



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

MAYRA FERNANDA FERREIRA

**Influência da isotretinoína sobre a
movimentação dentária induzida em ratos:
análise microtomográfica e
histomorfométrica**

Araçatuba - SP
2022

MAYRA FERNANDA FERREIRA

**Influência da isotretinoína sobre a
movimentação dentária induzida em ratos:
análise microtomográfica e
histomorfométrica**

Defesa de dissertação de MESTRADO apresentado como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências – área de Saúde Bucal da Criança da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem
Coorientador: Prof. Marcos Rogério de Mendonça

Araçatuba
2022

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

F383e Ferreira, Mayra Fernanda.
Influência da isotretinoína sobre a movimentação
dentária induzida em ratos: análise microtomográfica e
histomorfométrica / Mayra Fernanda Ferreira. –
Araçatuba, 2022
89 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual
Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem
Coorientador: Prof. Marcos Rogério de Mendonça

1. Remodelação óssea 2. Técnicas de movimentação
dentária 3. Isotretinoína I. T.

Black D27
CDD 617.645

Claudio Hideo Matsumoto – CRB-8/5550

DEDICATÓRIA

DEDICATÓRIA

Dedico todo esse trabalho aos meus pais, Fátima e Silvio, por todo o apoio e por nunca terem desistido mesmo quando as coisas não estavam fáceis.

Mãe, pai, eu sei que apoiar um sonho como o meu não é para qualquer um. Desde pequena eu sempre fui decidida, teimosa e orgulhosa. Houve momentos em minha adolescência que vocês poderiam ter desistido de mim, eu sei muito bem disso – mas não foi o que vocês fizeram – vocês encontraram uma maneira de me estimular a estudar novamente. Vocês fizeram eu amadurecer e enxergar como seria a minha vida antes que fosse tarde demais.

Se vocês não tivessem feito o que fizeram no ano de 2009, eu tenho certeza absoluta que eu não estaria onde estou atualmente. Não teria me formado em uma universidade pública, não estaria fazendo duas pós-graduações ao mesmo tempo, não estaria aqui, escrevendo isso – com lágrima nos olhos – para minha defesa de dissertação de mestrado acadêmico.

Espero que eu tenha superado todas as expectativas que vocês podem ter criado sobre mim, e que tudo o que vocês fazem por mim valha a pena.

Eu faço tudo isso por amor ao que faço, e saibam que, todos os momentos ruins que fizeram eu pensar em desistir, vocês dois sempre foram as primeiras pessoas a aparecer na minha mente.

Vocês sempre fizeram tudo por mim – e continuam fazendo, então eu posso sim superar todos os momentos ruins por **vocês**. Eu amo vocês.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Ao meu noivo, João Guilherme:

A pessoa que esteve presente vinte e quatro horas por dia com minhas oscilações de humor e estresse diário – a mesma que me traz coca-cola gelada e um chocolate para me acalmar e dizer que preciso achar uma solução para meus problemas, e não surtar antes disso. Sua calma sempre foi um divisor de águas com minha alma agitada e ligada no 220v.

Obrigada por ser o melhor companheiro que eu poderia imaginar ter. Temos tantos planos, tantos sonhos, e todos eles seguindo seu curso, e eu sei que um dia, vamos realizar cada objetivo determinado por nós dois. Obrigada por sua paciência e quietude em meus piores momentos, e obrigada por seu zelo, amor e carinho nos meus melhores momentos. Eu te amo, e às vezes quando olho para você – sem que você perceba – eu sempre penso: “que sorte eu tive”.

A minha família:

Tia Renata, Tia Marli, Tio Marcos, Rita, Vó Maria, Gabi (prima de sangue, irmã de coração), Matheus, Vi, Lucas, Caio, Thaís e Carol – todos que estiveram presentes por toda minha jornada e sempre me apoiaram em todas as etapas da minha vida. Obrigada pelo amor, carinho, atenção e cuidado que sempre tiveram comigo. Sorte a minha fazer parte dessa família!

Aos meus sogros, Sueli e Caio:

Como gosto de dizer, meus pais de Araçatuba. Sinceramente, eu me considero iluminada por ter pessoas como vocês em minha vida. Obrigada por sempre me tratarem e amarem como uma filha, por cuidarem de mim e sempre se preocuparem.

Aos meus super amigos:

Eu devo ser muito sortuda - por atrair somente pessoas tão boas e sensacionais em meu círculo da vida. Essa pós-graduação foi uma montanha russa de emoções. Teve chororô, teve risadas histéricas, teve hambúrguer no meio da semana junto de uma coca gelada ou um vinho para acalmar os ânimos pós clínica. Essa pós-graduação não seria igual sem vocês do meu lado: Marcella Santos Januzzi e Tamires Passadori Martins, irmãs de coração que a graduação me deu e continuaram caminhando comigo na pós também – e pouco tempo depois, nossa amiga Geórgia Peres chegou para complementar nossas vidas para melhor. Eu amo vocês demais!

Luy de Abreu Costa, você é uma das pessoas de coração mais puro e genuíno que conheço, você atrai coisas boas, puramente por ser você. Você tem um lugarzinho especial no meu coração, e esse lugar sempre será seu. Obrigada por me suportar tanto, sinceramente, às vezes eu me pergunto como você dá conta, viu?

Bárbara Ribeiro de Carvalho, Laís Maran, Maria Gabriela Dantas, Bruna Lindolfo, Breno Souza (que some, mas sempre aparece!). É difícil de explicar nossa amizade, dado quão diferente somos um do outro. Como pode pessoas com personalidades tão diferentes, amar, se importar e ser o braço amigo um do outro? Saber que eu posso contar com vocês para absolutamente tudo, mesmo há quilômetros de distância, mesmo há meses sem se ver, acalenta meu coração e me traz uma sensação de paz indescritível. Amo vocês!

Aos meus colegas e professores de faculdade e pesquisa:

A pós-graduação traz experiências incríveis, não só ensinamentos, mas por conta de convivemos em departamentos diferentes durante o percurso da pesquisa, fazemos amizade com pessoas que nunca pensávamos sequer conversar.

Gostaria de agradecer a Mariana Quirino, Luy de Abreu Costas (amigo das antigas) e a Priscila Marchesini, que sempre foram meu braço direito no Laboratório de Farmacologia, Laboratório de Histologia e Laboratório de Cirurgia. Vocês nunca

me deixaram na mão em nenhum momento, sempre que precisei vocês estavam presentes, tornando a pesquisa menos cansativa e estressante.

A Profa. Cristina Antoniali Silva, Prof. Edilson Ervolino e Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem por terem me cedido espaço no departamento de Farmacologia e Histologia e ao Laboratório Multiusuário (Equipamento de Micro-CT), e ensinado tanto durante todo o curso do meu mestrado.

Agradeço também por toda a parceria e companheirismo da Samyra Dote e a Izabela Delamura, mesmo com todo o trabalho pesado de fazer parte da Comissão do Congresso da COFOA, são pessoas com quem sempre pude contar. Foram horas e horas de conversas, falando de série, de filme, da vida, rindo de bobagens e até do andamento de nossas pesquisas. Obrigada por tudo pessoal!

