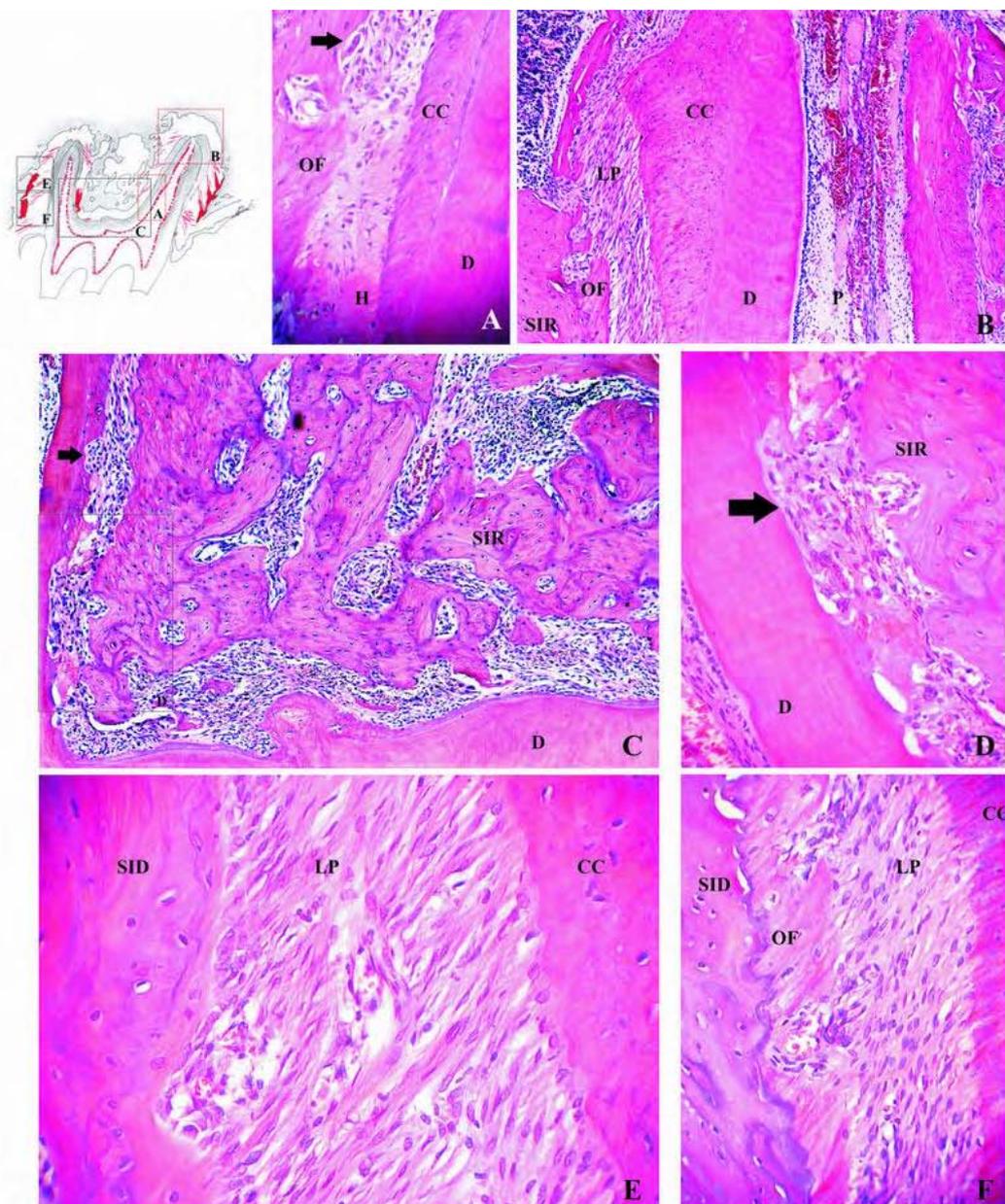
**Figura 13** - Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato diabético após 7 dias de movimentação dentária induzida. **A.** Quadrante apical da raiz mesial mostrando áreas de compressão na face mesial e estiramento na face distal. **B.** Quadrante apical distal da raiz distal mostrando estiramento das fibras do ligamento periodontal (LP). **C.** Quadrante cervical mesial da raiz distal mostrando uma compressão de força moderada e surgimento de reabsorção óssea frontal (setas). **D.** Quadrante cervical distal mostrando estiramento das fibras e atividade de aposição óssea inicial com faixas finas de osso fasciculado (seta - OF). (CC = cimento celular; CA = cimento acelular; SID = septo interdental; D = dentina; P = polpa). (H.E. **A.** aumento original de 63x; **B.C.D.** aumentos originais de 160x).

Ainda aos 14 dias, na raiz mesial, a alteração mais característica foi a de neoformação óssea apresentada ao nível do quadrante apical mesial, em uma extensão considerável e similar ao do grupo controle.

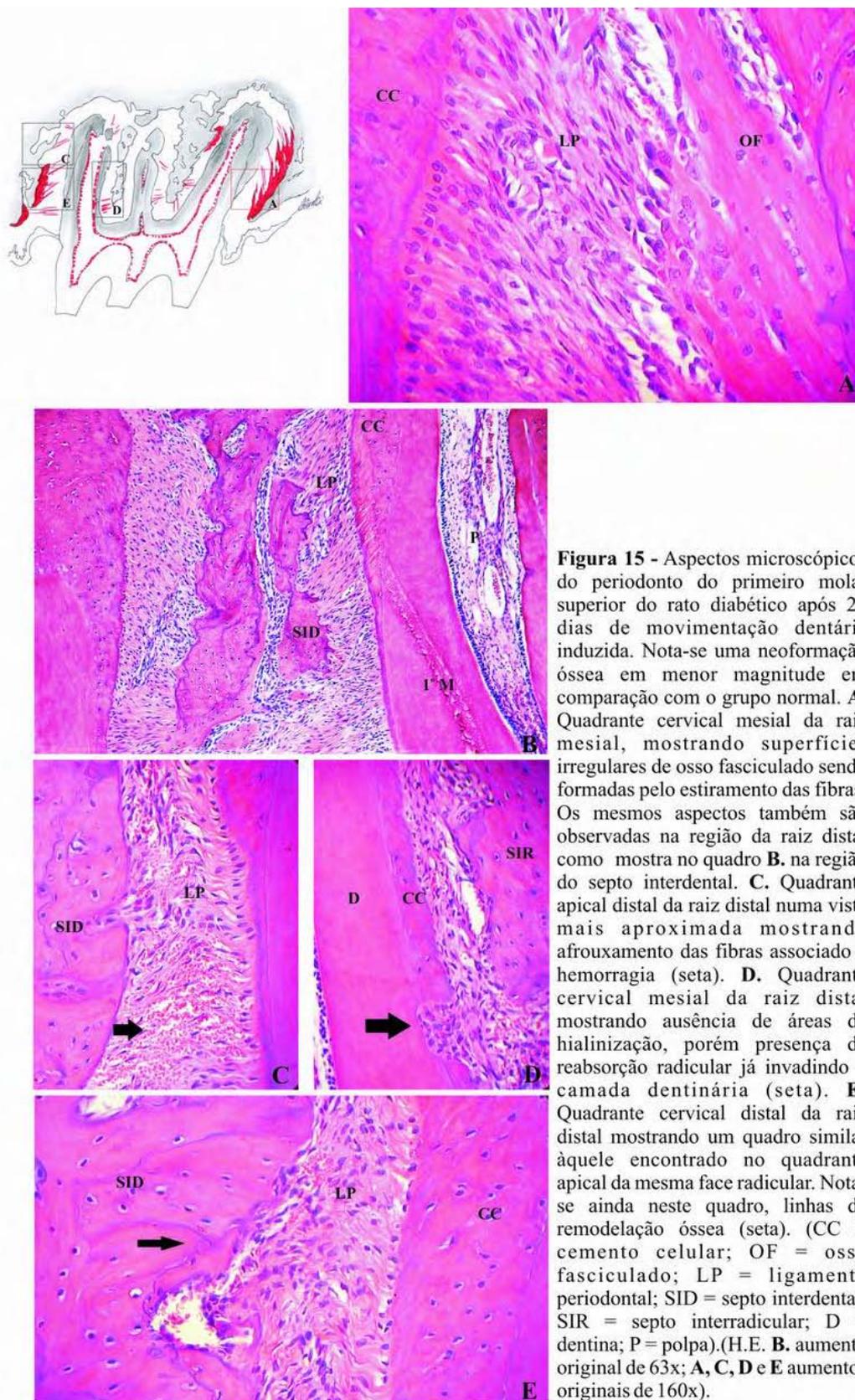
As fibras da papila gengival distal que estavam praticamente ausentes aos 3 e 7 dias, tornaram-se desorganizadas aos 14 dias e mais organizadas na metade do grupo aos 21 dias. As fibras horizontais, oblíquas e apicais encontravam-se bem organizadas aos 21 dias na maioria dos espécimes estudados, sendo tal organização em pior qualidade quando comparada com o grupo normal.

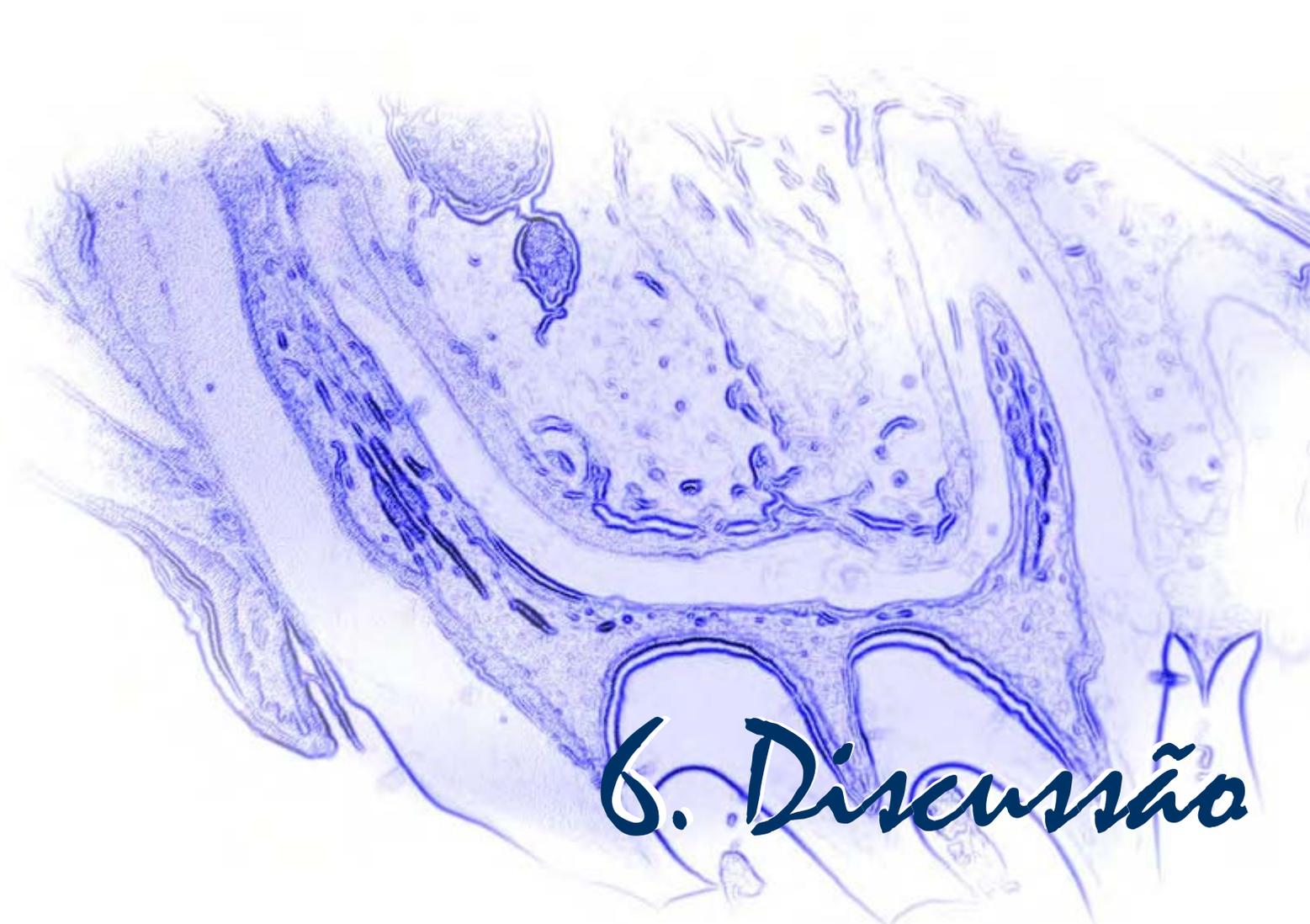
Aos 21 dias (Figura 15), nos quadrantes cervical e apical mesial, observou-se pouca quantidade de reabsorção nas superfícies radiculares, sendo menos evidente para a raiz mesial. Por outro lado, nos quadrantes cervical e apical distal, as reabsorções persistiram depois de 21 dias, especialmente quando estavam associadas ao persistente infiltrado inflamatório agudo intenso.

As áreas de neoformação óssea que apareceram aos 14 dias, sendo menores do que do grupo controle, continuaram a persistir aos 21 dias. Porém esta neoformação é menos intensa no septo interdental distal em comparação com a crista alveolar mesial do mesmo dente, e também foi mais discreta quando comparada com os ratos normais do mesmo período.



**Figura 14** - Aspectos microscópicos do periodonto do primeiro molar superior do rato diabético após 7 dias de movimentação dentária induzida. Neste período ainda se observa áreas de hialinização (H) além de áreas mais nítidas de neoformação óssea. **A.** Quadrante cervical distal da raiz mesial mostrando ainda indícios de hialinização. **B.** Quadrante apical da raiz mesial mostrando um panorama de reparação tecidual frente à movimentação dentária. **C.** Aspectos demonstrando a situação do septo interradicular com seus espaços medulares e num aumento maior (**D.**) Mostrando reabsorção radicular. **E.** Quadrante apical distal da raiz distal mostrando a tensão das fibras e a aposição óssea, um quadro semelhante ao quadro **F**, que pertence ao quadrante cervical distal da mesma raiz. (CC = cemento celular; OF = osso fasciculado; LP = ligamento periodontal; SID = septo interdental; SIR = septo interradicular; D = dentina; P = polpa) (H.E. **B** e **C** aumento original de 63x; **A**, **D**, **E**, **F** aumentos originais de 160x).





## 6. Discussão



# DISCUSSÃO

**A**ntes de tecer comentários a respeito dos resultados deste estudo, alguns aspectos sobre o método merecem atenção, a saber, o estudo em animal e a sua validade para o âmbito clínico, o uso de estreptozotocina, os métodos das análises quantitativas e o erro do método.

## **6.1 Considerações sobre o experimento em ratos**

Uma das maiores preocupações com relação aos experimentos em animais é se os resultados poderiam ser extrapolados para os humanos. Os estudos sobre os efeitos suscitados pela movimentação dentária experimental têm utilizado variados modelos experimentais.<sup>7-11,24-26,28-38,113,114</sup> Os modelos experimentais efetuados em animais de grande porte geralmente são dificultados pela quantidade da amostra, o que impõe como influência direta, a variabilidade individual sobre as conclusões alcançadas. Os estudos usando dentes humanos têm ficado restritos às reações teciduais frente à movimentação dentária induzida nas condições de

normalidade.<sup>33-36</sup> Por outro lado, o uso dos ratos apresenta algumas vantagens em relação aos outros animais para estudo das movimentações dentárias induzidas, a saber, custo menor, amostra maior com menos variáveis genéticas, facilidade no preparo do material histológico e disponibilidade dos anticorpos para técnicas de biologia molecular.<sup>8</sup>

Como existem grandes quantidades de estudos em ratos, incluindo a presente pesquisa, algumas diferenças morfológicas e fisiológicas do osso alveolar e do ligamento periodontal dos ratos em relação ao homem devem ser considerados. O osso alveolar dos ratos é mais denso, com poucos espaços medulares na sua estrutura e pouco tecido osteóide ao longo das superfícies do osso alveolar.<sup>115</sup> Estudos também demonstraram disparidades estruturais no arranjo das fibras periodontais,<sup>116,117</sup> além de apresentar uma velocidade maior na formação e no desenvolvimento dos dentes.<sup>45-47</sup> Especificamente em relação às respostas teciduais, Kvam<sup>45</sup> e Rygh<sup>46,47</sup> observaram similaridades destas em relação aos mecanismos desencadeados quando dentes humanos foram movimentados ortodonticamente, exceto a velocidade em que os fatos ocorreram.

O presente estudo objetivou comparar quantitativamente e qualitativamente o comportamento da movimentação dentária induzida entre ratos normais e diabéticos em estado inicial. As evidências representaram as tendências de comportamento que, mesmo com as limitações inerentes ao estudo, serviram como parâmetros para inferências clínicas. As análises quantitativas não tiveram pretensão em impor os valores com aplicação clínica direta, mas apenas servir para demonstrar a presença de disparidades que porventura possam existir.

Diabetes mellitus é uma doença considerada como problema de saúde pública. No Brasil, 12% da população têm a doença e há relatos de aumento de incidência em crianças o diabetes tipo 2,<sup>118</sup> antes comum apenas em adultos,<sup>2,82</sup> o que torna, cada vez mais provável que um paciente diabético, diagnosticado ou não, seja um candidato ao tratamento ortodôntico.

No presente estudo, utilizou-se os ratos para avaliar a histomorfometria da movimentação dentária experimental em estado diabético inicial, pois estes animais apresentam a capacidade de apresentar alterações crônicas e degenerativas em pouco tempo.<sup>119</sup>

O diabetes mellitus foi induzido pela administração em dose única de estreptozotocina, uma droga com alta especificidade e toxicidade menor quando comparada com aloxana, também indutora de diabetes. Há evidências que mostraram a necrose das células  $\beta$ , sete horas após a indução de diabetes com estreptozotocina. Passadas vinte e quatro horas, esses sinais tornaram-se ainda mais claros e o conteúdo de insulina pancreática é reduzido a 5% do normal.<sup>120</sup>

Schellini *et al.*<sup>119</sup> utilizaram em ratos a substância aloxana para indução de diabetes, uma substância derivada do ácido úrico que promove diabetes de longa duração também por destruir as células  $\beta$  do pâncreas. No entanto, a margem entre a dose diabetogênica da aloxana e a dose letal é estreita, com índice de mortalidade de 38,8%. Após indução aloxânica, 41,2% dos animais desenvolveram diabetes grave e 20% não desenvolveram a doença. Sendo assim, recomenda-se a observação dos animais após a indução por um período de 15 dias.