Aos queridos Professores que se tornaram grandes amigos:

Quantas vezes eu precisei ouvir as palavras sábias e cheias de experiência de vocês? Vocês são uma figura de admiração para mim, e não falo somente dos profissionais incríveis que são, mas também da pessoa que são – que atraí positividade a sua volta. Prof. Marcos Rogério de Mendonça (Prof. Rogério) e Prof. Leonardo Perez Faverani (Prof. Leo), saibam que a amizade de vocês é preciosa demais para mim, e que tudo o que fizeram por mim nunca será esquecido. Obrigada por serem quem são; pessoas boas que só atraem o bem.

Ao meu orientador e co-orientador:

Agradeço por toda atenção, ensinamentos e oportunidade dada ao meu orientador, Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem, e também ao meu coorientador, Prof. Marcos Rogério de Mendonça. Obrigada por confiarem em mim, e sempre estarem presentes quando precisei. Apesar do período que vivenciamos – a pandemia de COVID-19 – conseguimos seguir em frente, encarar prazos, e fazer tudo acontecer. Obrigada!

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo:

Agradeço também pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por ter financiado todo esse projeto (2020/06608-4) e dado a possibilidade de sua realização.

E finalmente, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão desta pesquisa científica.

*“Sometimes we come last, but we did our best”
– Try Everything – Shakira*

RESUMO

Ferreira, MF. **Influência da isotretinoína sobre a movimentação dentária induzida em ratos: análise microtomográfica e histomorfométrica.** 2022. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

RESUMO

A isotretinoína, ou ácido 13-cis-retinóico, é um fármaco isômero da tretinoína, forma oxidada da Vitamina A, e faz parte dos retinóides mais comuns de aproximadamente 1500 sintetizados. A movimentação dentária induzida (MDI) é o resultado de uma cascata de respostas inflamatórias estimuladas por um elemento físico que é a força gerada por dispositivos ortodônticos, envolvendo a remodelação do osso alveolar, alterações no ligamento periodontal e as vezes no cimento radicular. A isotretinoína é usada principalmente entre adolescentes e jovens adultos, e coincidentemente é a faixa etária que também realiza tratamento ortodôntico. Neste estudo, nós utilizamos um modelo animal (n= 55) para avaliar os efeitos da isotretinoína sobre a MDI em ratos. Após a eutanásia, as maxilas dos animais foram extraídas cirurgicamente e submetidas a análise de Micro-CT e exame histológico. Testes estatísticos específicos foram empregados para analisar se houve diferença no deslocamento dentário e também nos parâmetros microtomográficos dos animais submetidos a isotretinoína e MDI concomitantemente. Nossos resultados mostraram que a isotretinoína influenciou na movimentação dentária induzida no dia 14, com dosagem de 7.5mg/kg/dia.

PALAVRAS-CHAVE: Remodelação óssea; Técnicas de Movimentação Dentária; Isotretinoína.

ABSTRACT

Ferreira, MF. **Influence of isotretinoin on orthodontic tooth movement in rats: microtomographic and histomorphometric analysis.** 2022. 89 f. Dissertation (Master in Science). School of Dentistry of Araçatuba, São Paulo State University, Araçatuba, 2022.

ABSTRACT

Isotretinoin, or 13-cis-retinoic acid, is an isomer drug of tretinoin, the oxidized form of Vitamin A, and is part of the most common retinoids of approximately 1500 synthesized. Orthodontic tooth movement (OTM) is the result of a cascade of inflammatory responses stimulated by a physical element that is the force generated by orthodontic appliance, involving the remodeling of the alveolar bone, alterations in the periodontal ligament and sometimes in the root cementum. Isotretinoin is used mainly among adolescents and young adults, and coincidentally it is the age group that also undergoes orthodontic treatment. In this study, we used an animal models (n= 55) to observe the effects of isotretinoin on OTM in rats. After euthanasia, the animals' jaws had been surgically extracted and subjected to histological examination and analysis by Micro-CT. Specific statistical tests were used to analyze whether there was a difference in tooth displacement and also in the microtomographic parameters of animals submitted concomitantly to isotretinoin and OTM. Our results showed that isotretinoin influenced OTM on day 14, with a dose of 7.5mg/kg/day.

KEY WORDS: Bone Remodeling; Tooth Movement Techniques; Isotretinoin.

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Aparelho utilizado para a movimentação dentária induzida.....	44
FIGURA 2: Padronização dos cortes pelo software DataViewer: Em A ilustração da imagem em vista coronal. Em B uma vista axial e C uma vista sagital.....	45
FIGURA 3: Padronização dos cortes pelo software DataViewer: Em A a ilustração da porção mais cervical das coroas na vista coronal. Em B a ilustração da vista sagital do mesmo corte da porção mais cervical analisada da vista coronal, em C	46
FIGURA 4: Gráfico mostrando o Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp) dos Grupos 1, 4, 5, 6 e 7, respectivamente.....	47
FIGURA 5: Gráfico mostrando o Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp) dos Grupos 1, 2 e 3, respectivamente.....	48
FIGURA 6: Gráfico mostrando o Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp) dos Grupos 8, 9, 10 e 11, respectivamente.....	49
FIGURA 7: Gráfico mostrando a Quantidade de Deslocamento Dentário nos Grupos 2, 3, 8, 9, 10 e 11, respectivamente.....	50
FIGURA 8: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 1.....	51
FIGURA 9: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 2.....	52
FIGURA 10: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 3.....	53

FIGURA 11: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 4.....	54
FIGURA 12: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 5.....	55
FIGURA 13: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 6.....	56
FIGURA 14: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 7.....	57
FIGURA 15: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 8.....	58
FIGURA 16: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 9.....	59
FIGURA 17: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 10.....	60
FIGURA 18: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 11.....	61

SUMÁRIO

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	22
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
2.1 Animais e condições experimentais	24
2.2 Delineamento experimental	24
2.3 Aplicação da isotretinoína	25
2.4 Protocolo de movimentação dentária induzida.....	26
2.5 Eutanásia e Preparo dos Espécimes	27
2.6 Análise do Deslocamento Dentário	27
2.7 Análise da Morfologia Óssea.....	28
2.8 Análise do ligamento periodontal e do osso alveolar	29
2.9 Análise estatística	30
3. RESULTADOS.....	31
3.1 Efeitos da isotretinoína sobre a morfologia óssea.....	31
3.2 Efeitos da movimentação dentária induzida sobre a morfologia óssea .	31
3.3 Efeitos da movimentação dentária induzida e da isotretinoína sobre a morfologia óssea	32
3.4 Efeitos da isotretinoína sobre a quantidade de deslocamento dentário	32
3.5 Análise quantitativa e qualitativa dos efeitos da isotretinoína sobre o ligamento periodontal.....	33
4. DISCUSSÃO	35
5. CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS.....	40
FIGURAS	44
TABELAS.....	63
ANEXO A – Normas do Periódico “American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics”	65
ANEXO B – Certificado do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba	89