Nesta pesquisa, a realização dos testes glicêmicos comprovou a presença do estado diabético com índices glicêmicos médios acima de 320 mg/dl, este

índice foi em torno de 100 mg/dl para os ratos normais que foram submetidos à indução por tampão. No decorrer do experimento, observou-se perda de peso dos animais, o que pode ser atribuído como consequência do uso do acessório ortodôntico que dificultava a alimentação, em associação com o estado diabético, que é uma condição sistêmica relatada também por provocar perda de peso nos pacientes<sup>87</sup> e nos animais induzidos<sup>22,101,108</sup>

Quanto ao método da movimentação dentária, de acordo com Ren *et al.*<sup>7,8</sup> os molares dos ratos são aproximadamente 50 vezes menor em relação ao dos humanos, o que representaria aumento de 50 vezes maior de força quando aplicar a mesma intensidade de força nos dentes humanos para os ratos. Frente a este problema, os mesmos autores propuseram outros métodos de trabalho, no qual incluía os três molares como um bloco único para movimentação, assim a força estaria dissipando nos três dentes em vez de um. O presente estudo não seguiu o protocolo preconizado por Ren *et al.* devido à dificuldade de execução. Quanto ao método preconizado por Waldo e Rothblatt,<sup>60</sup> pode-se considerá-lo como inadequado para estudo, visto que a força liberada pelo elástico é intensa e de pouca qualidade no controle.<sup>8,109</sup> O uso da mola fechada é bastante preconizada na literatura,<sup>7-9,21,48,71-73,109</sup> e uso de uma mola calibrada para liberar até 25cN de força já foi previamente publicada, sendo considerada por apresentar melhor controle na força liberada por ser constituída pela liga de níquel-titânio.<sup>9,21</sup> Assim, apesar de 25cN ser uma força intensa para molar do rato, mas a padronização desta força em todos os animais implica que todos os animais foram submetidos ao mesmo estímulo mecânico.

## 6.2 Análises quantitativas

Nos trabalhos de pesquisas que envolvem mensurações de variáveis, existem erros inerentes ao método, que ora pode influenciar os resultados observados e distorcer as conclusões conseguidas. Os erros são categorizados como sendo aleatórios ou casuais e sistemáticos.<sup>110,111,112</sup> Os erros sistemáticos que ocorrem são aqueles inerentes ao próprio método, a saber, distorção devido ampliação das imagens, diferença inter-examinador e diferença intra-examinador, enquanto que os erros casuais são aqueles inerentes ao material estudado, a saber, nitidez das imagens, identificação das estruturas, irregularidade morfológicas com relação às mensurações de áreas.<sup>111</sup> A fim de amenizar estes erros, a literatura demonstra a necessidade de realizar cálculos, entre outros, teste *t* ou teste ANOVA, para detectar erro sistemático e a renomada fórmula de Dahlberg ou utilização das médias de duas<sup>121</sup> a três<sup>122</sup> mensurações repetidas para detectar e reduzir as possibilidades do erro casual.<sup>111</sup>

No presente estudo, nas análises quantitativas, tanto macro como microscópicas, foram efetuadas três mensurações para cada parâmetro mensurado, pois este método é mais vantajoso para diminuir o erro casual ou aleatório em comparação com o simples fato de apenas calcular o erro por meio da fórmula de Dahlberg, que consistia em detectar significância por meio do cálculo das diferenças entre a primeira e a segunda mensuração. Com relação ao erro sistemático, os cálculos por meio da análise de variância não detectaram diferenças significantes entre as três mensurações; além disso, apenas um único examinador efetuou as mensurações. Portanto, pode-se afirmar que neste estudo, o erro do método está presente, mas pouco significativo para as conclusões obtidas.

Com relação aos resultados quantitativos, o movimento dentário provocado foi predominantemente de inclinação dos molares superiores, a mensuração das alterações dentárias macroscópicas foi realizada no ato do sacrifício, colocando-se um calibrador de folga na face distal do dente movimentado. Este método conta com menos variáveis em relação ao método de mensuração da distância entre incisivo e primeiro molar publicada na literatura,<sup>7,8,16</sup> a qual pode estar incluindo a quantidade de distalização dos incisivos. Como desvantagem deste método, ainda deve ser contabilizada que o segundo molar também pode alterar de posição devido ao tracionamento das fibras gengivais e pelo crescimento do focinho do rato, condições que devem ser consideradas como sendo de variabilidade similar para todos os ratos.

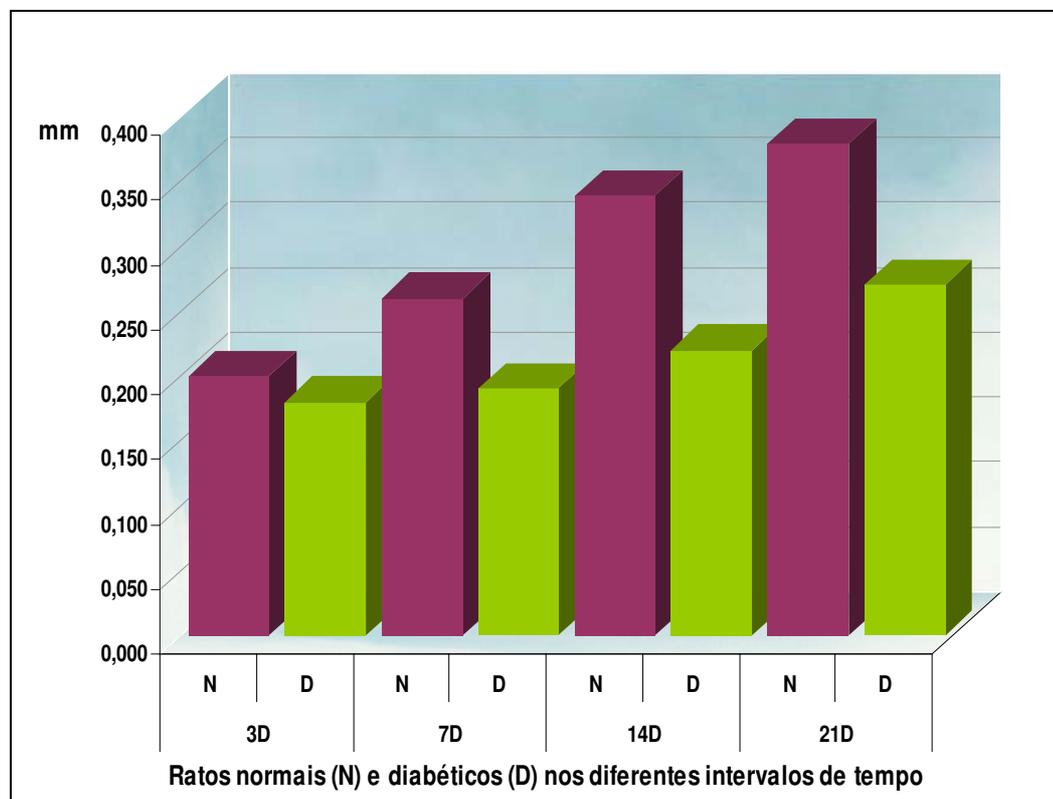
De acordo com os resultados quantitativos macroscópicos, não se observou diferença estatisticamente significativa somente entre os terceiros dias pós-movimentação quando o grupo diabético foi comparado com o grupo normal, uma situação que se tornou significativamente diferente quando avaliado no sétimo, décimo quarto e vigésimo primeiro dia (Gráfico 1). Todas as comparações efetuadas entre o lado experimental e o controle mostraram diferenças estatisticamente significantes. Estes resultados são inéditos na literatura devido à escassez de dados, não podendo ser comparados com os resultados obtidos por Antonio,<sup>22</sup> devido às diferenças nas amostras de estudo.

Apesar da ausência de parâmetros comparativos, alguns achados interessantes mereceram destaques. Com relação ao comportamento da movimentação dentária, representado pelo gráfico 1, pode-se observar que houve um aumento gradual do espaço entre os dois molares, este comportamento foi

similar às observações de Kohno *et al.*<sup>14</sup> mas um pouco diferente daquele proposto por Burstone em 1962,<sup>123</sup> quem sugeriu que existem três fases distintas da movimentação dentária, a saber, fase inicial, fase de estagnação (*lag phase*) e fase após estagnação (*postlag phase*). A fase inicial é caracterizada pela rápida movimentação imediatamente após a aplicação da força no dente, a qual pode ser atribuída ao deslocamento dentário dentro do espaço periodontal. Depois da fase inicial, segue-se um período de relativa estagnação, com pouca ou nenhuma movimentação dentária, a qual é sugerida como sendo resultado da presença de áreas de hialinização na região de compressão do ligamento periodontal. A movimentação dentária não seria possível até a remoção de todos os tecidos hialinizados. A terceira fase da movimentação dentária, que vem em seguida, é caracterizada pela continuação do movimento dentário de forma gradual ou súbita. Estas diferenças no comportamento provavelmente foram devido à diferença na aplicação das forças que está diretamente relacionada à quantidade de áreas de hialinização presente como sugeriram os autores Kohno *et al.*<sup>14</sup>

Com relação aos valores obtidos, convém considerar que as diferenças, apesar de serem significantes do ponto de vista estatístico, podem ser consideradas insignificantes em termos clínicos, sendo representadas por décimos de milímetros. Todavia, em termos proporcionais, no décimo primeiro dia experimental, o grupo diabético apresentou uma quantidade de deslocamento dentário correspondente apenas a 70% do grupo normal. Assim, é razoável e realista considerar isto como uma tendência demonstrada pela amostra limitada do presente estudo, sugerindo uma velocidade de movimentação dentária suavemente mais demorada.

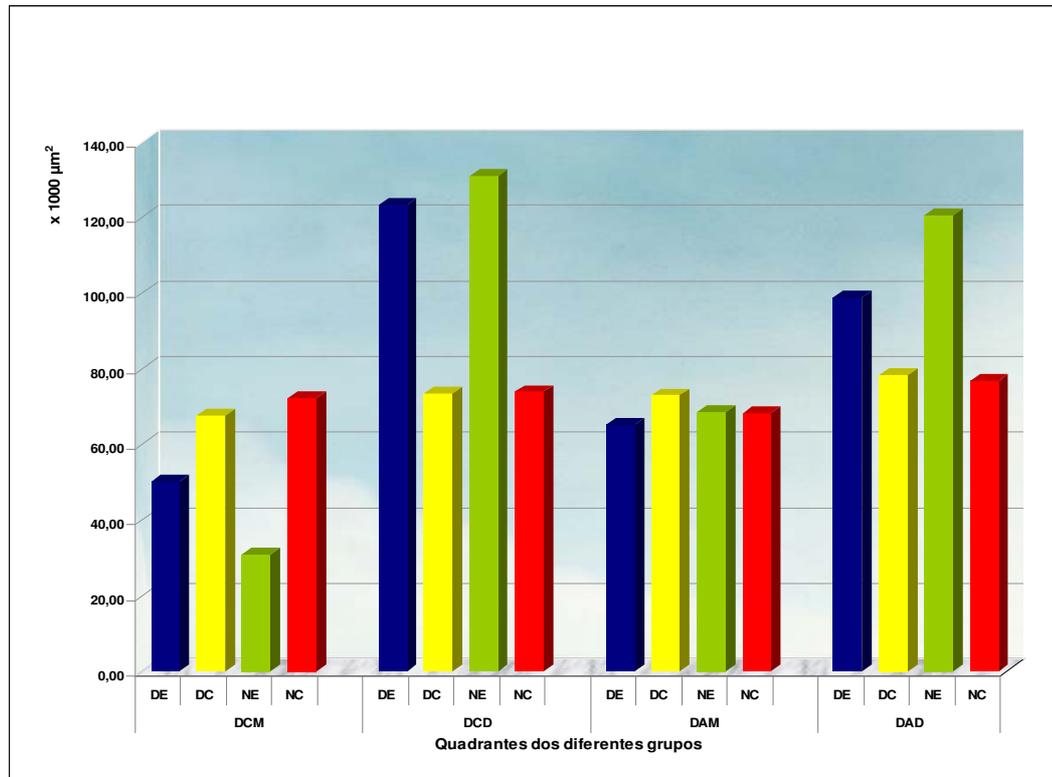
**Gráfico 1** – Alterações dimensionais macroscópicas do espaço interproximal distal dos ratos normais e diabéticos



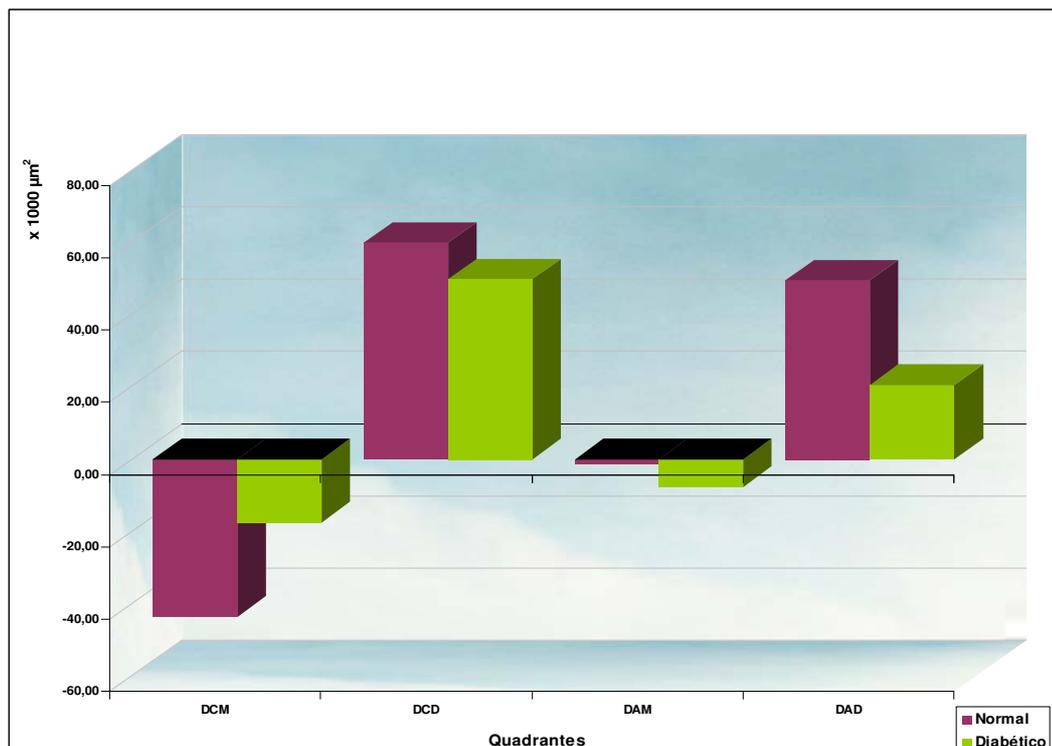
No aspecto microscópico quantitativo, os quadrantes mesiais, tanto cervicais como apicais, não mostraram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos, enquanto que houve algumas diferenças significantes entre os grupos nos quadrantes distais (Tabelas 9 e 10).

As áreas médias bem como as diferenças entre o lado experimental e controle do espaço periodontal dos quatro quadrantes analisados nos diferentes intervalos de tempo estão representados nos gráficos 2 a 9.