MANUSCRITO*

**De acordo com as normas do periódico American Journal of Orthodontics and
Dentofacial Orthopedics*

1. INTRODUÇÃO

A isotretinoína, ou ácido 13-cis-retinóico, é um fármaco isômero da Tretinoína, forma oxidada da Vitamina A, que foi sintetizado como método terapêutico no tratamento da acne inflamatória grave do tipo nódulo-cística ou conglobado e para casos de acne que se mostram resistentes a tratamentos com antibióticos ou medicamentos tópicos¹. A acne é uma das doenças mais comuns encontradas pelos dermatologistas, afetando aproximadamente 79-95% dos adolescentes e jovens adultos no ocidente¹⁻³. Acredita-se que a isotretinoína atua na glândula sebácea, ligando-se a receptores retinóides específicos, modificando a transcrição gênica¹. O fármaco reduz a atividade e o tamanho da glândula, diminuindo a quantidade de sebo que ela produz¹. Já foi mostrado em alguns estudos que após 8 semanas de uso da isotretinoína em humanos, há uma diminuição dos genes envolvidos no metabolismo de esteróides, colesterol e ácidos graxos e um aumento de genes que codificam proteínas estruturais, como colágeno e fibronectina⁴⁻⁵. Além disso, os retinóides, como a isotretinoína, atuam normalizando a queratinização do folículo sebáceo e o número de *Propionibacterium acnes*⁶.

Estudos em modelos animais demonstraram que a forma ativa da Vitamina D, o Calcitriol, aumenta a taxa de movimentação dentária induzida com sobredose dessa vitamina^{7,8}. Já foi observado em um estudo que o fármaco isotretinoína afeta o metabolismo da Vitamina D, antagonizando seu papel na homeostase do cálcio⁹. Alguns autores encontraram em suas pesquisas que a sobredose de Vitamina A em ratos pode resultar em reabsorção óssea acelerada devido ao aumento da atividade dos osteoclastos, pois a hipercalcemia induzida por esta vitamina pode resultar na retirada de íons cálcio dos ossos e aumentar sua concentração na corrente sanguínea^{10,11}. Já em um estudo feito com animais que foram tratados com o fármaco isotretinoína e movimentação dentária induzida seguido por extração dentária, foi observado que a extração dentária facilitou

significativamente a movimentação dentária induzida e houve uma resposta satisfatória do osso alveolar¹². Em uma revisão de literatura com estudos clínicos, foi observado que, com exceção de seus efeitos teratogênicos, os efeitos adversos da isotretinoína são geralmente mucocutâneos (ressecamento dos lábios, olhos e pele), dependentes da dose e reversíveis com a descontinuação da medicação¹³. Em um relato de caso clínico, foi reportado que uma paciente de 17 anos de idade sem histórico de doenças crônicas apresentou estomatite aftosa durante o tratamento com isotretinoína, tendo que parar com o tratamento para que as lesões ulcerativas regredissem¹⁴. Há escassez na literatura de relatos de alterações intrabuciais em pacientes durante o uso de isotretinoína.

A movimentação dentária induzida (MDI) é o resultado de uma cascata de respostas inflamatórias estimuladas pela força gerada por dispositivos ortodônticos, envolvendo a remodelação do osso alveolar, alterações no ligamento periodontal e às vezes no cemento radicular¹². Fatores específicos como utilização de fármacos e alterações no metabolismo, podem influenciar os eventos celulares envolvidos na movimentação dentária induzida, levando a alterações na qualidade e quantidade do deslocamento dentário¹². Em uma revisão de literatura foi observado que anti-inflamatórios não-esteroidais não são indicados para pacientes em tratamento ortodôntico por diminuir a movimentação dentária¹⁵, sendo o acetaminofeno o fármaco de escolha para tratar da dor nesses pacientes por apresentar uma menor inibição das prostaglandinas e pouca significância nos efeitos anti-inflamatórios¹⁵. Já foi observado que a dipirona e o ácido acetilsalicílico diminuí o deslocamento dentário em modelos animais que foram tratados com esses fármacos durante a movimentação dentária induzida¹⁶.

A interrelação da isotretinoína e a movimentação dentária já foi motivo de estudos, porém os resultados ainda são inconclusivos e algumas questões ainda precisam de maior esclarecimento^{12,33}. A isotretinoína é usada principalmente entre adolescentes e jovens

adultos, e coincidentemente é a faixa etária que também realiza tratamento ortodôntico^{12,13,17-20}. Considerando que existem indivíduos em tratamento ortodôntico e ao mesmo tempo com o uso de isotretinoína, e que os efeitos dessa combinação ainda são escassos na literatura, é que estamos propondo esse trabalho.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais e condições experimentais

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP com o número de protocolo: 00462-2020 (ANEXO B). Todos os experimentos foram desenvolvidos de acordo com os Princípios Éticos para a Experimentação Animal²¹. Para a realização do experimento, 55 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) com 75 dias de idade e peso entre 300g - 350g ao início dos procedimentos foram utilizados. Os animais foram mantidos no biotério do Departamento de Ciências Básicas - Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, SP, Brasil, em ambiente climatizado (25 ± 2 °C), ciclo de 12h luz/ 12h escuridão e acesso à alimento (Purina®, Paulínia-SP, Brasil) e água “*ad Libitum*” durante todo o experimento.

2.2 Delineamento experimental

Com o objetivo de avaliar os efeitos da isotretinoína na movimentação dentária induzida em ratos, cinquenta e cinco animais foram divididos aleatoriamente em 11 grupos, contendo 5 animais em cada grupo; a composição e os procedimentos realizados serão descritos abaixo:

GRUPO 1	_____	CON	_____	Não submetidos a nenhum tipo de tratamento
GRUPO 2	_____	MDI-7	_____	Submetidos a movimentação dentária induzida por 7 dias
GRUPO 3	_____	MDI-14	_____	Submetidos a movimentação dentária induzida por 14 dias
GRUPO 4	_____	ISO14-A	_____	Tratados com isotretinoína por 14 dias
GRUPO 5	_____	ISO14-B	_____	
GRUPO 6	_____	ISO21-A	_____	Tratados com isotretinoína por 21 dias
GRUPO 7	_____	ISO21-B	_____	
GRUPO 8	_____	MDI7-ISO14-A	_____	Tratados com isotretinoína por 14 dias e submetidos a movimentação dentária induzida por 7 dias
GRUPO 9	_____	MDI7-ISO14-B	_____	
GRUPO 10	_____	MDI14-ISO21-A	_____	Tratados com isotretinoína por 21 dias e submetidos a movimentação dentária induzida por 14 dias
GRUPO 11	_____	MDI14-ISO21-B	_____	

Nos Grupos 8, 9, 10 e 11 os animais foram tratados com isotretinoína por 7 dias antes da movimentação dentária induzida e mantida durante o período de movimentação nos respectivos grupos. Os grupos nomeados em A foram tratados com isotretinoína com dosagem de 7,5mg/kg, enquanto os grupos nomeados em B foram tratados com isotretinoína com dosagem de 1,0mg/kg. Todos os animais foram pesados com balança eletrônica de precisão (Bel 0,01g, 2200g S2202H, Bel Engineering, Piracicaba, São Paulo, Brasil) diariamente até serem eutanasiados.

2.3 Aplicação da isotretinoína

A isotretinoína foi obtida através da cápsula de Roacutan® de 20mg (Roaccutane, Roche, Basileia, Suíça) e mantidas em temperatura ambiente (15 a 30°C), nas embalagens originais e protegidas da luz e umidade. Cada solução foi misturada durante a manhã em um quarto escuro, imediatamente antes da administração – devido à alta sensibilidade à luz da isotretinoína²² – dissolvida em óleo de soja para facilitar a gavagem (o óleo de soja foi utilizado por fazer parte das propriedades do Roacutan®), de acordo com o peso do animal e a concentração desejada, em uma garrafa âmbar. A cápsula de 20mg do

Roacutan® foi perfurada por uma agulha hipodérmica (30x0,70mm, Descarpack 22G, Santa Catarina, Brasil) e seu conteúdo foi então adicionado ao frasco. Seguindo a literatura como base, a dose diária recomendada para humanos é calculada de acordo com o peso do paciente e varia de 0,5 a 2mg/kg/dia por até 24 semanas²³, quando trazemos isso para a dosagem equivalente entre animais e humanos, temos 1,0mg/kg/dia e 7,5mg/kg/dia como uma dosagem próxima da recomendada para seres humanos^{24,25}. O frasco foi agitado para melhor diluição e a solução foi administrada por gavagem oral com agulha curta apropriada para ratos (Bonther, Referência: Aço INOX BD-12, Ribeirão Preto, São Paulo). Para ajuste da dose ao peso corporal, cada animal foi pesado diariamente até a eutanásia.

2.4 Protocolo de movimentação dentária induzida

Para instalação do dispositivo mecânico foi utilizado o relaxante muscular Cloridrato de Xilazina (DOPASER, Caleir S.A., Barcelona, Espanha; 0,03ml por 100g de peso) e o anestésico Cloridrato de Cetamina (VETASET, Fort Dodge Animal Health, Iowa, USA; 0,07ml por 100g de peso). Ambas as drogas foram administradas via intramuscular.

Nesta pesquisa foi utilizado um sistema mecânico que é uma adaptação do método idealizado por Heller e Nanda²⁶. O dispositivo é uma mola de níquel titânio (Sentalloy, GAC, USA) com comprimento efetivo de 4mm e força constante de 50cN. A magnitude de força e a quantidade de estiramento da mola foi estabelecida previamente pelo fabricante. Para a adaptação das molas nos molares e incisivos, foram utilizados fios de amarrilho 0,25mm de diâmetro (Morelli, Sorocaba, SP, Brasil). Após a instalação da mola, os incisivos foram envolvidos com resina composta (Z100™ - 3M, Minnesota, USA) com o objetivo de melhorar a retenção. A movimentação dentária induzida foi realizada no

primeiro molar superior direito, e como ancoragem, foi usado o incisivo superior direito (Fig. 1).

2.5 Eutanásia e Preparo dos Espécimes

Após os períodos experimentais de cada grupo, os animais foram sacrificados via perfusão transcardíaca com 100 mL de solução salina fisiológica acrescida de 0,1% de heparina e em seguida, 800 mL de formaldeído 4% (Sigma Chemical®, Saint Louis, MO, EUA) em tampão fosfato salino (PBS - Sigma Chemical®), 0,1 M, 4°C, pH 7,4. As hemimaxilas direitas foram dissecadas e submetidas à fixação por 12 horas, e então lavadas por 12 horas em água corrente para poder estarem adequadas para ser obtido as imagens tridimensionais (3D). A imagem tridimensional (3D) foi obtida por meio do scanner Skyscan 1272 (Bruker, Billerica; Massachusetts, EUA). Imagens de alta resolução foram obtidas a 70 KvP (142 µA) e um campo de visão (FOV) de 20,5 mm. Após a obtenção das imagens, as peças voltaram ao fixador para completar as 72 horas. As amostras foram desmineralizadas em 10% de ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA) (Sigma Chemical®) em PBS, por 60 dias e submetidas ao processamento histológico convencional, com inclusão em parafina e posteriormente à microtomia para obtenção de cortes de 5 µm (micrômetros) de espessura. As secções histológicas foram submetidas à coloração por hematoxilina-eosina (HE).

2.6 Análise do Deslocamento Dentário

As reconstruções tridimensionais foram geradas com o uso do Aplicativo NRecon Reconstruction (Micro Photonics Inc., Allentown, Pennsylvania). Foi analisado o espaço entre a face distal do primeiro molar e face mesial do segundo molar. A imagem tridimensional foi trabalhada com os seguintes critérios: obter uma imagem sagital onde

seja possível observar toda a raiz mesiovestibular e distovestibular do primeiro molar (seus terços cervical, médio e apical), polpa, curvatura da região de furca e crista óssea alveolar mesial em sua integridade (Fig. 2).

Para sistematizar a orientação da imagem, foi ajustado as linhas: axial (azul), sagital (verde) e coronal (vermelho) no programa Skycan Dataviewer (Bruker, Billerica; Massachusetts, EUA). Numa vista coronal, a linha azul passa pelo longo eixo no sentido mesio-distal do primeiro molar (Fig. 2A), enquanto na vista axial, a imagem foi angulada de maneira apropriada (Fig. 2B) para que na vista sagital fosse possível observar as raízes mesiovestibular e distovestibular em sua integridade (Fig. 2C). Numa vista sagital, uma linha amarela tracejada foi passada na ponta das cúspides dos molares, a fim de usar como referência para achar o ponto mais convexo no esmalte do primeiro molar, mostrado pela linha verde. O espaço entre o primeiro molar e o segundo molar em sua maior convexidade na face distal e mesial, determinado pela linha verde, foi usado para realizar a medida linear do deslocamento dentário com o uso do programa Image J (National Institute of Health, NIH, Estados Unidos).

2.7 Análise da Morfologia Óssea

Tendo a região entre as raízes do primeiro molar como alvo de nosso estudo, foi reconstruído numa vista coronal imagens para a avaliação da morfologia óssea de todos os grupos (Fig. 3). No plano coronal, a linha axial foi alinhada com o longo eixo do primeiro molar superior no sentido mesial-distal (Fig. 3A). Para análise da densidade óssea, as imagens tridimensionais foram então importadas para o software CT-Analyser (CTAn versão 1.13, Bruker microCT, Kontich, Bélgica). Para a determinação da área analisada para a arquitetura óssea, a imagem do primeiro molar foi analisada no sentido ocluso-apical, sendo que, o nível mais cervical correspondeu ao assoalho da câmara pulpar (Fig.

3B-C), determinada pela linha verde, e o nível mais apical próximo ao terço médio da raiz mesiovestibular, nunca ultrapassando o terço médio da raiz - totalizando 80 cortes de imagens para análise. No software CTAn, o volume ósseo (BV/TV), espessura trabecular (Tb.Th), número de trabéculas (Tb.N) e separação trabecular (Tb.Sp) foram calculados pelo software CTAn e comparados entre os grupos.