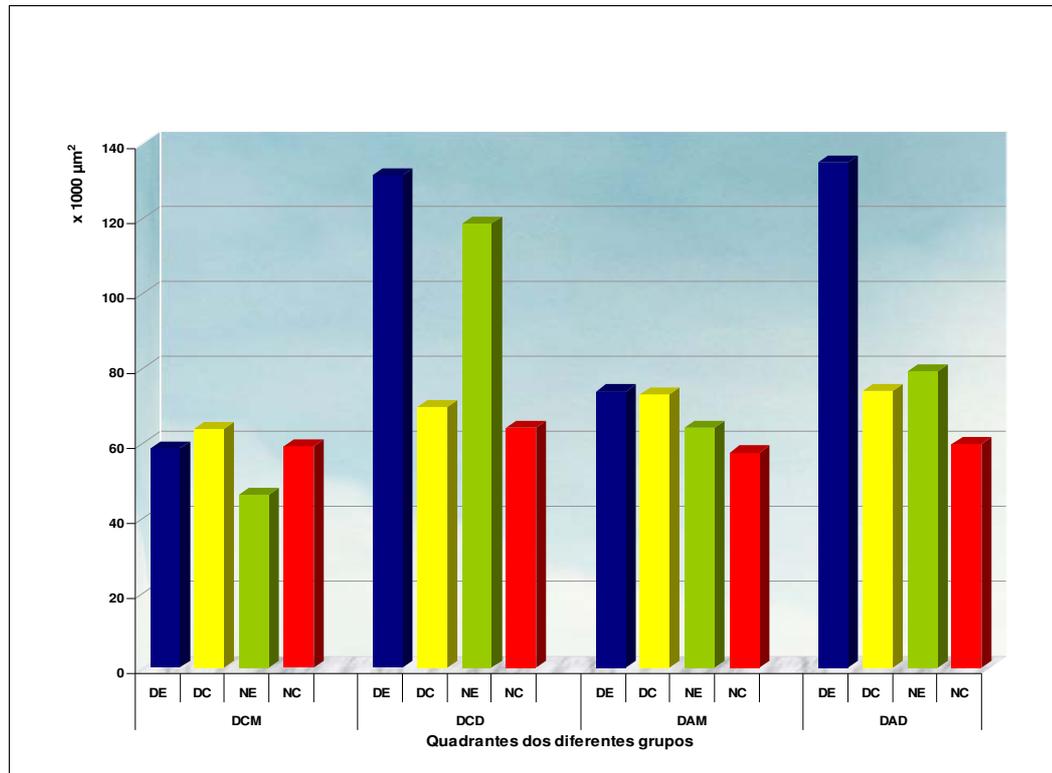
**Gráfico 2** - Áreas médias do espaço periodontal dos 4 quadrantes analisados entre os grupos no 3º dia pós-movimentação



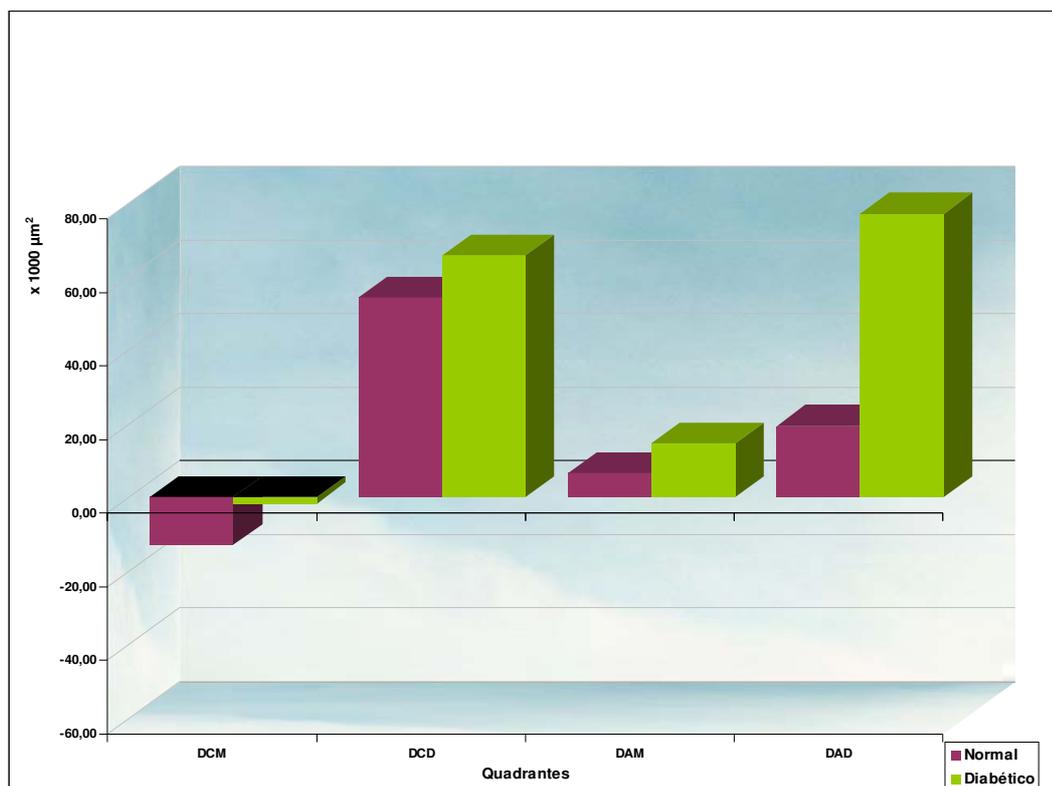
**Gráfico 3** - Diferenças médias das áreas dos espaços periodontais do lado experimental em relação ao lado controle entre grupo normal e diabético no 3º dia pós-movimentação



**Gráfico 4** – Áreas médias do espaço periodontal dos 4 quadrantes analisados entre os grupos no 7º dia pós-movimentação



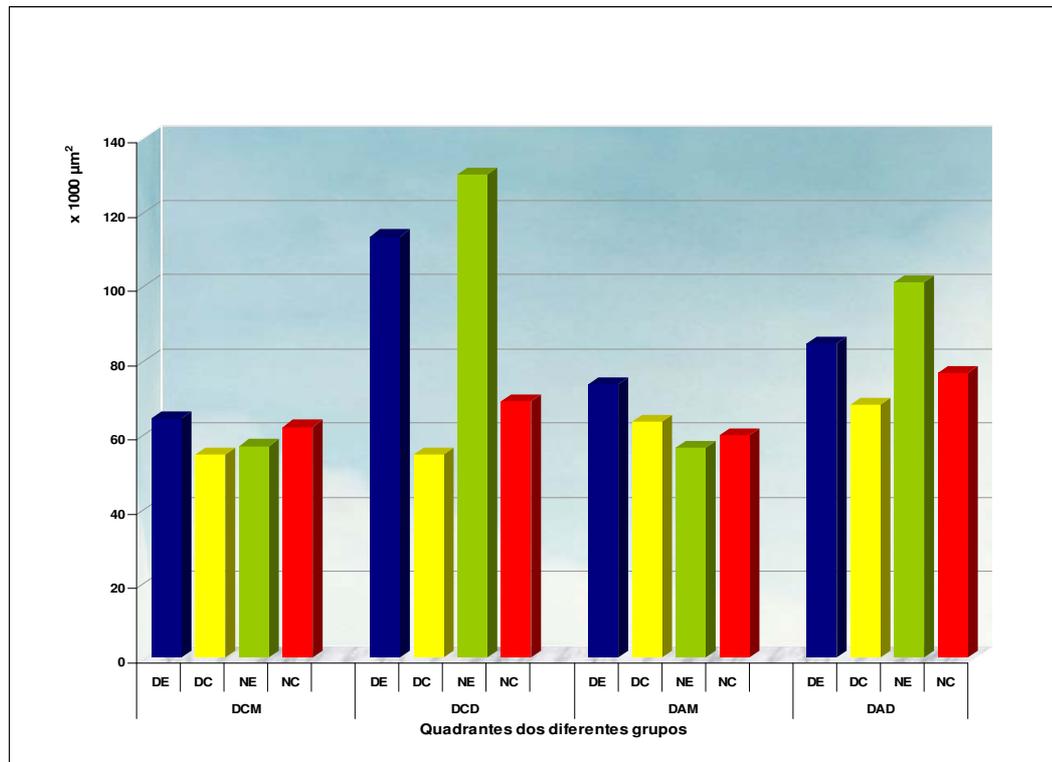
**Gráfico 5** – Diferenças médias das áreas dos espaços periodontais do lado experimental em relação ao lado controle entre o grupo normal e diabético no 7º dia pós-movimentação



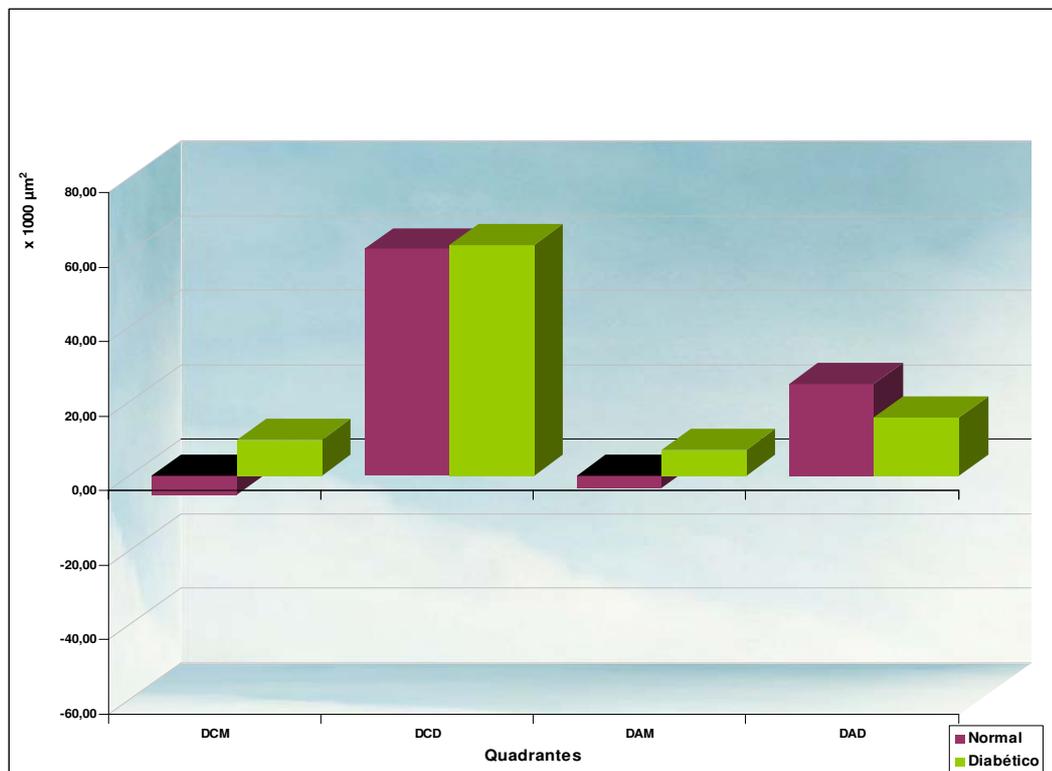
No terceiro e no sétimo dia pós-movimentação, as maiores diferenças entre os grupos foram observadas nos quadrantes DCD e DAD representadas pelas colunas azul e verde, respectivamente, dos grupos diabético e normal (Gráficos 2 e 4). As poucas diferenças existentes nos quadrantes mesiais provavelmente foram devido à limitação anatômica oferecida pelo septo interradicular, que por ser mais volumoso, oferece maior resistência contra a movimentação da raiz distal.

Quando foram comparadas as diferenças do lado experimental em relação ao controle (Gráfico 3 e 5) entre o grupo normal e o diabético, as colunas representativas do grupo normal e diabético no quadrante DCM ficaram invertidas, implicando que os valores das diferenças foram negativas. Um valor negativo implica que o lado experimental foi menor em relação ao lado controle, indicando que a movimentação realmente foi significativo em relação ao lado não movimentado. Comparativamente, pode-se visualizar que isto foi mais marcante para o grupo normal do que o diabético. As menores diferenças observadas (colunas curtas) no quadrante DAM implicam que o lado controle e experimental foram similares, com pouca movimentação dentária. Especificamente no sétimo dia, para o quadrante DAD, as diferenças entre o lado experimental e controle do grupo diabético (coluna verde) apresentou valor extremamente positivo (área do espaço periodontal aumentada), isto pode ter ocorrido devido à deflexão óssea e diferença no tamanho radicular entre o lado controle e experimental. Esta casualidade rapidamente foi amenizada no décimo quarto dia pós-movimentação (Gráfico 6).

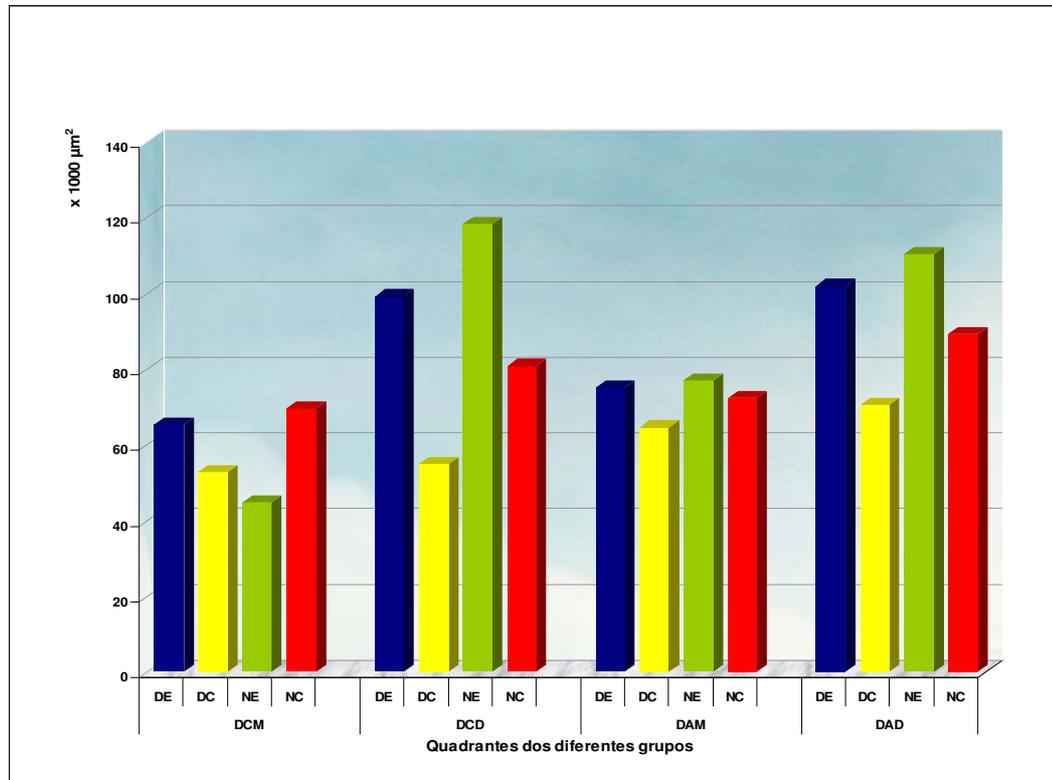
**Gráfico 6** – Áreas médias do espaço periodontal dos 4 quadrantes analisadas entre os grupos no 14º dia pós-movimentação



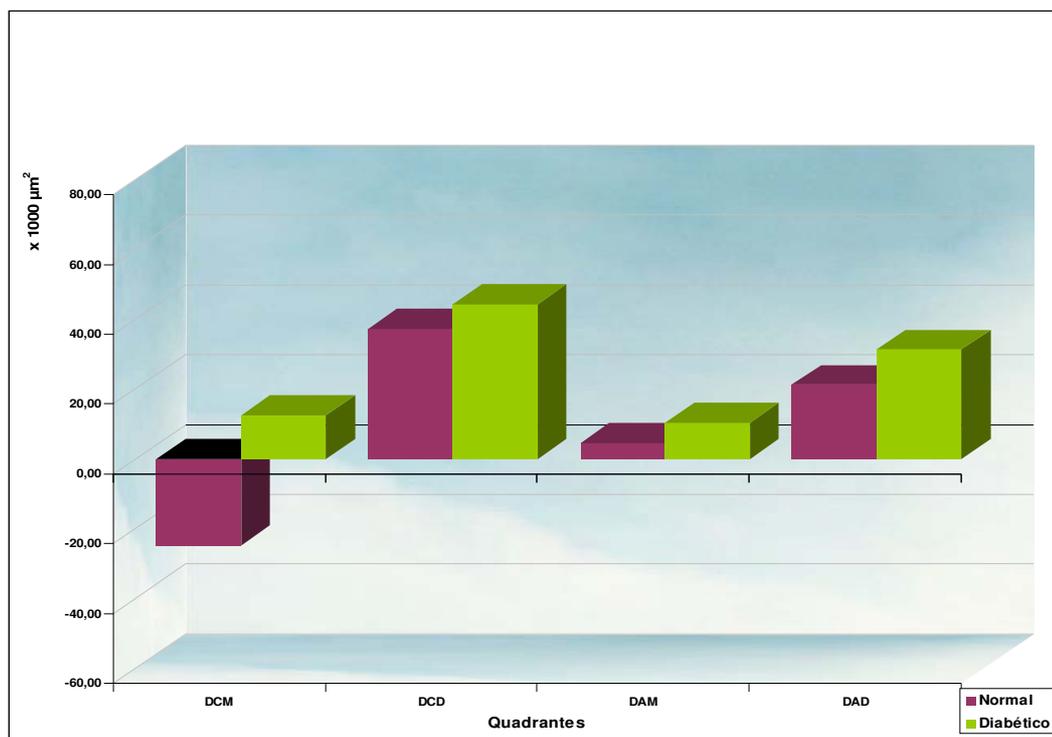
**Gráfico 7** – Diferenças médias dos espaços periodontais do lado experimental em relação ao lado controle entre grupo normal e diabético no 14º dia pós-movimentação



**Gráfico 8** – Áreas médias do espaço periodontal dos quadrantes analisados entre os grupos no 21º dia pós-movimentação



**Gráfico 9** – Diferenças médias dos espaços periodontais do lado experimental em relação ao lado controle entre grupo normal e diabético no 21º dia pós-movimentação



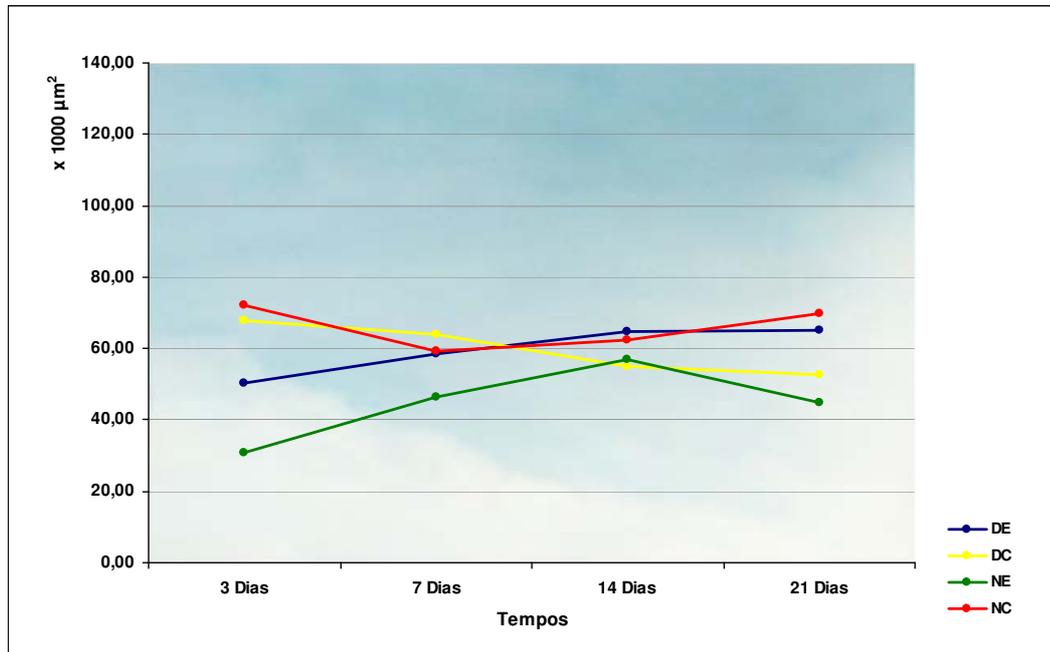
Os gráficos que representaram o quadrante DCD de todos os grupos foram os que se comportaram com maiores discrepâncias, desde o terceiro até o décimo quarto dia; depois disso, houve uma tendência à normalização. Isto foi verdadeiro tanto para as áreas médias obtidas como também para as diferenças do lado experimental em relação ao controle (Gráficos 7 a 9).

Em termos gerais, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes, com exceção da maioria dos quadrantes cervicais distais, isto pode ser atribuído à variação muito grande dos desvios-padrão entre os grupos e também a uma amostra pequena. Apesar da diferença insignificante, ainda podem ser observadas algumas tendências interessantes. Pode ser visualizado que as alterações maiores ocorreram nos tempos do terceiro e do sétimo dia, depois disso, houve uma tendência de recuperação do espaço periodontal nas áreas de compressão e uma menor tendência nas áreas de tensão. Esta ocorrência foi observada para grupos normais e diabéticos, sugerindo que em termos de comportamento quantitativo, ambos os grupos foram similares, o que implica possibilidade de promover movimentação ortodôntica no periodonto em estado diabético inicial.

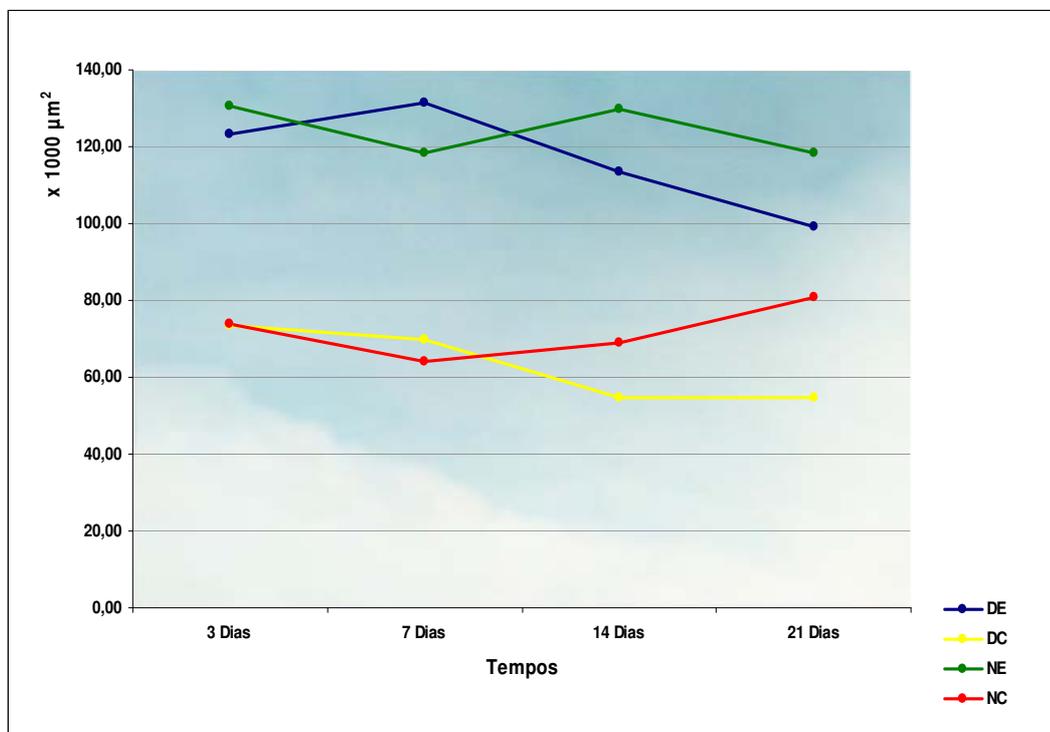
Quando as áreas médias dos grupos foram comparadas ao longo do tempo, também foram observadas poucas diferenças estatisticamente significantes (Tabelas 13 a 18 e Gráficos 10 a 15).

Novamente, observou-se que as maiores alterações ocorreram nos primeiros períodos do estudo e ocorreram nos quadrante cervicais principalmente distais.

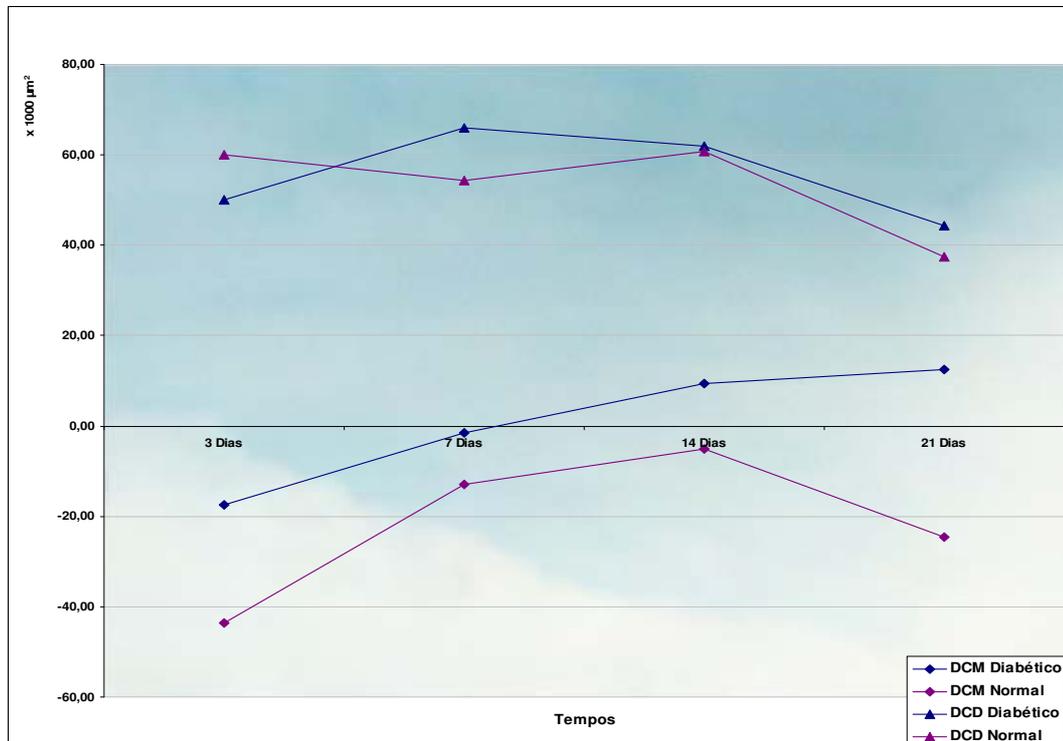
**Gráfico 10** – Áreas médias do espaço periodontal dos quadrantes cervicais mesiais analisados nos diferentes intervalos de tempo



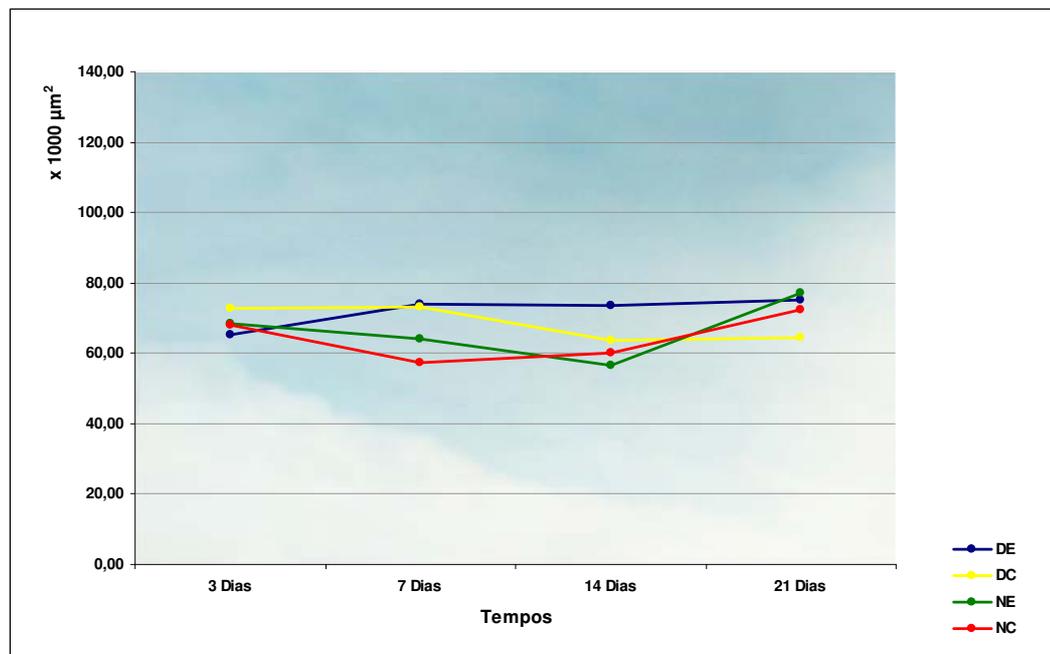
**Gráfico 11** – Áreas médias do espaço periodontal dos quadrantes cervicais distais analisados nos diferentes intervalos de tempo



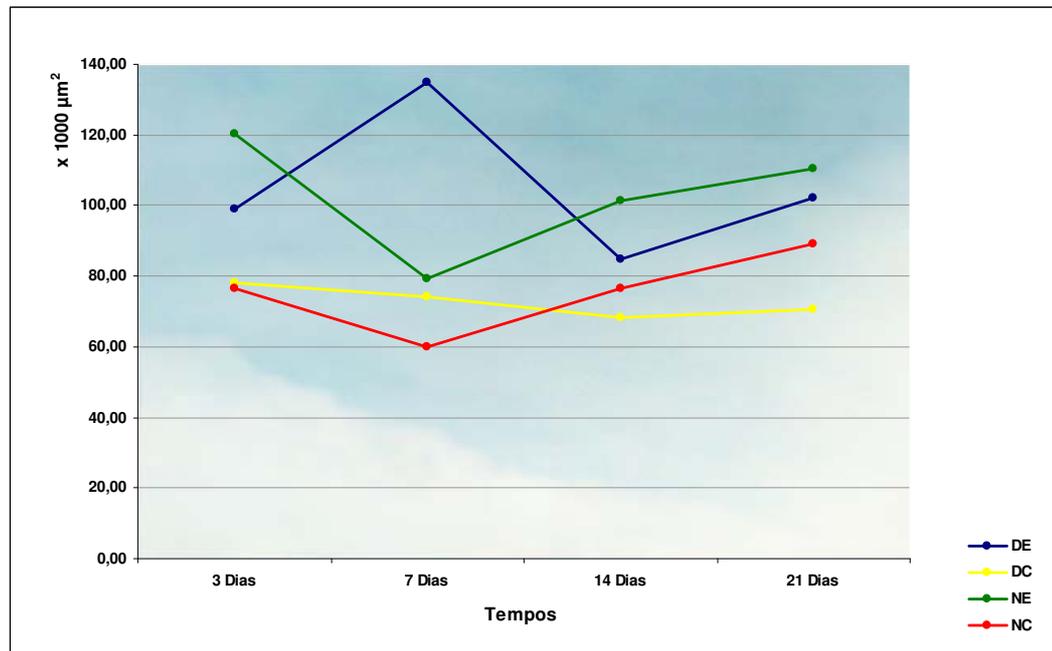
**Gráfico 12** – Diferenças médias dos espaços periodontais dos quadrantes cervicais entre o grupo normal e diabético nos 4 tempos de estudo



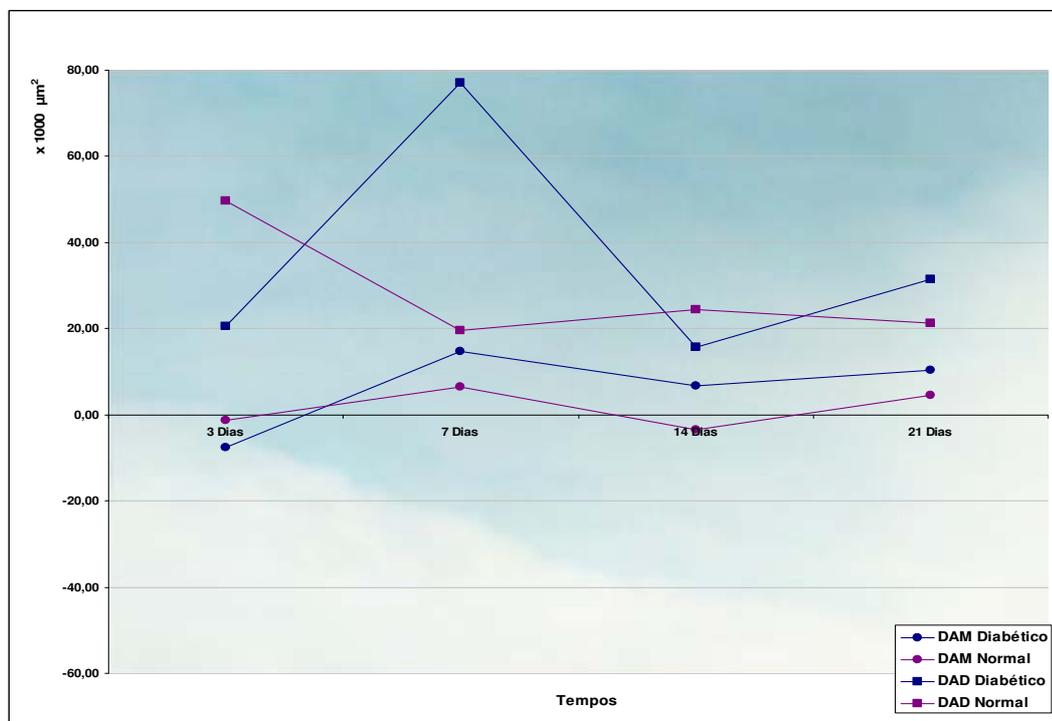
**Gráfico 13** – Áreas médias do espaço periodontal dos quadrantes apicais mesiais analisados nos diferentes intervalos de tempo



**Gráfico 14** – Áreas médias do espaço periodontal dos quadrantes apicais distais analisados nos diferentes intervalos de tempo



**Gráfico 15** – Diferenças médias dos espaços periodontais dos quadrantes apicais entre o grupo normal e diabético nos 4 tempos de estudo



### 6.3 Análises qualitativas

As condições teciduais sob movimentação dentária induzida em ratos normais foram bastante publicadas e os aspectos morfológicos descritos foram semelhantes aos daqueles observados nos dentes humanos.<sup>45-47</sup> Por outro lado, os aspectos apresentados sob influência do estado periodontal diabético foram escassos.<sup>4,22</sup> Holtgrave e Donath<sup>4</sup> constataram que as manifestações dos efeitos do diabetes induzido sobre o tecido periodontal surgiram somente no décimo e no décimo quarto dia experimental, havendo fragilidade capilar, retardo na neoformação óssea bem como na mineralização do osso neoformado. Antonio<sup>22</sup> também concluiu afirmando ter uma qualidade anormal nos quadros histológicos dos ratos diabéticos perante a movimentação dentária induzida, apesar de não aparentar diferenças nas taxas da movimentação entre os ratos normais, diabéticos e diabéticos tratados com insulina. Os resultados qualitativos corroboraram com os estudos acima citados. No presente estudo, o tempo entre a indução e a movimentação dentária foi de 3 a 4 dias, um tempo considerado curto. Assim, pode-se considerar que o estado diabético ainda se encontrava na fase inicial.

À microscopia de luz, observou-se que as respostas inflamatórias foram mais intensas no sétimo dia pós-movimentação, observando em ambos os grupos persistência do infiltrado inflamatório agudo composto predominantemente por neutrófilos polimorfonucleares. De acordo com a literatura, há uma correlação estreita entre o desequilíbrio funcional dos neutrófilos e a destruição periodontal grave no estado diabético, este desequilíbrio foi sugerido por resultar de uma redução na quimiotaxia, na aderência e na atividade de fagocitose destas células

inflamatórias.<sup>124-127</sup> De acordo com o estudo ultra-estrutural de Özsoy *et al.*<sup>128</sup> As alterações apresentadas pelos neutrófilos se tornaram marcantes somente para os ratos com as taxas glicêmicas acima de 400 mg/dl. Nesses ratos, houve supressão da aderência celular ao endotélio dos vasos, redução da quimiotaxia e, conseqüentemente, migração dos neutrófilos para a região da inflamação. Além disso, observou-se, nos ratos diabéticos graves, neutrófilos com aparências estruturais distorcidas sugerindo inviabilidade celular. Estas observações não foram possíveis de evidenciar com o método deste estudo, que foi fundamentalmente histomorfológico à microscopia de luz, mas pelas taxas glicêmicas constatadas nas amostras dos ratos com diabetes, inferiores a 400 mg/dl, pareceu pouca possibilidade que o desequilíbrio dos neutrófilos tenha acontecido de forma grave. Futuros estudos focalizando sobre as reações inflamatórias agudas serão necessários para maior esclarecimento destas afirmações.

Nos períodos de 14 e 21 dias pós-movimentação, houve sinais de neoformação óssea para ambos os grupos, porém o grupo diabético apresentou uma quantidade de neoformação óssea aparentemente menor (Figuras 11 e 15). Estas observações não somente foram unânimes para a movimentação dentária induzida,<sup>4,22</sup> mas também para as condições diabéticas onde houve perda óssea devido aos problemas de doenças periodontais.<sup>3,6</sup> Diabetes tipo 1 tem sido associado a osteoporose<sup>101-103</sup> e à osteopenia, tanto pela diminuição da densidade mineral como pelas alterações na neoformação óssea.<sup>98,129-131</sup> Por outro lado, a relação da presença de perda óssea e diabetes tipo 2 é menos clara.<sup>130</sup> Segundo He *et al.*<sup>3</sup> nos camundongos que desenvolveram naturalmente diabetes tipo 2, diante

de uma agressão bacteriana, houve redução de osteoclastogênese e reabsorção óssea, simultaneamente, ocorreu também redução na neoformação óssea e expressão de osteocalcina, um indicador da atividade osteoblástica; uma boa parte desta redução pode ser explicada pelo aumento de apoptose das células ósseas de revestimento. Comparativamente, a redução da neoformação foi mais marcante do que reabsorção, o que acarretou em última instância uma perda óssea mais acentuada. Todavia, a literatura é divergente mostrando que a remodelação óssea fisiológica não foi afetada pelo diabetes tipo 2. Segundo Holzhausen *et al.*,<sup>5</sup> nos ratos diabéticos induzidos de curto prazo, a perda óssea não foi afetada pela condição diabética, embora a condição inflamatória tenha elevado a taxa glicêmica nos ratos diabéticos não controlados. No presente estudo, não se realizou avaliação histométrica do osso neoformado, a conclusão foi subjetiva, portanto, incapaz de destacar se a diferença entre neoformação óssea do rato diabético e normal foi significativa, apesar de observar uma tendência de redução para o grupo diabético.