Os índices morfométricos básicos incluem a medição do volume ósseo (BV) e o volume total de interesse (TV)²⁷. Esses índices podem ser derivados de um método simples de contagem de voxels ou de um método de renderização de volume mais avançado, também conhecido como cubos de marcha volumétrica (VOMACs), onde o último método pode ser mais preciso para estruturas pequenas ou muito complexas. A razão dessas duas medidas é denominada fração de volume ósseo (BV/TV)²⁷.

A espessura trabecular média (Tb.Th), a separação trabecular média (Tb.Sp) e o número trabecular médio (Tb.N) foram baseados em cálculos 3D. Uma vantagem desta abordagem para calcular a morfometria trabecular é que não temos só valores médios, mas também a variação dessas medidas calculadas e expressas pelo desvio padrão³¹. Vários estudos mostram que o grau de anisotropia (ou seja, uma descrição de como os elementos estruturais estão orientados), juntamente com a fração de volume ósseo, podem explicar parte significativa das propriedades mecânicas de uma estrutura 3D²⁸⁻³⁰.

2.8 Análise do ligamento periodontal e do osso alveolar

A análise da arquitetura do ligamento periodontal foi realizada considerando uma combinação entre áreas e características histológicas. As áreas analisadas foram o septo interradicular, a raiz méso-vestibular e a raiz disto-vestibular. Na raiz méso-vestibular faces mesial e distal e terço cervical, médio e apical. Na raiz disto-vestibular faces mesial e distal e terço cervical, médio e apical. No ligamento periodontal de cada uma destas áreas foram

analisados: presença de hemorragia, infiltrado inflamatório e disposição dos feixes de fibras colágenas. Já a análise da arquitetura do osso alveolar foi realizada considerando as características do osso entre as raízes mésio-vestibular e disto-vestibular, tendo como critérios a análise de áreas de reabsorção óssea, áreas de neoformação óssea e a quantidade de osso.

2.9 Análise estatística

Na análise do erro do método para a medição do deslocamento dentário, optou-se pela comparação de dez imagens na norma sagital microtomográfica com suas devidas medições realizadas – em dias diferentes. As dez medições – realizadas 3 vezes para cada imagem – foram comparadas por meio do teste T de Student pareado, com nível de significância de 5%.

A análise estatística foi realizada usando o programa SigmaPlot (versão 12.0; Systat Software Inc., Chicago, Illinois). A normalidade e a homogeneidade dos dados foram testadas com o teste de Shapiro-Wilk. As comparações entre grupos e os diferentes tempos foram realizados usando a análise de variância one way ANOVA. Como os testes não apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste Kruskal-Wallis, seguido do teste de comparação múltipla não paramétrica de Tukey. O nível de significância adotado para todos os testes foi de 5%.

3. RESULTADOS

3.1 Efeitos da isotretinoína sobre a morfologia óssea

Para os grupos 1 (CON), 4, 5, 6 e 7 (ISO) serão apresentados apenas os resultados dos parâmetros microtomográficos, pois nesses grupos não foram realizadas a movimentação dentária induzida. Desta forma, os parâmetros microtomográficos observado nos grupos 1, 4, 5, 6 e 7 foram, respectivamente: Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp). Após a comparação entre as médias citadas anteriormente, não houve diferença significativa entre os grupos ($P > 0.05$). Sendo assim, a isotretinoína não provocou alteração na morfologia óssea nas condições deste experimento (Fig. 4; Tabela 1).

3.2 Efeitos da movimentação dentária induzida sobre a morfologia óssea

Para os grupos 1 (CON), 2 e 3 (MDI) serão apresentados os resultados dos parâmetros microtomográficos. Desta forma, os parâmetros microtomográficos observado nos grupos 1, 2 e 3 foram, respectivamente: Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp). Após a comparação entre as médias citadas anteriormente, observe-se que o grupo 2 (MDI-7) e o grupo 3 (MDI-14) tiveram um aumento significativo do BV/TV em comparação ao grupo 1 (Controle) ($P = 0.0327$ e $P = 0.0175$, respectivamente); Grupo 3 (MDI-14) teve um aumento significativo de Tb.Th em comparação ao grupo 1 (Controle) ($P = 0.0027$); Grupo 2 (MDI-7) teve um aumento significativo de Tb.N em comparação ao grupo 1 (Controle) ($P = 0.0089$); Grupo 2 (MDI-7) e o grupo 3 (MDI-14) tiveram uma diminuição significativa do Tb.Sp em comparação ao grupo 1 (Controle) ($P = 0.0216$ e $P = 0.0267$, respectivamente). Não houve diferença significativa entre os grupos 1 e 2 quando comparado o valor de Tb.Th e nem entre os grupos 1 e 3 quando comparado o valor de Tb.N ($P > 0.05$). Sendo assim, a

movimentação dentária induzida provocou alteração na morfologia óssea nas condições deste experimento (Fig. 5; Tabela 2).

3.3 Efeitos da movimentação dentária induzida e da isotretinoína sobre a morfologia óssea

Para os grupos 8, 9, 10 e 11 (MDI + ISO) serão apresentados os resultados dos parâmetros microtomográficos. Desta forma, os parâmetros microtomográficos observado nos grupos 8, 9, 10 e 11 foram, respectivamente: Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp). Após a comparação entre as médias citadas anteriormente, não houve diferença significativa entre os grupos ($P>0.05$). Sendo assim, a movimentação dentária induzida em conjunto com o tratamento com a isotretinoína não provocou alteração na morfologia óssea nas condições deste experimento (Fig. 6; Tabela 3).

3.4 Efeitos da isotretinoína sobre a quantidade de deslocamento dentário

Para os grupos 2, 3 (MDI) 8, 9, 10 e 11 (MDI + ISO) serão apresentados os efeitos da isotretinoína sobre a movimentação dentária induzida. Após a comparação entre as médias, houve diferença significante entre o grupo 10 (MDI-14-ISO-21-A) em comparação com o grupo 3 (MDI-14) ($P=0.0405$). Não houve diferença significante entre os outros grupos ($P>0.05$). Sendo assim, o deslocamento dentário foi menor no grupo que houve a ação da força ortodôntica em conjunto com o tratamento da isotretinoína com a dosagem de 7,5mg/kg/dia por 21 dias. (Fig. 7; Tabela 4).

3.5 Análise quantitativa e qualitativa dos efeitos da isotretinoína sobre o ligamento periodontal

Nos grupos 1, 4, 5, 6 e 7, (Fig. 8; Fig. 11 até Fig. 14) onde não foi efetuado movimento dentário induzido, as características histológicas dos tecidos periodontais se mostraram muito similares entre si. Nestes grupos o cemento se mostrou presente todos os espécimes com nenhum, ou com raros focos de reabsorção. Este tecido se mostrava recoberto por cementoblastos e fibroblastos, com incorporação de grande quantidade de fibras de Sharpey à matriz cementária, e, no caso do cemento celular, com lacunas contendo cementócitos. O ligamento periodontal se mostrou constituído por um tecido conjuntivo muito fibroso, com grande quantidade de espessos feixes de fibras colágenas, os quais se constituíam nas fibras principais do ligamento periodontal, entre os quais se encontrava um trama tridimensional de fibras colágenas mais finas, as fibras secundárias do ligamento periodontal. Entre estas duas modalidades de fibras colágenas se concentrava uma grande quantidade fibroblastos e muitos vasos sanguíneos. Neste tecido raras foram as células inflamatórias encontradas. No tecido ósseo observou-se osteoblastos ou células de revestimento ósseo em toda sua superfície, muitas fibras de Sharpey incorporadas à matriz óssea, raros osteoclastos ativos e muito osteócitos no interior da matriz.