Com relação à inflamação observada entre o epitélio e a crista alveolar no lado distal do dente, isto provavelmente foi devido à presença física do fio de amarelo sobre a mucosa gengival, que provocou micro-erosões. Estes quadros não foram encontrados no lado controle do mesmo rato. Devido à facilidade do rato diabético em contrair infecção, estes quadros ficaram evidentes com áreas edemaciadas com o infiltrado inflamatório crônico e até mesmo agudo em alguns espécimes. Estes fatos também foram chamativos, pois o uso do aparelho ortodôntico requer uma monitoração de higiene bucal rigorosa para diminuir a ocorrência da gengivite. Nos casos dos pacientes diabéticos, devido à dificuldade

de reparação, a gengivite pode ficar mais exacerbada ainda na ausência dos protocolos adequados de higienização.

Com relação à presença de áreas de hialinização, isto foi decorrente do estresse provocado pela força do aparelho, e o seu aparecimento desconsiderou o estado de normalidade ou diabético do periodonto. Quando o tecido periodontal é comprimido, normalmente, áreas hialinas seriam removidas pela ação dos leucócitos e macrófagos, simultaneamente, reabsorção à distância pode ser observada, com o objetivo de remover “obstáculos” ósseos, para restaurar a largura normal do espaço periodontal. Diabetes geralmente está associado à secreção aumentada de mediadores da inflamação, da colagenase, portanto foi da expectativa que os fenômenos de reabsorção da área hialina fossem mais intensos em relação ao grupo normal. No presente estudo, este tipo de avaliação não foi possível e, aparentemente, não teve grandes diferenças com relação à presença e eliminação das áreas hialinas entre o grupo normal e diabético.

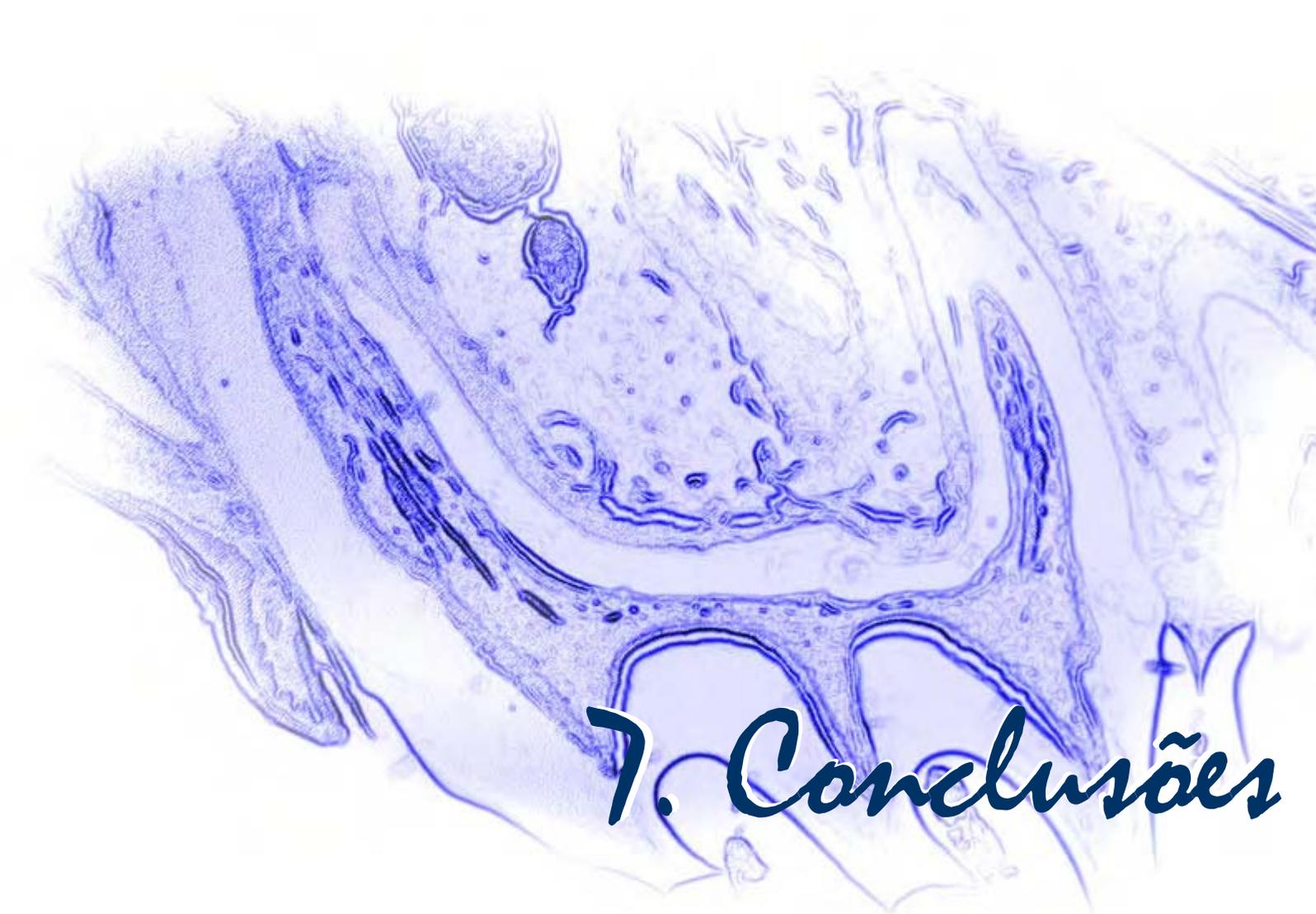
Com relação à reabsorção óssea, isto ocorreu tanto frontalmente como à distância para ambos os grupos, mostrando que mesmo deficiente, o estado diabético ainda possibilitava o processo de remodelação óssea, o que corroboraram com as evidências da literatura.<sup>4,5,22</sup> A reabsorção radicular também foi observada para ambos os grupos, sugerindo que sob as mesmas condições de forças aplicadas, tanto o estado normal como diabético apresentaram susceptibilidade similares para reabsorção radicular.

#### **6.4 Considerações finais**

No presente estudo, tanto os ratos diabéticos como os normais foram submetidos à movimentação dentária induzida. Macroscopicamente, a quantidade

da movimentação dentária induzida para o grupo diabético foi menor em relação ao grupo normal, todavia esta diferença estatisticamente significativa, pareceu ter pouco impacto clínico devido às diferenças serem de unidades numéricas insignificantes. À microscopia de luz, não houve diferenças significantes entre o grupo normal e diabético, provavelmente devido ao tempo curto de indução, à limitação da amostra e da presença de grandes desvios-padrão. As diferenças qualitativas observadas nos sustentam que o estado diabético debilita a resposta tecidual frente ao estímulo mecânico, porém, isto não parece ser uma contra-indicação para realizar movimentos ortodônticos, pois as respostas do tecido ósseo foram favoráveis nas áreas de pressão e de tensão quando não havia presença da infecção. Além disso, o aparecimento da infecção não foi referente ao estímulo ósseo proporcionado pelo tracionamento e sim pela presença física do acessório ortodôntico instalado e pelo trauma proporcionado durante o processo experimental. A infecção obtida com o persistente trauma na região distal do dente interferiu com os resultados do tracionamento ortodôntico na maioria dos animais. A aparente menor quantidade de neoformação óssea sugere cautela no protocolo de ativação para os pacientes diabéticos.

Futuras pesquisas utilizando métodos imunohistoquímicos e marcadores moleculares serão interessantes para avaliar de forma mais aprofundada sobre a dinâmica celular e molecular comparando o estado diabético e de normalidade perante a movimentação dentária induzida.



7. Conclusões



# CONCLUSÕES

Considerando as limitações inerentes ao estudo, os dados observados permitiram concluir que, em estado diabético inicial:

1. Macroscopicamente, exceto no terceiro dia, os ratos diabéticos demonstraram menores magnitudes de movimentação dentária, sendo este fato, entretanto, de pouco impacto clínico;
2. Quantitativamente, os quadrantes cervicais distais apresentaram alterações mais significativas após a movimentação dentária experimental no 3º, 7º e 14º dia, tanto para ratos normais como diabéticos. Após 21º dia, as espessuras dos espaços periodontais tenderam retornar para normalidade mostrando similaridade entre o lado experimental e o lado controle;
3. As diferenças quantitativas significantes, no lado experimental, entre ratos diabéticos e normais foram esporádicas nos períodos de estudo, com pouco impacto clínico;

4. Nos quatro períodos estudados, as diferenças qualitativas e quantitativas marcantes ocorreram principalmente no terceiro e no sétimo dia após a movimentação dentária induzida;
5. Qualitativamente, observou-se menos quantidade de osso neoformado no grupo diabético em relação ao normal no 21º dia experimental, todavia este fato não impossibilitou a movimentação dentária experimental nem as reações teciduais desencadeadas pela mesma.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. EKOÉ, J. M.; ZIMMET, P.; WILLIAMS, R. *The epidemiology of diabetes mellitus: an international perspective*. New York: Wiley, 2001. 429p.
2. BENSCH, L.; BRAEM, M.; WILLEMS, G. Orthodontic considerations in the diabetic patient. *Semin. Orthod.*, v.10, n.4, p.252-8, 2004.
3. HE, H.; LIU, R.; DESTA, T.; LEONE, C.; GERSTENFELD, L. C.; GRAVES, D. T. Diabetes causes decreased osteoclastogenesis, reduced bone formation, and enhanced apoptosis of osteoblastic cells in bacteria stimulated bone loss. *Endocrinology*, v.145, n.1, p.447-52, 2004.
4. HOLTGRAVE, E. A.; DONATH, K. Periodontal reactions to orthodontic forces in the diabetic metabolic state. *Fortschr. Kieferorthop.*, v.50, n.4, p.326-37, 1989.
5. HOLZHAUSEN, M.; GARCIA, D. F.; PEPATO, M. T.; MARCANTONIO JUNIOR., E. The influence of short-term diabetes mellitus and insulin therapy on alveolar bone loss in rats. *J. Periodontal Res.*, v.39, n.3, p.188-93, 2004.
6. MEALEY, B. L.; MORITZ, A. J. Hormonal influences: effects of diabetes mellitus and endogenous female sex steroid hormones on the periodontium. *Periodontol.* 2000, v.32, p.59-81, 2003.
7. REN, Y.; MALTHA, J. C.; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M. Optimum force magnitude for orthodontic tooth movement: a systematic literature review. *Angle Orthod.*, v.73, n.1, p.86-92, 2003.
8. 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, 2004.

9. VERNA, C.; ZAFFE, D.; SICILIANI, G. Histomorphometric study of bone reactions during orthodontic tooth movement in rats. *Bone*, v.24, n.4, p.371-9, 1999.
10. SANDSTEDT, C. E. Nagra bidrag till tandregleringens teori. Stockholm: Kungl Boktryckeriet/Nordstedt & Söner, 1901. *apud* PERSSON, M. A 100th anniversary: Sandstedt's experiments on tissue changes during tooth movement. *J. Orthod.*, v.32, n.1, p.27-8, 2005.
11. SANDSTEDT, C. Einige Beiträge zur Theorie der Zahnregulierung. Nord. Tandl. Tidskr., v. 5, p. 236–56, 1904 *apud* PERSSON, M. A 100th anniversary: Sandstedt's experiments on tissue changes during tooth movement. *J. Orthod.*, v.32, n.1, p.27-8, 2005.
12. SANDSTEDT, C. Einige Beiträge zur Theorie der Zahnregulierung. Nord. Tandl. Tidskr., v. 6, p.1–25, 141–68, 1905 *apud* PERSSON, M. A 100th anniversary: Sandstedt's experiments on tissue changes during tooth movement. *J. Orthod.*, v.32, n.1, p.27-8, 2005.
13. KAWARIZADEH, A.; BOURAUUEL, C.; ZHANG, D.; GOTZ, W.; JÄGER, A. Correlation of stress and strain profiles and the distribution of osteoclastic cells induced by orthodontic loading in rat. *Eur. J. Oral Sci.*, v. 112, n.2, p.140-7, 2004.
14. KOHNO, T.; MATSUMOTO, Y.; KANNO, Z.; WARITA, H.; SOMA, K. Experimental tooth movement under light orthodontic forces: rates of tooth movement and changes of the periodontium. *J. Orthod.*, v.29, n.2, p.129-35, 2002.
15. NOXON, S. J.; KING, G. J.; GU, G.; HUANG, G. Osteoclast clearance from periodontal tissues during orthodontic tooth movement. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, v.120, n.5, p.466-76, 2001.
16. REN, Y.; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M.; MALTHA, J. C. Immunohistochemical evaluation of osteoclast recruitment during experimental tooth movement in young and adult rats. *Arch. Oral Biol.*, v.50, n.12, p.1032-9, 2005.

17. RODY JUNIOR., W. J.; KING., G. J.; GU, G. Osteoclast recruitment to sites of compression in orthodontic tooth movement. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, v.120, n.5, p.477-89, 2001.
18. SHIRAZI, M.; DEHPOUR, A. R.; JAFARI, F. The effect of thyroid hormone on tooth movement in rats. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, v.23, n.3, p.259-64, 1999.
19. SOMA, S.; IWAMOTO, M.; HIGUCHI, Y.; KURISU, K. Effects of continuous infusion of PTH on experimental tooth movement in rats. *J. Bone Miner. Res.*, v.14, n.4, p.546-54, 1999.
20. GANDINI JUNIOR, L. G.; MARTINS, J. C. R.; RAMALHO, L. T. O.; DUARTE, L.M. Avaliação histológica do periodonto de sustentação do molar do rato, submetido à movimentação ortodôntica, sob a ação do ultra-som. *Rev. Odontol. UNESP*, v.23, n.1, p.37-49, 1994.
21. VERNA, C.; DALSTRA, M.; MELSEN, B. The rate and the type of orthodontic tooth movement is influenced by bone turnover in a rat model. *Eur. J. Orthod.*, v.22, n.4, p.343-52, 2000.
22. ANTONIO, A. C. F. R. *Influência do diabetes mellitus experimental no movimento ortodôntico em ratos*, 2003. 110f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.
23. PITHON, M. M.; RUELLAS, C. V. O.; RUELLAS, A. C. O. Orthodontic treatment of a patient with Type I diabetes mellitus. *J. Clin. Orthod.*, v. 39, n.7, p. 435-9, 2005.
- 24.. HARRIS, C. A. The dental art, practical treatise on dental surgery. Baltimore: Armstrong and Berry, 1839. *apud* MEIKLE, M. C. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *Eur. J. Orthod.*, v.28, n.3, p.221-40, 2006.
25. OPPENHEIM, A. Tissue changes, particularly of the bone, incident to tooth movement. *Am. Orthod.*, v.3, p.56-67, 113-32, 1911/1912.

26. OPPENHEIM, A. Bone changes during tooth movement. *Int. J. Orthod. Oral Surg. Radiog.*, v.16, p.535-51, 1930.
27. MEIKLE, M. C. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *Eur. J. Orthod.*, v.28, n.3, p.221-40, 2006.
28. OPPENHEIM, A. Biologic orthodontic theory and reality. A theoretical and practical treatise. *Angle Orthod.*, v.5, n.3, p.159-211, 1935.
29. OPPENHEIM, A. Biologic orthodontic theory and practice. *Angle Orthod.*, v. 6, p.5-38, 69-116, 153-83, 1936.
30. GOTTLIEB, B.; ORBAN, B. Die veränderungen der gewebe bei übermässiger beanspruchung der zähne. Verlag. von Georg Thieme, Leipzig. *apud* MEIKLE, M.C. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *Eur. J. Orthod.*, v.28, n.3, p.221-40, 2006.
31. SCHWARZ, A. M. Tissue changes incidental to orthodontic tooth movement. *Int. J. Orthod. Oral Surg. Radiog.*, v.18, p.331-52, 1932.
32. BREITNER, C. Bone changes resulting from experimental orthodontic treatment. *Am. J. Orthod. Oral Surg.*, v.26, p.521-47, 1940.
33. REITAN, K. The initial tissue reaction incident to orthodontic tooth movement as related to the influence of function; an experimental histologic study on animal and human material. *Acta Odontol. Scand. Suppl.*, v.6, p.1-240, 1951.
34. REITAN, K. Some factors determining the evaluation of forces in orthodontics. *Am. J. Orthod.*, v.43, p.32-45, 1957.
35. REITAN, K. Tissue rearrangement during retention of orthodontically rotated teeth. *Angle Orthod.*, v.29, p.105-13, 1959.
36. REITAN, K. Effects of force magnitude and direction of tooth movement on different alveolar types. *Angle Orthod.*, v.34, p.244-55, 1964.

37. STOREY, E. Bone changes associated with tooth movement. A histological study of the effect of force in the rabbit, guinea pig and rat. *Aust. J. Dent.*, v. 59, p.147-61, 1955.
38. STOREY, E. Bone changes associated with tooth movement. A histological study of the effect of force for varying durations in the rabbit, guinea pig and rat. *Aust. J. Dent.*, v.59, p.209-19, 1955.
39. STOREY, E. Bone changes associated with tooth movement. A histological study of the effect of age and sex in the rabbit and guinea pig. *Aust. J. Dent.*, v.59, p.220-4, 1955.
40. STOREY, E.; SMITH, R. Force in orthodontics and its relation to tooth movement. *Aust. J. Dent.*, v.56, p.11-8, 1952.
41. BAUMRIND, S.; BUCK, D. Rate changes in cell replication and protein synthesis in the periodontal ligament incident to tooth movement. *Am. J. Orthod.*, v.57, n.2, p.109-31, 1970.
42. ROBERTS, W. E.; JEE, W. S. S. Cell kinetics of orthodontically-stimulated and non-stimulated periodontal ligament in the rat. *Arch. Oral Biol.*, v.19, n.1, p.17-21, 1974.
43. ROBERTS, W. E.; CHASE, D. C.; JEE, W. S. S. Counts of labelled mitoses in the orthodontically-stimulated periodontal ligament in the rat. *Arch. Oral Biol.*, v.19, n.8, p.665-70, 1974.
44. SMITH, R. K.; ROBERTS, W. E. Cell kinetics of the initial response to orthodontically induced osteogenesis in rat molar periodontal ligament. *Calcif. Tissue Int.*, v. 30, n.1, p.51-6, 1980.
45. KVAM, E. Scanning electron microscopy of tissue changes on the pressure surface of human premolars following tooth movement. *Scan. J. Dental Res.*, v.80, n.5, p.357-68, 1972.