Nos grupos 2, 8 e 9 (Fig. 9, Fig.15 e Fig. 16) observou-se área de estiramento das fibras do ligamento periodontal na face distal da raiz disto-vestibular. Na face mesial da raiz disto-vestibular foram evidenciadas áreas de hialinização do ligamento periodontal e presença de poucas células macrofágicas na região. As áreas de hialinização foram mais extensas nos grupos tratados com isotretinoína. Na face distal da raiz méso-vestibular observou-se um leve estiramento das fibras do ligamento periodontal. Na face mesial da raiz méso-vestibular as fibras do ligamento periodontal se mostraram com uma leve compressão e observou-se presença de células clásticas ativas. Já nos grupos 3, 10 e 11

(Fig. 10, Fig. 17 e Fig. 18), a face distal da raiz disto-vestibular se mostrava com leve estiramento das fibras do ligamento periodontal. Na face mesial da raiz disto-vestibular observou-se no grupo 3 pequena área de hialinização, com restituição do ligamento periodontal em suas adjacências, reabsorção do cimento na região próxima a área de hialinização e presença de células com atividade macrofágica ao redor de tais áreas, além da presença de células clásticas no tecido ósseo alveolar. Em contraposição, nesta mesma área os grupos 10 e 11 apresentaram uma extensa área de hialinização, como dimensão muito similar aquela observada nos grupos 8 e 9. Nos grupos 2, 3, 8, 9, 10 e 11, na face distal e na face mesial da raiz méso-vestibular observou-se cimento íntegro, reestruturação do ligamento periodontal e presença de células clásticas no tecido ósseo alveolar especialmente na face mesial.

4. DISCUSSÃO

Neste estudo, foi administrado 7,5 mg/kg/dia de isotretinoína e também 1,0mg/kg/dia por um período de 14 e 21 dias. A dosagem do fármaco para este estudo foi preparada seguindo critérios da dosagem equivalente entre animais e humanos^{24,25}. Como tratamento padrão para acne em humanos, as doses da substância já foram definidas com base na literatura^{23,31,32}. A dose diária recomendada para humanos é calculada de acordo com o peso do paciente e varia de 0,5 a 2mg/kg/dia por até 24 semanas^{23,31,32}. Graciano Parra et al. analisou os fêmures de 40 animais tratados com a isotretinoína na dosagem de 7,5 mg/kg/dia por 30 dias para avaliar a possível ação sistêmica da droga nos ossos e mostrou que a isotretinoína não produziu efeitos relevantes na morfologia óssea quando comparado a animais que foram tratados somente com óleo de soja³³. Ao analisar a morfologia óssea da tíbia de animais tratados com a isotretinoína por 30 dias, Nishio et al. também não encontraram alterações significativas na morfologia óssea destes animais¹². Nosso estudo mostrou não haver diferença significativa na morfologia óssea na área do processo alveolar analisado nos animais controle quando comparado aos animais tratados com a isotretinoína por 14 e 21 dias em doses de 7,5 mg/kg/dia e 1,0mg/kg/dia, condizente com os resultados já apresentados pelos autores citados. Porém, um estudo de Lind et al. mostrou uma redução significativa na densidade óssea na calvária de ratos com sobredose de Vitamina A³⁴, enquanto Johansson & Melhus sugeriram que, além de causar diretamente a reabsorção óssea, a isotretinoína pode, indiretamente, causar diminuição da densidade óssea por interferir nas ações da vitamina D³⁵. Pensando que os efeitos colaterais da isotretinoína são dose-duração dependentes e estão diretamente relacionados ao uso de altas doses por períodos prolongados^{25,31,32}, nosso estudo mostrou que doses baixas e correspondentes a dosagem em humanos, não altera significativamente a morfologia óssea de animais tratados com a droga. Porém, os autores

citados analisaram diferentes órgãos do animal, como o fêmur, tíbia e calvária, enquanto outros autores fizeram uma análise bioquímica em humanos, diferente de nosso estudo, que a área de análise foi a região de furca do primeiro molar superior do rato.

Sabendo que diferentes magnitudes de força (3, 25, 50, e 100 cN) produzem movimentos dentários semelhantes³⁶, neste estudo usamos molas helicoidais de NiTi com força constante de 50cN para realizarmos a movimentação dentária induzida. Em um estudo realizado com força constante de 3cN, Gudhimella et al. mostraram que há uma diminuição no BV/TV nos primeiros 7 dias de movimentação dentária induzida e também com 28 dias de movimentação dentária induzida, quando comparado a um grupo sem movimentação dentária induzida³⁷. Usando uma força constante de 50cN para realizar a movimentação dentária induzida, Lu et al. mostraram que há uma diminuição significativa no BV/TV na área de furca do primeiro molar quando comparado seu grupo tratado por esclerostina com o controle³⁸. Diferente do que houve em nossos resultados, onde nas condições deste experimento, houve diferença significativa nos parâmetros microtomográficos quando comparados os animais que tiveram movimentação dentária induzida por 7 e 14 dias com os controles, houve um aumento significativo de BV/TV, Tb.Th e Tb.N e uma diminuição significante no Tb.Sp. Por não termos encontrado estudos onde os parâmetros microtomográficos são analisados nestas mesmas condições experimentais, é necessário estudos onde a força de 50cN é exercida e que os parâmetros microtomográficos sejam analisados para comparar os resultados com animais sem movimentação dentária induzida.

Quando analisado os efeitos da movimentação dentária induzida e da isotretinoína sobre a morfologia óssea, nossos resultados mostraram que a droga e o deslocamento dentário não afetou os parâmetros microtomográficos dos grupos 8, 9, 10 e 11. O único trabalho achado na literatura, que realizou movimentação dentária induzida em conjunto

com o tratamento com a isotretinoína, e que analisou os mesmos parâmetros microtomográficos (BV/TV, Tb.Th, Tb.N e Tb.Sp), também mostraram que não houve diferença significativa na morfologia óssea destes animais³³. Porém, tais parâmetros foram analisados na epífise distal do fêmur, e não entre as raízes do primeiro molar superior, como em nosso estudo.

Os resultados do presente estudo mostraram que a isotretinoína em uma dosagem de 7,5mg/kg/dia; por 21 dias de administração e, 14 dias de movimentação dentária induzida, diminuiu o deslocamento dentário quando comparado a animais que tiveram somente a movimentação dentária induzida pela mesma quantidade de dias. Diferente dos resultados de Graciano Parra et al., sendo o único trabalho achado por nós que realizou movimentação dentária induzida com força de 30cN em conjunto com o tratamento com a isotretinoína na mesma dosagem também analisada em nosso estudo – onde não encontraram diferenças significativas no deslocamento dentário dos animais submetidos a isotretinoína e a movimentação dentária induzida³³.