46. RYGH, P. Ultrastructural cellular reactions in pressure zones of rat molar periodontium incident to orthodontic tooth movement. *Acta Odontol. Scand.*, v.30, n.5, p.575-93, 1972.
47. RYGH, P. Ultrastructural vascular changes in pressure zones of rat molar periodontium incident to orthodontic movement. *Scand. J. Dent. Res.*, v.80, n.4, p.307-21, 1972.
48. 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, 1979.
49. BAUMRIND, S. A reconsideration of the property of the "pressure-tension" hypothesis. *Am. J. Orthod.*, v.55, n.1, p.12-22, 1969.
50. FARRAR, J. N. Irregularities of the teeth and their correction. Vol. 1. New York: DeVinne Press, 1888.p.658 *apud* KRISHNAN, V.; DAVIDOVITCH, Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, v.129, n.4, p.e.1-32, 2006.
51. MÜHLEMANN, H. R. Tooth mobility. The measuring method. Initial and secondary tooth mobility. *J. Periodontol.*, v.25, p.22-9, 1954.
52. MÜHLEMANN, H. R.; ZANDER, H. The mechanism of tooth mobility. *J. Periodontol.*, v.25, p.128-53, 1954.
53. PICTON, D. C. A. On the part played by the socket in tooth support. *Arch. Oral Biol.*, v.10, n.6, p.945-55, 1965.
54. GRIMM, F. M. Bone bending, a feature of orthodontic tooth movement. *Am. J. Orthod.*, v.62, n.4, p.384-93, 1972.
55. BASSETT, C. A. L.; BECKER, R. O. Generation of electric potentials by bone response to mechanical stress. *Science*, v.137, p.1063-4, 1962.

56. ZENGO, A. N.; BASSETT, C. A.; PAWLUK, R. J.; PROUNTZOS, G. In vivo bioelectric potentials in the dentoalveolar complex. *Am. J. Orthod.*, v. 66, n.2, p.130-9, 1974.
57. DAVIDOVITCH, Z.; FINKELSON, M.D.; STEIGMAN, S.; SHANFELD, J. L.; MONTGOMERY, P. C.; KOROSTAFF, E. Electric currents, bone remodeling and orthodontic tooth movement. I – the effect of electric currents on periodontal nucleotides. *Am. J. Orthod.*, v.77, n.1, p.14-32, 1980.
58. DAVIDOVITCH, Z.; FINKELSON, M. D.; STEIGMAN, S.; SHANFELD, J. L.; MONTGOMERY, P. C.; KOROSTOFF, E. Electric currents, bone remodeling and orthodontic tooth movement. II – increase in rate of tooth movement and periodontal cyclic nucleotide levels by combined force and electric current. *Am. J. Orthod.*, v.77, n.1, p.33-47, 1980.
59. CONSOLARO, A. Movimentação dentária induzida: biologia aplicada à prática clínica. In: CONSOLARO, A. *Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas*. 2.ed. Maringá: Dental Press, 2005. p.303-52.
60. WALDO, C. M.; ROTHBLATT, J. M. Histologic response to tooth movement in the laboratory rat. *J. Dent. Res.*, v.33, n.4, p.481-6, 1954.
61. ZAKI, A.E.; VAN HUYSEN, G. Histology of the periodontium following tooth movement. *J. Dent. Res.*, v.42, p.1373-9, 1963.
62. AZUMA, M. Study on histologic changes of periodontal membrane incident to experimental tooth movement. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.*, v. 17, n.2, p.149-78, 1970.
63. RYGH, P.; REITAN, K. Ultrastructural changes in the periodontal ligament incident to orthodontic tooth movement. *Trans. Eur. Orthod. Soc.*, v. 48, p.393-405, 1972.
64. KVAM, E. Cellular dynamics on the pressure side of the rat periodontium following experimental tooth movement. *Scand. J. Dent. Res.*, v.80, n.5, p.369-83, 1972.

65. KURIHARA, S. An electron microscopic observation on cells found in bone resorption area incident to experimental tooth movement. *Bull. Tokyo. Med. Dent. Univ.*, v.24, n.1 p.103-23, 1977.
66. RYGH, P. Ultrastructural changes in tension zones of rat molar periodontium incident to orthodontic tooth movement. *Am. J. Orthod.*, v.70, n.3, p.269-81, 1976.
67. OTERO, R. L.; PARODI, R. J.; UBIOS, A. M.; CARRANZA, JUNIOR. F. A.; CABRINI, R. L. Histologic and histometric study of bone resorption after tooth movement in rats. *J. Periodontal Res.*, v.8, n.5, p.327-33, 1973.
68. YAMASAKI, K.; MIURA, F.; SUDA, T. Prostaglandin as a mediator of bone resorption induced by experimental tooth movement in rats. *J. Dent. Res.*, v.59, n.10, p.1635-42, 1980.
69. LILJA, E.; LINDSKOG, S. HAMMARSTROM, L. Alkaline phosphatase activity and tetracycline incorporation during initial orthodontic tooth movement in rats. *Acta. Odontol. Scand.*, v.42, n.1, p.1-11, 1984.
70. MARTINEZ, R. H.; JOHNSON, R. B. Effects of orthodontic tooth movement on the Alcian blue staining patterns of rat alveolar bone: an histochemical study. *Histol. Histopathol.*, v.3, n.1, p.39-47, 1988.
71. CHAO, C. F.; SHIH, C.; WANG, T. M.; LO, T. H. Effects of prostaglandin E<sub>2</sub> on alveolar bone resorption during orthodontic tooth movement. *Acta Anat.*, v.132, n.4, p.304-9, 1988.
72. KING, G. J.; KEELING, S. D.; McCOY, E. A.; WARD, T. H. Measuring dental drift and orthodontic tooth movement in response to various initial forces in adult rats. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, v. 99, n.4, p.456-65, 1991.
73. KING, G. J.; KEELING, S. D.; WRONSKI, T. J. Histomorphometric study of alveolar bone turnover in orthodontic tooth movement. *Bone*, v.12, n.5, p.401-9, 1991.

74. KING, G. J.; KEELING, S. D. Orthodontic tooth remodeling in relation to appliance decay. *Angle Orthod.*, v.65, n.2, p.129-140, 1995.
75. ASHIZAWA, Y.; SAHARA, N. Quantitative evaluation of newly formed bone in the alveolar wall surrounding the root during the initial stage of experimental tooth movement in the rat. *Arch. Oral Biol.*, v.43, n.6, p.473-84, 1998.
76. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, v.27, Suppl.1, p.S5-S10, 2004.
77. AMOS, A. F.; McCARTY, D. J.; ZIMMET, P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabet. Med.*, v.14 (Suppl. 5), p.S1-85, 1997.
78. GREEN, A.; GALE, E.; PATTERSON, C. Incidence of childhood-onset insulin-dependent diabetes mellitus: the EURODIAB ACE study. *Lancet*, v.339, n.8798, p.905-9, 1992.
79. KING, H.; AUBERT, R. E.; HERMAN, W. H. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care*, v.21, n.9, p.1414-31, 1998.
80. FAJANS, S. Scope and heterogeneous nature of MODY. *Diabetes Care*, v.13, n.1, p.49-64, 1990.
81. OWADA, M.; HANAOKA, Y.; TANIMOTO, Y.; KITAGAWA, T. Descriptive epidemiology of non-insulin dependent diabetes mellitus detected by urine glucose screening in school children in Japan. *Acta. Paediatr. Jpn.*, v.32, n.6, p.716-24, 1990.
82. PINHAS-HAMIEL, O.; DOLAN, L.; DANIELS, S.; STANDIFORD, D.; KHOURY, P. R.; ZEITLER, P. Increased incidence of non-insulin-dependent diabetes mellitus among adolescents. *J. Pediatr.*, v.128, n.5, p.608-15, 1996.

83. McCANCE, D., PETTIT, D., HANSON, R.; JACOBSSON, L. T.; BENNETT, P. H.; KNOWLER, W. C. Glucose, insulin concentrations and obesity in childhood and adolescence as predictors of NIDDM. *Diabetologia*, v.37, n.6, p.617-23, 1994.
84. SCOTT, C.; SMITH, J.; CRADOCK, M.; PIHOKER, C. Characteristics of youth-onset noninsulin-dependent diabetes mellitus and insulin-dependent diabetes mellitus at diagnosis. *Pediatrics*, v.100, n.1, p.84-91, 1997.
85. ROOSENBLUM, A.; JOE J. R.; YOUNG R. S.; WINTER, W. E. Emerging epidemic of type 2 diabetes in youth. *Diabetes Care*, v.22, n.2, p.345-54, 1999.
86. GLASER, N. S. Non-insulin-dependent diabetes mellitus in childhood and adolescence. *Pediatr. Clin. North Am.*, v. 44, n.2, p.307-37, 1997.
87. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, v.24, Suppl.1, p.S5-20, 2001.
88. BROWNLEE, M. Glycation and diabetic complications. *Diabetes*, v.43, n.6, p.836-41, 1994.
89. VLASSARA, H. Recent progress on the biologic and clinical significance of advanced glycosylation end products. *J. Lab. Clin. Med.*, v.124, n.1, p.19-30, 1994.
90. VLASSARA, H.; BUCALA, R. Recent progress in advanced glycation and diabetic vascular disease: role of advanced glycation end product receptors. *Diabetes*, v.45 (Suppl. 3), p.S65-6, 1996.
91. WERINGER, E. J.; ARQUILLA, E. R. Wound healing in normal and diabetic Chinese hamsters. *Diabetologia*, v.21, n.4, p.394-401, 1981.
92. WILLERSHAUSCHEN-ZONCHEN, B.; LEMMEN, C.; HAMM, G. Influence of high glucose concentrations on glycosaminoglycan and collagen synthesis in cultures human gingival fibroblasts. *J. Clin. Periodontol*, v.18, n.3, p.190-5, 1991.

93. RAMAMURTHY, N. S.; ZEBROWSKI, E. J.; GOLUB, L. M. Insulin reversal of alloxan-diabetes induced changes in gingival collagen metabolism of the rat. *J. Periodontal Res.*, v.9, n.3, p.199-206, 1974.
94. RAMAMURTHY, N. S.; GOLUB, L. M. Diabetes increases collagenase activity in extracts of rat gingival and skin. *J. Periodontal Res.*, v.18, n.1, p.23-30, 1983.
95. RYAN, M.; RAMAMURTHY, N. S.; SORSA, T., GOLUB, L. M. MMP-mediated events in diabetes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v.878, p.313-34, 1999.
96. SORSA, T.; INGMAN, T.; SUOMALAINEN, K.; HALINEN, S.; SAARI, H.; KONTTINEN, Y. T.; UITTO, V. J.; GOLUB, L. M. Cellular source and tetracycline inhibition of gingival crevicular fluid collagenase of patients with labile diabetes mellitus. *J. Clin. Periodontol.*, v.19, n.2, p.146-9, 1992.
97. NEVIS, M. L.; KARIMBUX, N. Y.; WEBER, H. P.; GIANNOBILE, W. V.; FIORELLINI, J. P. Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.13, n.5, p.620-9, 1998.
98. KRAKAUER, J. C.; McKENNA, M. J.; BUDERER, N. F.; RAO, D. S.; WHITEHOUSE, F. W.; PARFITT, A. M. Bone loss and bone turnover in diabetes. *Diabetes*, v.44, n.7, p. 775-82, 1995.
99. WEISS, R. E.; GORN, A. H.; NIMNI, M. E. Abnormalities in the biosynthesis of cartilage and bone proteoglycans in experimental diabetes. *Diabetes*, v.30, n.8, p.670-7, 1981.
100. CANALIS, E. M.; DIETRICH, J. W.; MAINA, D. M.; RAISZ, L. G. Hormonal control of bone collagen synthesis in vitro. Effects of insulin and glucagon. *Endocrinology*, v.100, n.3, p.668-74, 1977.
101. VERHAEGHE, J.; HERCK, E. V.; VISSER, W. J., *et al.* Bone and mineral metabolism in BB rats with long-term diabetes – Decreased bone turnover and osteoporosis. *Diabetes*, v.39, n.4, p.477-82, 1990.

102. CLARKE, W. L.; VANCE, M. L.; ROGOL, A. D. Growth and the child with diabetes mellitus. *Diabetes Care*, v.16, Suppl.3, p.101-6, 1993.
103. RODRIGUES, T. M. B.; SILVA, I. N. Estatura final de pacientes com diabetes mellitus do tipo 1. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, v.45, n.1, p.108-14, 2001.
104. GOODMAN, W. G.; HORI, M. T. Diminished bone formation in experimental diabetes. *Diabetes*, v.33, n.9, p.825-31, 1984.
105. SHYNG, Y. C.; DEVLIN, H.; SLOAN, P. The effect of streptozotocin-induced experimental diabetes mellitus on calvarial defect healing and bone turnover in the rat. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.30, n.1, p.70-4, 2001.
106. DEVLIN, H.; GARLAND, H.; SLOAN, P. Healing of tooth extraction sockets in experimental diabetes mellitus. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.54, n.9, p.1087-91, 1996.
107. TAKESHITA, F.; MURAI, K. IYAMA, S.; AYUKAWA, Y.; SUETSUGU, T. Uncontrolled diabetes hinders bone formation around titanium implants in rat tibiae. A light and fluorescence microscopy and image processing study. *J. Periodontol.*, v.69, n.3, p.314-20, 1998.
108. ARANEGA, A. *Análise histomorfométrica da reparação de alvéolos infectados após extração dental em ratos diabéticos controlados e não controlados*. 2001. 228 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2001.
109. CONSOLARO, A.; MARTINS-ORTIZ, M. F. Um modelo experimental de movimentação dentária induzida e das reabsorções dentárias associadas. In: CONSOLARO, A. *Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas*. 2.ed. Maringá: Dental Press, 2005. p.494-521.
110. AN, T. L.; CUOGHI, O. A. A utilização da estatística na Ortodontia. *Rev. Dental Press Ortodon. Ortopedi. Facial*, v. 9, n.6, p. 97-108, 2004.

111. HOUSTON, W. J. B. The analysis of errors in orthodontic measurements. *Am. J. Orthod.*, v.83, n.5, p.382-90, 1983
112. MENDES, A. J. D.; SANTOS-PINTO, A. S. Algumas diretrizes estatísticas para avaliação do erro do método na mensuração de variável quantitativa. *Rev. Dental Press Ortodon. Ortopedi. Facial*, v.12, n.1, p. 78-83, 2007.
113. BERTOZ, F. A.; MENDONÇA, M. R.; CUOGHI, O. A.; PERCINOTO, C. Efeito da rostaglandina E1 e da indometacina na movimentação ortodôntica em cães. estudo Clínico e histológico. *Ortodontia*, v. 23, n. 3, p. 16-24, 1990.
114. CUOGHI, O. A. *Avaliação macro e microscópica dos primeiros momentos da movimentação dentária induzida em macacos da espécie Cebus apella*. 1996. 138 f. Tese (Doutorado em Ortodontia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1996.
115. REITAN, K.; KVAM, E. Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement. *Angle Orthod.*, v.41, n.1, p.1-14, 1971.
116. ROMANOS, G. E.; BERNIMOULIN, J. P. Collagen as a basic elemento of the periodontium: immunohistochemical aspects in the human and animal. 1. Gingiva and alveolar bone. *Parodontologie*, v.1, n.4, p.363-375, 1990.
117. ROMANOS, G. E.; SCHROTER-KERMANI, C.; BERNIMOULIN, J. P. Collagen as a basic elemento f the periodontium: immunohistochemical aspects in the human and animal. 2. Cementum and periodontal ligament. *Parodontologie*, v.2, n.1, p.47-59, 1991.
118. VOMERO, M. F. Diabete, o novo mal do século. *Super Interessante*, n.180, p.42-50, 2002.
119. SCHELLINI, S. A.; PADOVANI, C. R.; SPADELLA, C. T.; MARTINS, J. L.; SILVA, M. A. M. O rato como modelo experimental do diabetes – estudo clínico laboratorial. *Rev. Ciênc. Bioméd.*, v. 16, p.25-36, 1995.

120. JUNOD, A.; LAMBERT, A. E.; ORCI, L.; PICTET, R.; GONET, A. E.; RENOLD, A. E. Studies of diabetogenic action of streptozotocin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v.126, n.1, p.201-205, 1967.
121. AN, T. L. *Efeitos da retração dentária sobre o ponto A em pacientes submetidos ao tratamento ortodôntico*. 2003. 128 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2003.
122. SHIBAYAMA, R. *Análise da variação da posição dos dentes artificiais durante as fases específicas do processamento de próteses totais superiores mensurada por computação gráfica*. 2006. 148 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2006.
123. BURSTONE, C. J. The biomechanics of tooth movement. In: KRAUS, B.S.; RIEDEL, R.A. *Vistas In Orthodontics*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1962. p.202-14.
124. BAGDADE, J. D.; STEWART, M.; ELWANDO, W. Impaired granulocyte adherence: a reversible defect in host defense in patients with poorly controlled diabetes. *Diabetes*, v.27, n.6, p.677-81, 1978.
125. KJERSEM, H.; HILSTED, J.; MADSBAD, S. *et al.* Polymorphonuclear leucocyte dysfunction during, short term metabolic changes from normo to hyperglycemia in type I (insulin dependent) diabetic patients. *Infection*, .v.16, n.4, p.215-21, 1988.
126. MARHOFFER, W.; STEIN, M.; MAESER, E.; FEDERLIN, K. Impairment of polymorphonuclear leucocyte function and metabolic control of diabetes. *Diabetes Care*, v.15, n.2, p.256-60, 1992.
127. OLIVER, R. C.; TERVONEN, T. Diabetes – a risk factor for periodontitis in adults. *J. Periodontol.*, v.65, n.5 Suppl., p.530-38, 1994.
128. ÖZSOY, N.; BOSTANCI, H.; AYVALI, C. The investigation of the ultrastructural neutrophil changes in aloxan-induced diabetes in rats: response to a chemotactic challenge. *Cell. Biochem. Funct.*, v. 22, n.2, p.81-7, 2004.