O processo inflamatório é uma etapa importante para que o deslocamento dentário ocorra, pois é o momento onde ocorre a neoformação óssea e a redistribuição dos feixes das fibras colágenas no tecido periodontal. Estudos mostram que as áreas hialinizadas aparecem a partir do terceiro dia de movimentação dentária induzida, tendo sua diminuição a partir do dia 7³⁹⁻⁴¹. Quando observado o ligamento periodontal dos animais que foram tratados com a isotretinoína nas dosagens de 1,0mg/kg/dia e 7,5mg/kg/dia por 14 de administração e, 7 dias de movimentação dentária induzida, observou-se uma maior expressão de áreas de hialinização no terço mesial e médio da fase mesial da raiz disto-vestibular do primeiro molar quando comparado ao grupo que movimentou por 7 dias (sem tratamento), diferente de Graciano Parra et al., que não encontrou diferença significativa

quanto a presença de áreas hialinizadas entre seus grupos tratados com isotretinoína e movimentação dentária induzida nos dias 2, 7, 14 e 21³³.

São necessários mais estudos sobre os efeitos da isotretinoína e da movimentação dentária induzida nessas mesmas condições experimentais para chegar a uma conclusão mais judiciosa.

5. CONCLUSÃO

Com base na metodologia aplicada neste estudo, pode-se concluir que, a isotretinoína provocou redução do deslocamento dentário durante a movimentação dentária induzida quando administrada por longos períodos e na dose de 7.5mg/kg/dia.

REFERÊNCIAS

1. Vieira, AS, Bejjani, V, Melchior, AC. The effect of isotretinoin on triglycerides and liver aminotransferases. *An. Bras. Dermatol.* Rio de Janeiro. v. 87, n. 3, p. 382-387, June 2012.
2. Fleischer, A. B., Jr, Simpson, J. K., McMichael, A., & Feldman, S. R. Are there racial and sex differences in the use of oral isotretinoin for acne management in the United States?. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2003; 49(4), 662–666.
3. Cordain L, Lindeberg S, Hurtado M, Hill K, Eaton SB, Brand-Miller J. Acne vulgaris: a disease of Western civilization. *Arch Dermatol.* 2002;138:1584-90.
4. Nelson AM, Zhao W, Gilliland KL, Zaenglein AL, Liu W, Thiboutot DM. Isotretinoin temporally regulates distinct sets of genes in patient skin. *J Invest Dermatol.* Apr;129(4):1038-42, 2009.
5. Nelson AM, Zhao W, Gilliland KL, Zaenglein AL, Liu W, Thiboutot DM. Temporal changes in gene expression in the skin of patients treated with isotretinoin provide insight into its mechanism of action. *Dermatoendocrinol.* 1(3):177–187, 2009.
6. Nelson AM, Gilliland KL, Cong Z, Thiboutot DM. 13-cis Retinoic acid induces apoptosis and cell cycle arrest in human SEB-1 sebocytes. *J Invest Dermatol* 2006;126:2178-89.
7. Takano-Yamamoto T, Kawakami M, Yamashiro T. Effect of age on the rate of tooth movement in combination with local use of 1,25(OH)2D3 and mechanical force in the rat. *J Dent Res.* Aug;71(8):1487-92, 1992.
8. Kale S, Kocadereli I, Atila P, Aşan E. Comparison of the effects of 1,25 dihydroxycholecalciferol and prostaglandin E2 on orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* May;125(5):607-14, 2004.
9. Ertugrul DT, Karadag AS, Tural E, Akin KO. Therapeutic hotline. Does isotretinoin have effect on vitamin D physiology and bone metabolism in acne patients? *Dermatol Ther.* 24:291-295, 2011.
10. Frame B, Jackson CE, Reynolds WA, Umphrey JE. Hypercalcemia and skeletal effects in chronic hypervitaminosis A. *Ann Intern Med.* Jan;80(1):44-8, 1974.
11. Macguire J, Lawson JP. Skeletal changes associated with chronic isotretinoin and etretinate administration. *Dermatologica* 175:169–181, 1987.
12. Nishio C, Rompré P, Moldovan F. Effect of exogenous retinoic acid on tooth movement and periodontium healing following tooth extraction in a rat model. *Orthod Craniofac Res.* Jun;20 Suppl 1:77-82, 2017.
13. Landis MN. Optimizing Isotretinoin Treatment of Acne: Update on Current Recommendations for Monitoring, Dosing, Safety, Adverse Effects, Compliance, and Outcomes. *Am J Clin Dermatol.* Feb 27, 2020.
14. Vigarios E, Comont T, Piroth M, Cougoul P, Sibaud V. Severe aphthous stomatitis secondary to vitamin B12 deficiency with isotretinoin therapy. *JAAD Case Rep.* Jun 12;5(6):563-565, 2019.
15. Roche JJ, Cisneros GJ, Acs G. The effect of acetaminophen on tooth movement in rabbits. *Angle Orthod.* 67(3):231-6, 1997. 24.
16. Olteanu CD, Şerbănescu A, Boşca AB, Mişu CM. Orthodontic tooth movement following analgesic treatment with Aspirin and Algocalmin. An experimental study. *Rom J Morphol Embryol.* 56(4):1339-44, 2015. 25.
17. Bergoli RD, Chagas Junior OL, de Souza CE, Vogt BF, de Oliveira HT, Etges A, Silva DN. Isotretinoin effect on alveolar repair after exodontia--a study in rats. *Oral Maxillofac Surg.* Jun;15(2):85-92, 2011. 19.