129. LEVIN, M.; BOISSEAU, V.; AVIOLI, L.. Effects of diabetes mellitus on bone mass in juvenile and adult-onset diabetes. *N. Eng. J. Med.*, v.294, n.5, p.241-5, 1976.
130. HORCAJADA-MOLTENI, M.; CHANTERANNE, B., LEBECQUE, P.; DAVICCO, M. J.; COXAM, V.; YOUNG, A.; BARLET, J. P. Amylin and bone metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Bone Miner. Res.*, v.16, n.5, p.958-65, 201.
131. TUOMINEM, J.; IMPIVAARA, O.; PUUKKA, P.; RÖNNENMAA, T. Bone mineral density in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, v. 22, n.7, p.1196-1200, 1999.

## ANEXOS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"Júlio de Mesquita Filho"  
Campus de Araçatuba



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
(CEEA)

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto "AVALIAÇÃO HISTOMORFOLÓGICA DO PERIODONTO DURANTE A MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA INDUZIDA EM RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS POR MEIO DE ESTREPTOZOTOCINA" sob responsabilidade de AN TIEN LI, FRANCISCO ANTONIO BERTOZ e ALESSANDRA MARCONDES ARANEGA está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em reunião ordinária de 13 de setembro de 2005, de acordo com o protocolo nº 98/05.

Araçatuba, 13 de setembro de 2005.

  
Prof.<sup>a</sup> Ass. Dr.<sup>a</sup> Maria Gisela Laranjeira  
Presidente

**Anexo II** – Valores das três mensurações dos espaços interproximais distais do primeiro molar de ambos os lados dos ratos normais nos períodos de estudo

Normal Experimental	1a Mens.	2a Mens.	3a Mens.	Média	DP	Normal controle	1a Mens.	2a Mens.	3a Mens.	Média	DP
Rato 1 (3 dias) I	0,15	0,15	0,15	0,15	0,00	Rato 1 (3 dias) I	0,05	0,00	0,00	0,02	0,03
Rato 2 (3 dias) II	0,15	0,20	0,20	0,18	0,03	Rato 2 (3 dias) II	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 3 (3 dias) III	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	Rato 3 (3 dias) III	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 4 (3 dias) IV	0,25	0,25	0,25	0,25	0,00	Rato 4 (3 dias) IV	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 5 (3 dias) VIII	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	Rato 5 (3 dias) VIII	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média				0,20	0,01					0,00	0,01
Rato 1 (7 dias) II	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	Rato 1 (7 dias) II	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 2 (7 dias) IV	0,25	0,25	0,25	0,25	0,00	Rato 2 (7 dias) IV	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 3 (7 dias) V	0,25	0,25	0,25	0,25	0,00	Rato 3 (7 dias) V	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 4 (7 dias) VI	0,30	0,30	0,30	0,30	0,00	Rato 4 (7 dias) VI	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 5 (7 dias) VII	0,30	0,30	0,30	0,30	0,00	Rato 5 (7 dias) VII	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média				0,26	0,00					0,00	0,00
Rato 1 (14 dias) I	0,30	0,30	0,30	0,30	0,00	Rato 1 (14 dias) I	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 2 (14 dias) II	0,35	0,35	0,35	0,35	0,00	Rato 2 (14 dias) II	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 3 (14 dias) III	0,35	0,35	0,35	0,35	0,00	Rato 3 (14 dias) III	0,05	0,05	0,05	0,05	0,00
Rato 4 (14 dias) IV	0,40	0,35	0,40	0,38	0,03	Rato 4 (14 dias) IV	0,05	0,05	0,05	0,05	0,00
Rato 5 (14 dias) VIII	0,30	0,35	0,35	0,33	0,03	Rato 5 (14 dias) VIII	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média				0,34	0,01					0,02	0,00
Rato 1 (21 dias) III	0,40	0,40	0,40	0,40	0,00	Rato 1 (21 dias) III	0,05	0,05	0,05	0,05	0,00
Rato 2 (21 dias) IV	0,35	0,35	0,35	0,35	0,00	Rato 2 (21 dias) IV	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 3 (21 dias) VII	0,35	0,35	0,40	0,37	0,03	Rato 3 (21 dias) VII	0,00	0,05	0,05	0,03	0,03
Rato 4 (21 dias) IX	0,40	0,40	0,40	0,40	0,00	Rato 4 (21 dias) IX	0,00	0,00	0,05	0,02	0,03
Média				0,29	0,01					0,03	0,01

**Anexo III – Valores das três mensurações dos espaços interproximais distais do primeiro molar de ambos os lados dos ratos diabéticos nos períodos de estudo**

Diabético Experimental	1a Mens.	2a Mens.	3a Mens.	Média	DP	Diabético controle	1a Mens.	2a Mens.	3a Mens.	Média	DP
Rato 1 (3 dias) III	0,15	0,15	0,20	0,17	0,03	Rato 1 (3 dias) III	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 2 (3 dias) IV	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	Rato 2 (3 dias) IV	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 3 (3 dias) V	0,15	0,20	0,20	0,18	0,03	Rato 3 (3 dias) V	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 4 (3 dias) I	0,15	0,15	0,15	0,15	0,00	Rato 4 (3 dias) I	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 5 (3 dias) II	0,15	0,20	0,20	0,18	0,03	Rato 5 (3 dias) II	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média				0,18	0,02					0,00	0,00
Rato 1 (7 dias) I	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	Rato 1 (7 dias) I	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 2 (7 dias) II	0,15	0,20	0,20	0,18	0,03	Rato 2 (7 dias) II	0,00	0,05	0,05	0,03	0,03
Rato 3 (7 dias) III	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	Rato 3 (7 dias) III	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 4 (7 dias) IV	0,15	0,15	0,15	0,15	0,00	Rato 4 (7 dias) IV	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 5 (7 dias) V	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	Rato 5 (7 dias) V	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média				0,19	0,01					0,01	0,01
Rato 1 (14 dias) I	0,25	0,25	0,25	0,25	0,00	Rato 1 (14 dias) I	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 2 (14 dias) V	0,25	0,20	0,25	0,23	0,03	Rato 2 (14 dias) V	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 3 (14 dias) VII	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	Rato 3 (14 dias) VII	0,00	0,05	0,05	0,03	0,03
Rato 4 (14 dias) VIII	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	Rato 4 (14 dias) VIII	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 5 (14 dias) X	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	Rato 5 (14 dias) X	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média				0,22	0,01					0,01	0,01
Rato 1 (21 dias) IV	0,25	0,25	0,30	0,27	0,03	Rato 1 (21 dias) IV	0,00	0,05	0,05	0,03	0,03
Rato 2 (21 dias) IX	0,25	0,30	0,30	0,28	0,03	Rato 2 (21 dias) IX	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rato 3 (21 dias) III	0,25	0,30	0,30	0,28	0,03	Rato 3 (21 dias) III	0,00	0,00	0,05	0,02	0,03
Rato 4 (21 dias) VI	0,25	0,35	0,25	0,28	0,06	Rato 4 (21 dias) VI	0,05	0,05	0,05	0,05	0,00
Rato 5 (21 dias) VII	0,20	0,25	0,25	0,23	0,03	Rato 5 (21 dias) VII	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média				0,27	0,03					0,02	0,01

**Anexo IV** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado experimental do rato normal no 3º dia

<b>Grupo normal lado experimental – 3º dia</b>					
<b>Ratos 3 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>
1R3E Distal	DCM	40653,00	44487,00	45505,00	43548,33
3R3E Distal		25820,00	28096,00	29562,00	27826,00
4R3E Distal		21303,00	18967,00	19370,00	19880,00
7R3E Distal		38394,00	39556,00	39967,00	39305,67
8R3E Distal		26104,00	22155,00	22594,00	23617,67
1R3E Distal	DCD	148006,00	149260,00	144525,00	147263,67
3R3E Distal		105592,00	117104,00	113921,00	112205,67
4R3E Distal		131861,00	133969,00	130859,00	132229,67
7R3E Distal		124592,00	114308,00	117312,00	118737,33
8R3E Distal		146169,00	145354,00	139388,00	143637,00
1R3E Distal	DAM	74288,00	73931,00	68752,00	72323,67
3R3E Distal		97481,00	96104,00	99059,00	97548,00
4R3E Distal		32853,00	31822,00	33166,00	32613,67
7R3E Distal		75493,00	75345,00	71587,00	74141,67
8R3E Distal		63090,00	69267,00	63034,00	65130,33
1R3E Distal	DAD	99411,00	102173,00	102457,00	101347,00
3R3E Distal		144436,00	145941,00	148602,00	146326,33
4R3E Distal		110666,00	109392,00	112236,00	110764,67
7R3E Distal		96474,00	99314,00	95877,00	97221,67
8R3E Distal		147442,00	148525,00	143793,00	146586,67

**Anexo V** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado controle do rato normal no 3º dia

<b>Grupo normal lado controle – 3º dia</b>						
<b>Ratos 3 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>	
1R3D Distal	DCM	83104,00	85020,00	82104,00	83409,33	
3R3D Distal		68996,00	67633,00	69377,00	68668,67	
4R3D Distal		60909,00	65819,00	65366,00	64031,33	
8R3D Distal		70816,00	75617,00	72343,00	72925,33	
7R3D Distal	Excluído					
1R3D Distal	DCD	70025,00	72926,00	72459,00	71803,33	
3R3D Distal		78406,00	78648,00	79033,00	78695,67	
4R3D Distal		57543,00	59739,00	60768,00	59350,00	
8R3D Distal		88087,00	85092,00	83198,00	85459,00	
7R3D Distal	Excluído					
1R3D Distal	DAM	78700,00	76562,00	73598,00	76286,67	
3R3D Distal		62684,00	65241,00	63844,00	63923,00	
4R3D Distal		67123,00	67933,00	68642,00	67899,33	
8R3D Distal		64101,00	64713,00	64294,00	64369,33	
7R3D Distal	Excluído					
1R3D Distal	DAD	76852,00	76529,00	75070,00	76150,33	
3R3D Distal		63489,00	65300,00	63796,00	64195,00	
4R3D Distal		78726,00	79979,00	80892,00	79865,67	
8R3D Distal		86076,00	87785,00	85630,00	86497,00	
7R3D Distal	Excluído					

**Anexo VI – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado experimental do rato normal no 7º dia**

<b>Grupo normal lado experimental – 7º dia</b>						
<b>Ratos 7 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>	
1R7E Distal	DCM	68696,00	69398,00	67919,00	68671,00	
2R7E Distal		35149,00	30158,00	33690,00	32999,00	
5R7E Distal		25596,00	26271,00	23165,00	25010,67	
6R7E Distal		67789,00	63759,00	64504,00	65350,67	
7R7E Distal		38368,00	40368,00	40528,00	39754,67	
1R7E Distal	DCD	164820,00	161948,00	160113,00	162293,67	
2R7E Distal		89529,00	88066,00	83355,00	86983,33	
5R7E Distal		94477,00	89153,00	98903,00	94177,67	
6R7E Distal		142376,00	139756,00	140154,00	140762,00	
7R7E Distal		109188,00	107177,00	109204,00	108523,00	
1R7E Distal	DAM	67087,00	67401,00	64949,00	66479,00	
2R7E Distal		40157,00	42870,00	42723,00	41916,67	
5R7E Distal		55401,00	62953,00	67636,00	61996,67	
6R7E Distal		64078,00	70545,00	69252,00	67958,33	
7R7E Distal		80456,00	82357,00	82928,00	81913,67	
1R7E Distal	DAD	83717,00	81888,00	82922,00	82842,33	
2R7E Distal		42476,00	47506,00	46799,00	45593,67	
5R7E Distal		72558,00	75178,00	80689,00	76141,67	
6R7E Distal		100089,00	103070,00	100981,00	101380,00	
7R7E Distal		90880,00	92457,00	89217,00	90851,33	

**Anexo VII** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado controle do rato normal no 7º dia

<b>Grupo normal lado controle – 7º dia</b>						
<b>Ratos 7 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>	
1R7D Distal	DCM	61781,00	62491,00	65120,00	63130,67	
2R7D Distal		59944,00	58774,00	60535,00	59751,00	
5R7D Distal		41189,00	42415,00	41589,00	41731,00	
6R7D Distal		71519,00	72539,00	71371,00	71809,67	
7R7D Distal		61622,00	59702,00	59470,00	60264,67	
1R7D Distal	DCD	73885,00	75378,00	74940,00	74734,33	
2R7D Distal		45377,00	47562,00	45914,00	46284,33	
5R7D Distal		52159,00	50106,00	49354,00	50539,67	
6R7D Distal		72156,00	73110,00	79621,00	74962,33	
7R7D Distal		74476,00	72627,00	75080,00	74061,00	
1R7D Distal	DAM	65154,00	65184,00	65298,00	65212,00	
2R7D Distal		56893,00	55744,00	55049,00	55895,33	
5R7D Distal		53824,00	54610,00	54077,00	54170,33	
6R7D Distal		62114,00	63932,00	63785,00	63277,00	
7R7D Distal		48527,00	48113,00	50461,00	49033,67	
1R7D Distal	DAD	70754,00	69701,00	68559,00	69671,33	
2R7D Distal		40682,00	42837,00	39633,00	41050,67	
5R7D Distal		66604,00	65037,00	64151,00	65264,00	
6R7D Distal		67193,00	68965,00	68086,00	68081,33	
7R7D Distal		54782,00	55254,00	56217,00	55417,67	

**Anexo VIII** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado experimental do rato normal no 14º dia

<b>Grupo normal lado experimental – 14º dia</b>					
<b>Ratos 14 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>
1R14E Distal	DCM	36832,00	35510,00	37655,00	36665,67
2R14E Distal		77021,00	78822,00	79911,00	78584,67
3R14E Distal		60933,00	61254,00	63307,00	61831,33
4R14E Distal		61582,00	58548,00	58313,00	59481,00
5R14E Distal		49321,00	46985,00	49462,00	48589,33
1R14E Distal	DCD	142792,00	141304,00	146226,00	143440,67
2R14E Distal		97975,00	102280,00	102414,00	100889,67
3R14E Distal		105215,00	106299,00	108484,00	106666,00
4R14E Distal		189804,00	188652,00	186129,00	188195,00
5R14E Distal		112309,00	111232,00	108676,00	110739,00
1R14E Distal	DAM	49994,00	46930,00	49146,00	48690,00
2R14E Distal		59401,00	60309,00	59966,00	59892,00
3R14E Distal		50447,00	47193,00	50028,00	49222,67
4R14E Distal		69625,00	68826,00	67126,00	68525,67
5R14E Distal		55901,00	57161,00	57814,00	56958,67
1R14E Distal	DAD	62408,00	64326,00	63172,00	63302,00
2R14E Distal		96955,00	94683,00	99020,00	96886,00
3R14E Distal		84971,00	84077,00	82979,00	84009,00
4R14E Distal		152134,00	151280,00	155945,00	153119,67
5R14E Distal		103613,00	111597,00	110290,00	108500,00

**Anexo XIX – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado controle do rato normal no 14º dia**

<b>Grupo normal lado controle – 14º dia</b>						
<b>Ratos 14 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>	
1R14D Distal	DCM	56031,00	57706,00	57176,00	56971,00	
2R14D Distal		72431,00	74787,00	73594,00	73604,00	
3R14D Distal		41532,00	44585,00	45006,00	43707,67	
4R14D Distal		80942,00	79879,00	79456,00	80092,33	
5R14D Distal		54273,00	57147,00	58704,00	56708,00	
1R14D Distal	DCD	67211,00	67481,00	66718,00	67136,67	
2R14D Distal		74731,00	73607,00	74773,00	74370,33	
3R14D Distal		57949,00	55753,00	58630,00	57444,00	
4R14D Distal		82438,00	88201,00	85183,00	85274,00	
5R14D Distal		61034,00	62743,00	60803,00	61526,67	
1R14D Distal	DAM	68570,00	68321,00	67441,00	68110,67	
2R14D Distal		56462,00	55267,00	56731,00	56153,33	
3R14D Distal		45484,00	43070,00	44988,00	44514,00	
4R14D Distal		74331,00	73882,00	72860,00	73691,00	
5R14D Distal		57633,00	58435,00	57184,00	57750,67	
1R14D Distal	DAD	75762,00	76576,00	77791,00	76709,67	
2R14D Distal		74844,00	72652,00	73889,00	73795,00	
3R14D Distal		70854,00	70857,00	68496,00	70069,00	
4R14D Distal		77530,00	76955,00	76379,00	76954,67	
5R14D Distal		85730,00	85571,00	85461,00	85587,33	

**Anexo X** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado experimental do rato normal no 21º dia

<b>Grupo normal lado experimental – 21º dia</b>						
<b>Ratos 21 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>	
3R21E Distal	DCM	41868,00	44429,00	43975,00	43424,00	
8R21E Distal		59149,00	56287,00	59940,00	58458,67	
9R21E Distal		31928,00	34208,00	32776,00	32970,67	
3R21E Distal	DCD	135123,00	137997,00	135217,00	136112,33	
8R21E Distal		121650,00	118520,00	118384,00	119518,00	
9R21E Distal		100238,00	99677,00	98146,00	99353,67	
3R21E Distal	DAM	74479,00	76654,00	75024,00	75385,67	
8R21E Distal		89612,00	87145,00	88448,00	88401,67	
9R21E Distal		66804,00	67682,00	68229,00	67571,67	
3R21E Distal	DAD	143890,00	140636,00	142704,00	142410,00	
8R21E Distal		121312,00	117750,00	120720,00	119927,33	
9R21E Distal		69487,00	68489,00	70072,00	69349,33	

**Anexo XI** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado controle do rato normal no 21º dia

Ratos 21 dias	Quadrante	Grupo normal lado controle – 21º dia					
		1a Mensuração	2a Mensuração	3a Mensuração	3a Mensuração	Média	
3R21D Distal	DCM	68743,00	70115,00	70449,00		69769,00	
8R21D Distal		59678,00	59998,00	59898,00		59858,00	
9R21D Distal		78233,00	79823,00	79561,00		79205,67	
3R21D Distal	DCD	81624,00	79238,00	73948,00		78270,00	
8R21D Distal		82615,00	82708,00	84430,00		83251,00	
9R21D Distal		81454,00	80552,00	81343,00		81116,33	
3R21D Distal	DAM	59713,00	60614,00	60342,00		60223,00	
8R21D Distal		63584,00	63500,00	64312,00		63798,67	
9R21D Distal		92433,00	95112,00	93150,00		93565,00	
3R21D Distal	DAD	86907,00	87753,00	86288,00		86982,67	
8R21D Distal		77672,00	76077,00	78192,00		77313,67	
9R21D Distal		103973,00	102180,00	103645,00		103266,00	

**Anexo XII** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado experimental do rato diabético no 3º dia

<b>Grupo diabético lado experimental – 3º dia</b>					
<b>Ratos 3 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>
1R3E Distal	DCM	37162,00	36489,00	39362,00	37671,00
2R3E Distal		46605,00	45743,00	45727,00	46025,00
3R3E Distal		74767,00	73174,00	76709,00	74883,33
4R3E Distal		35756,00	34803,00	35516,00	35358,33
5R3E Distal		57415,00	56765,00	56836,00	57005,33
1R3E Distal	DCD	109244,00	106223,00	113272,00	109579,67
2R3E Distal		132429,00	131652,00	126385,00	130155,33
3R3E Distal		125027,00	123982,00	123578,00	124195,67
4R3E Distal		143173,00	143047,00	149194,00	145138,00
5R3E Distal		101707,00	110032,00	111517,00	107752,00
1R3E Distal	DAM	42790,00	41383,00	40077,00	41416,67
2R3E Distal		55264,00	53243,00	54334,00	54280,33
3R3E Distal		61528,00	61030,00	63126,00	61894,67
4R3E Distal		73049,00	73313,00	75053,00	73805,00
5R3E Distal		95818,00	93633,00	94910,00	94787,00
1R3E Distal	DAD	67479,00	67652,00	69864,00	68331,67
2R3E Distal		101087,00	104930,00	99618,00	101878,33
3R3E Distal		98641,00	101008,00	99651,00	99766,67
4R3E Distal		98503,00	98686,00	98948,00	98712,33
5R3E Distal		125099,00	126045,00	126112,00	125752,00

**Anexo XIII** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado controle do rato diabético no 3º dia

<b>Grupo diabético lado controle – 3º dia</b>					
<b>Ratos</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>
1R3D Distal	DCM	56125,00	57280,00	56931,00	56778,67
2R3D Distal		64678,00	63465,00	66953,00	65032,00
3R3D Distal		73263,00	73531,00	75159,00	73984,33
4R3D Distal		67896,00	68805,00	68170,00	68290,33
5R3D Distal		75603,00	75291,00	72114,00	74336,00
1R3D Distal	DCD	62361,00	63528,00	64718,00	63535,67
2R3D Distal		71614,00	74234,00	72046,00	72631,33
3R3D Distal		93610,00	92071,00	93004,00	92895,00
4R3D Distal		72617,00	71400,00	69077,00	71031,33
5R3D Distal		65787,00	67148,00	68187,00	67040,67
1R3D Distal	DAM	68364,00	68484,00	65560,00	67469,33
2R3D Distal		72577,00	70952,00	73221,00	72250,00
3R3D Distal		77504,00	78050,00	79982,00	78512,00
4R3D Distal		81905,00	79044,00	82719,00	81222,67
5R3D Distal		64736,00	67889,00	62813,00	65146,00
1R3D Distal	DAD	63806,00	60480,00	63142,00	62476,00
2R3D Distal		85892,00	84548,00	85619,00	85353,00
3R3D Distal		74188,00	72666,00	73529,00	73461,00
4R3D Distal		85527,00	82535,00	83239,00	83767,00
5R3D Distal		88117,00	86369,00	84447,00	86311,00

**Anexo XIV – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado experimental do rato diabético no 7º dia**

<b>Grupo diabético lado experimental – 7º dia</b>					
<b>Ratos 7 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>
1R7E Distal	DCM	59685,00	61476,00	62750,00	61303,67
2R7E Distal		49479,00	50473,00	49847,00	49933,00
3R7E Distal		65623,00	68099,00	67795,00	67172,33
4R7E Distal		54704,00	58540,00	57293,00	56845,67
5R7E Distal		57252,00	58304,00	58856,00	58137,33
1R7E Distal	DCD	112385,00	113149,00	110735,00	112089,67
2R7E Distal		79312,00	77078,00	79436,00	78608,67
3R7E Distal		112584,00	113222,00	110984,00	112263,33
4R7E Distal		172032,00	171434,00	174472,00	172646,00
5R7E Distal		181831,00	180061,00	184711,00	182201,00
1R7E Distal	DAM	111682,00	127019,00	122371,00	120357,33
2R7E Distal		56341,00	59269,00	56260,00	57290,00
3R7E Distal		86190,00	89018,00	87629,00	87612,33
4R7E Distal		46307,00	48772,00	49090,00	48056,33
5R7E Distal		55971,00	55814,00	55729,00	55838,00
1R7E Distal	DAD	140226,00	145729,00	141602,00	142519,00
2R7E Distal		77767,00	80908,00	78618,00	79097,67
3R7E Distal		163445,00	167228,00	167457,00	166043,33
4R7E Distal		143401,00	141652,00	141078,00	142043,67
5R7E Distal		143661,00	144264,00	146399,00	144774,67

**Anexo XV** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado controle do rato diabético no 7º dia

<b>Grupo diabético lado controle – 7º dia</b>						
<b>Ratos 7 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>	
1R7D Distal	DCM	72965,00	72734,00	72300,00	72666,33	
3R7D Distal		61118,00	63721,00	61853,00	62230,67	
5R7D Distal		55513,00	57598,00	56528,00	56546,33	
2R7D Distal	Excluído					
4R7D Distal	Excluído					
1R7D Distal	DCD	65941,00	66637,00	64873,00	65817,00	
3R7D Distal		78704,00	78284,00	79796,00	78928,00	
5R7D Distal		62785,00	65638,00	64243,00	64222,00	
2R7D Distal	Excluído					
4R7D Distal	Excluído					
1R7D Distal	DAM	74062,00	76059,00	73534,00	74551,67	
3R7D Distal		60032,00	61539,00	59761,00	60444,00	
5R7D Distal		84273,00	85756,00	83661,00	84563,33	
2R7D Distal	Excluído					
4R7D Distal	Excluído					
1R7D Distal	DAD	65837,00	63865,00	65662,00	65121,33	
3R7D Distal		80003,00	81082,00	81591,00	80892,00	
5R7D Distal		75492,00	75589,00	76475,00	75852,00	
2R7D Distal	Excluído					
4R7D Distal	Excluído					

**Anexo XVI** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado experimental do rato diabético no 14º dia

<b>Grupo diabético lado experimental – 14º dia</b>					
<b>Ratos 14 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>
IR14E Distal	DCM	111094,00	116870,00	117798,00	115254,00
5R14E Distal		46292,00	47389,00	48078,00	47253,00
7R14E Distal		51910,00	52970,00	51832,00	52237,33
I0R14E Distal		42525,00	43837,00	44220,00	43527,33
IR14E Distal	DCD	99110,00	106768,00	107497,00	104458,33
5R14E Distal		145791,00	146195,00	149640,00	147208,67
7R14E Distal		71454,00	73061,00	73951,00	72822,00
I0R14E Distal		129383,00	130532,00	128241,00	129385,33
IR14E Distal	DAM	95525,00	94718,00	96598,00	95613,67
5R14E Distal		85080,00	82784,00	83201,00	83688,33
7R14E Distal		58624,00	59059,00	56838,00	58173,67
I0R14E Distal		58301,00	55573,00	56343,00	56739,00
IR14E Distal	DAD	100407,00	99542,00	98665,00	99538,00
5R14E Distal		94801,00	96122,00	97839,00	96254,00
7R14E Distal		50599,00	51290,00	53183,00	51690,67
I0R14E Distal		92207,00	91980,00	90469,00	91552,00

**Anexo XVII** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado controle do rato diabético no 14º dia

<b>Grupo diabético lado controle – 14º dia</b>					
<b>Ratos 14 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>
1R14D Distal	DCM	57529,00	52428,00	52531,00	54162,67
5R14D Distal		52357,00	53327,00	51802,00	52495,33
7R14D Distal		57834,00	59391,00	59843,00	59022,67
8R14D Distal		55833,00	51689,00	54975,00	54165,67
10R14D Distal		53749,00	54300,00	55589,00	54546,00
1R14D Distal	DCD	52381,00	49984,00	52740,00	51701,67
5R14D Distal		47056,00	47138,00	48651,00	47615,00
7R14D Distal		54362,00	54375,00	52878,00	53871,67
8R14D Distal		67410,00	67779,00	68428,00	67872,33
10R14D Distal		54681,00	52163,00	52471,00	53105,00
1R14D Distal	DAM	72758,00	72692,00	71191,00	72213,67
5R14D Distal		73265,00	73115,00	74032,00	73470,67
7R14D Distal		67533,00	69430,00	68184,00	68382,33
8R14D Distal		50494,00	52193,00	50500,00	51062,33
10R14D Distal		53522,00	52793,00	52511,00	52942,00
1R14D Distal	DAD	64398,00	64246,00	67587,00	65410,33
5R14D Distal		88946,00	87617,00	87418,00	87993,67
7R14D Distal		70721,00	71468,00	70460,00	70883,00
8R14D Distal		66206,00	64973,00	61947,00	64375,33
10R14D Distal		51635,00	52484,00	53088,00	52402,33

**Anexo XVIII** – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado experimental do rato diabético no 21º dia

<b>Grupo diabético lado experimental – 21º dia</b>					
<b>Ratos 21 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>
3R21E Distal	DCM	60482,00	64144,00	62611,00	62412,33
4R21E Distal		50609,00	50716,00	51943,00	51089,33
6R21E Distal		96794,00	97340,00	98028,00	97387,33
7R21E Distal		74425,00	74981,00	75984,00	75130,00
9R21E Distal		41015,00	39973,00	40622,00	40536,67
3R21E Distal	DCD	86058,00	86555,00	83700,00	85437,67
4R21E Distal		88708,00	84000,00	86747,00	86485,00
6R21E Distal		104751,00	106005,00	108366,00	106374,00
7R21E Distal		94575,00	93739,00	95726,00	94680,00
9R21E Distal		123379,00	122310,00	124373,00	123354,00
3R21E Distal	DAM	63125,00	63533,00	60510,00	62389,33
4R21E Distal		68157,00	65545,00	66989,00	66897,00
6R21E Distal		80922,00	80527,00	82964,00	81471,00
7R21E Distal		87048,00	86609,00	83046,00	85567,67
9R21E Distal		78003,00	80041,00	79593,00	79212,33
3R21E Distal	DAD	78389,00	79348,00	77340,00	78359,00
4R21E Distal		69911,00	68531,00	69356,00	69266,00
6R21E Distal		155232,00	157018,00	158519,00	156923,00
7R21E Distal		102692,00	105711,00	101134,00	103179,00
9R21E Distal		103338,00	99422,00	104466,00	102408,67

**Anexo XIX – Valores das três mensurações das áreas ( $\mu\text{m}^2$ ) dos espaços periodontais do lado controle do rato diabético no 21º dia**

<b>Grupo diabético lado controle – 21º dia</b>						
<b>Ratos 21 dias</b>	<b>Quadrante</b>	<b>1a Mensuração</b>	<b>2a Mensuração</b>	<b>3a Mensuração</b>	<b>Média</b>	
3R21D Distal	DCM	60175,00	60234,00	62300,00	60903,00	
4R21D Distal		57403,00	55402,00	54906,00	55903,67	
6R21D Distal		45675,00	43497,00	45704,00	44958,67	
7R21D Distal		54055,00	51067,00	54982,00	53368,00	
9R21D Distal		47369,00	48872,00	48934,00	48391,67	
3R21D Distal	DCD	59733,00	58668,00	60857,00	59752,67	
4R21D Distal		67588,00	69466,00	69272,00	68775,33	
6R21D Distal		48288,00	46881,00	47101,00	47423,33	
7R21D Distal		45888,00	46951,00	47430,00	46756,33	
9R21D Distal		52027,00	50993,00	51793,00	51604,33	
3R21D Distal	DAM	59756,00	57866,00	59340,00	58987,33	
4R21D Distal		78598,00	76514,00	77773,00	77628,33	
6R21D Distal		48708,00	46987,00	47936,00	47877,00	
7R21D Distal		72001,00	72149,00	71930,00	72026,67	
9R21D Distal		68308,00	66637,00	65239,00	66728,00	
3R21D Distal	DAD	57970,00	56291,00	56468,00	56909,67	
4R21D Distal		93722,00	94619,00	96847,00	95062,67	
6R21D Distal		60348,00	59517,00	59117,00	59660,67	
7R21D Distal		69383,00	71390,00	71495,00	70756,00	
9R21D Distal		72295,00	70268,00	69712,00	70758,33	

## NORMAS DE APRESENTAÇÃO DE ORIGINALS

- A Revista DENTAL PRESS DE ORTODONTIA E ORTOPEDIA FACIAL, dirigida à classe odontológica, destina-se à publicação de artigos de investigação científica, relatos de casos clínicos e de técnicas, artigos de interesse da classe ortodôntica solicitados pelo Corpo Editorial, revisões significativas, comunicações breves e atualidades.
- Os artigos serão submetidos ao parecer dos consultores e do Conselho Editorial da Revista, que decidirá sobre a conveniência ou não da publicação, avaliando como "favorável", indicando correções e/ou sugerindo modificações.
- A cada edição o Conselho Editorial selecionará, dentre os artigos considerados favoráveis para publicação, aqueles que serão publicados imediatamente.
- A Dental Press ao receber os artigos, não assume o compromisso de publicá-los.
- Os artigos podem ser retirados a qualquer momento antes de serem selecionados pelo Conselho Editorial.
- As afirmações assinadas são de responsabilidade integral dos autores.
- Os textos\* devem ser apresentados num editor de texto, em duas cópias impressas e uma em CD (com o número máximo de 5.000 palavras, incluindo as referências e legendas).
- As notas elucidativas devem ser restringidas ao número essencial e devem ser apresentadas no fim do texto.
- Quanto ao texto, exige-se: correção do português e do inglês (obrigatório).
- Os quadros, tabelas e figuras deverão ser incluídos no texto e numerados em algarismos arábicos (com suas respectivas legendas).
- Não utilizar notas de rodapé.
- A exatidão das Referências é de responsabilidade dos autores; as mesmas devem conter todos os dados necessários à sua identificação.
- Todos os autores citados no texto devem constar na lista de referências.
- As Referências devem ser apresentadas no final do texto obedecendo as normas da ABNT 6023 - 2002, não ultrapassando o limite de 30, conforme os exemplos a seguir:

### Livro com um autor

BRASKAR, S.N. *Synopsis of oral pathology*. 5th ed. St. Louis: Mosby, 1977.

### Livros com até três autores

HENDERSON, D.; MCGIVNEY, G. P.; CASTLEBERRY, D. J. *McCraken's removable partial prosthodontics*. 7th ed. St. Louis: C. V. Mosby, 1985.

### Livro com mais de três autores

APRILE, H. et al. *Anatomia odontológica orocervicofacial*. 5. ed. Buenos Aires: El Ateneo, 1975.

### Capítulo de livro

GONÇALVES, N. Técnicas radiográficas para o estudo da articulação temporomandibular. In: FREITAS, A.; ROSA, J. E.; FARIA, S. I. *Radiologia odontológica*. 2. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1988. p. 247-258.

### Tese e dissertação

PEREIRA, A. C. *Estudo comparativo de diferentes métodos de exame, utilizados em Odontologia, para diagnóstico da cárie dentária*. 1993. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1993.

### Artigo de revista

CAPELOZZA FILHO, Leopoldino. Uma variação no desenho do aparelho expansor rápido da maxila no tratamento da dentadura decídua ou mista precoce. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial*, Maringá, v. 4, n. 1, p. 69-74, jan./fev. 1999.

STEPHAN, R.M. Effect of different types of human foods on dental health in experimental animals. *J Dent Res*, Chicago, v. 45, p. 1551-1561, 1966.

### Citações de autores no texto

Com o objetivo de facilitar a leitura do texto, ficou determinado que as citações dos autores serão numéricas, respeitando a ordem alfabética dos autores na lista de referências.

— Devem ser normalizadas as abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com as publicações "Index Medicus" e "Index to Dental Literature".

— As ilustrações devem ter originais com qualidade apresentável, preferencialmente, na forma de slides ou em CD com imagem em alta resolução (300 DPI).

— Os desenhos enviados podem ser melhorados ou redesenhados pela produção da revista, a critério do Conselho Editorial.

— Os quadros e tabelas, numerados em algarismo arábico, com suas respectivas legendas devem vir em folhas separadas, porém inseridas no texto.

— Os textos devem ser acompanhados do resumo estruturado em português e inglês que não ultrapasse 250 palavras, bem como de 3 a 5 palavras-chave também em português e em inglês.

— Os textos devem ter na primeira página identificação do autor (nome, instituição de vínculo, cargo, título, endereço, e-mail) que não ultrapasse 5 linhas.

— Por motivo de isenção na avaliação dos trabalhos pelo Conselho Editorial, a segunda página deve conter título em português e inglês, resumo, palavras-chave, abstract, keywords, omitindo nomes ou quaisquer dados referentes aos autores.

— Todos os artigos devem ser enviados registrados, preferencialmente por Sedex com porte pago, e encaminhados à:

### Dental Press International

Av. Euclides da Cunha, 1.718 - Zona 5,

CEP 87.015-180

Maringá - Paraná - Brasil

Fone/Fax (0xx44) 3262-2425

E-mail: dental@dentalpress.com.br

\*mais informações acesse: [www.dentalpress.com.br/normas/pesquisa](http://www.dentalpress.com.br/normas/pesquisa)