18. Leachman SA, Insogna KL, Katz L, Ellison ARN, Milstone LM. Bone densities in patients receiving isotretinoin for cystic acne. *Arch Dermatol* 135:961–965, 1999.
19. Downs C. Excessive vitamin A consumption and fractures: how much is too much? *Nutr Bytes* 9:1–5, 2003.
20. Erdogan BS, Yuksel D, Aktan S, Ergin SS, Kiraç FS. The effects of isotretinoin treatment on bone mineral density in patients with nodulocystic acne. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 20:1006–1007, 2006.
21. Percie du Sert N, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. 2020, *PLOS Biology* 18(7): e3000411.
22. Ferguson AS, Cisneros FJ, Gouhg B, Haning JP, Berry KJ. Chronic oral treatment with 13-cis-retinoic acid (isotretinoin) or all-trans-retinoic acid does not alter depression-like behaviors in rats. *Toxicol Sci* 87:451–459, 2005.
23. Ministério da Saúde. Portaria No1.159 de 18 de novembro de 2015. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2015/prt1159_18_11_2015.html>. Acesso em 26 de setembro de 2022.
24. United States Environmental Protection Agency. External Review Draft: Harmonization in Interspecies Extrapolation: Use of BW 3/4 as Default Method in Derivation of the Oral RfD. Fev, 2006. Disponível em: <<https://www.epa.gov/osa/external-review-draft-harmonization-interspecies-extrapolation-use-bw-34-default-method>>. Acesso em 26 de setembro de 2022.
25. Thomazini, BF. Segurança do tratamento com isotretinoína mensurado pelos parâmetros de estresse oxidativo, estrutura e ultraestrutura do fígado e intestino delgado de ratos Wistar machos. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP : [S.N], 2016.
26. Heller IJ, Nanda R. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontic tooth movement, An experimental study. *American Journal of Orthodontics*, vol. 75 (pg. 239-258), 1979.
27. Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, Guldberg RE, Jepsen KJ, Müller R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Miner Res*. 2010;25(7):1468-1486.
28. Whitehouse WJ. The quantitative morphology of anisotropic trabecular bone. *J Microsc*. 1974;101:153–168.
29. Odgaard A, Jensen EB, Gundersen HJ. Estimation of structural anisotropy based on volume orientation. A new concept. *J Microsc*. 1990;157:149–162.
30. Odgaard A. Three-dimensional methods for quantification of cancellous bone architecture. *Bone*. 1997;20:315–328.
31. Brito MFM, Sant'anna IP, Galindo JCS, Rosendo LHPM, Santos JB. Avaliação dos efeitos adversos clínicos e alterações laboratoriais em pacientes com acne vulgar tratados com isotretinoína oral. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 85 (3): 331-337, 2010.
32. Sampaio SAP. Experiência de 65 anos no tratamento da acne e de 26 anos com isotretinoína oral. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 83 (4): 361-367, 2008.
33. Graciano Parra AX, Batista Rodrigues Johann AC, Trindade Grégio Hardy AM, et al. Effect of isotretinoin on induced tooth movement in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2021;159(2):193-201.
34. Lind T, O'ehman C, Calounova G, Rasmusson A, Andersson G, Pejler G, et al. Excessive dietary intake of vitamin A reduces skull bone thickness in mice. *PLoS One* 2017;12:e0176217.

35. Johansson S, Melhus H. Vitamin A antagonizes calcium response to vitamin D in man. *J Bone Miner Res* 2001;16:1899-905.
36. Alikhani M, Alyami B, Lee IS, Almoammar S, Vongthongleur T, Alikhani M, et al. Saturation of the biological response to orthodontic forces and its effect on the rate of tooth movement. *Orthod Craniofac Res* 2015;18(Suppl 1):8-17.
37. Gudhimella S, Ibrahim AY, Karanth D, et al. A rodent model using skeletal anchorage and low forces for orthodontic tooth movement [published correction appears in *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2019 May;155(5):617-618]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2019;155(2):254-263.
38. Lu, W., Zhang, X., Firth, F., Mei, L., Yi, J., Gong, C., Li, H., Zheng, W., & Li, Y. Sclerostin injection enhances orthodontic tooth movement in rats. *Archives of oral biology*. 2019; 99, 43–50.
39. Franzon Frigotto GC, Miranda de Araujo C, Guariza Filho O, Tanaka OM, Batista Rodrigues Johann AC, Camargo ES. Effect of fluoxetine on induced tooth movement in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2015;148(3):450-456.
40. Klein KP, Guastaldi FPS, Pereira HSG, He Y, Lukas SE. Dronabinol inhibits alveolar bone remodeling in tooth movement of rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2022;161(3):e215-e222.
41. Holland R, Bain C, Utreja A. Osteoblast differentiation during orthodontic tooth movement. *Orthod Craniofac Res*. 2019;22(3):177-182.

FIGURAS

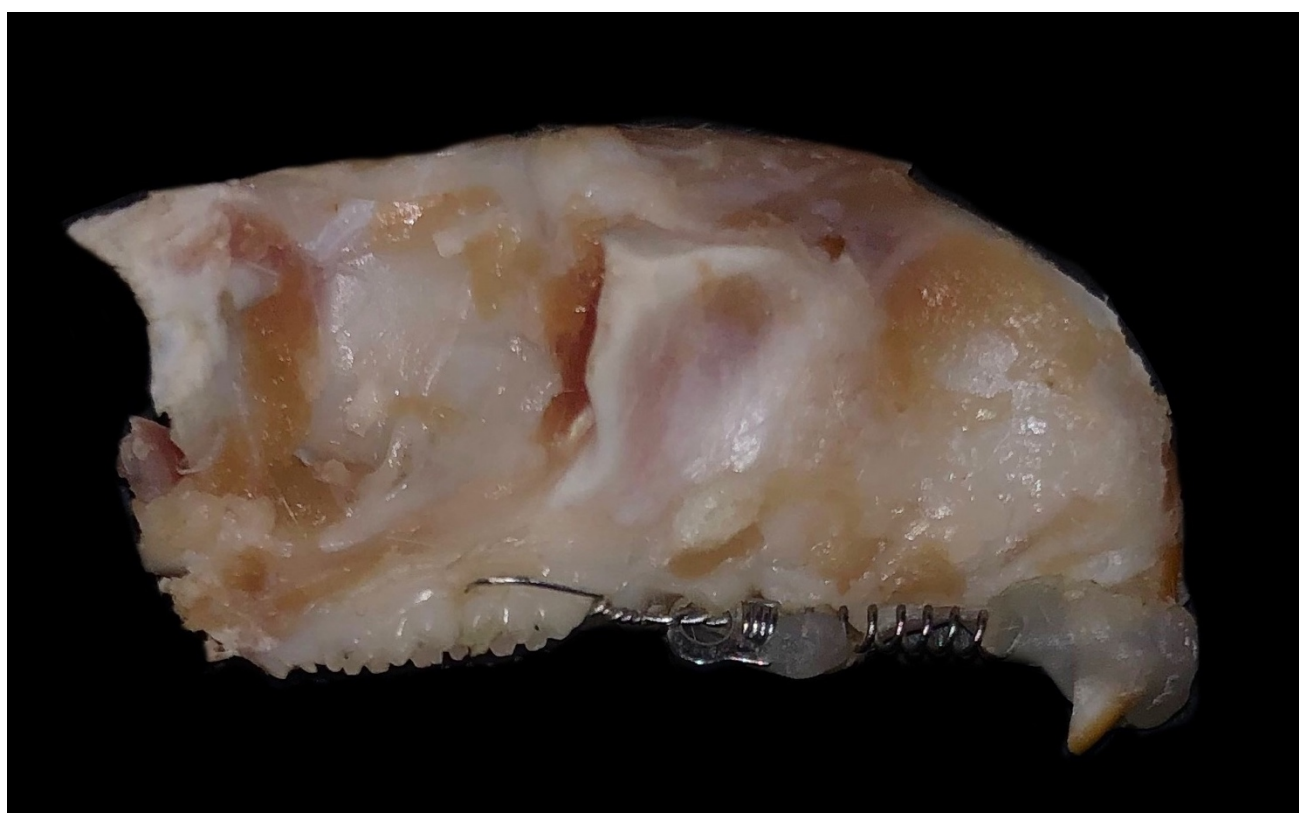


FIGURA 1. Aparelho utilizado para a movimentação dentária induzida.

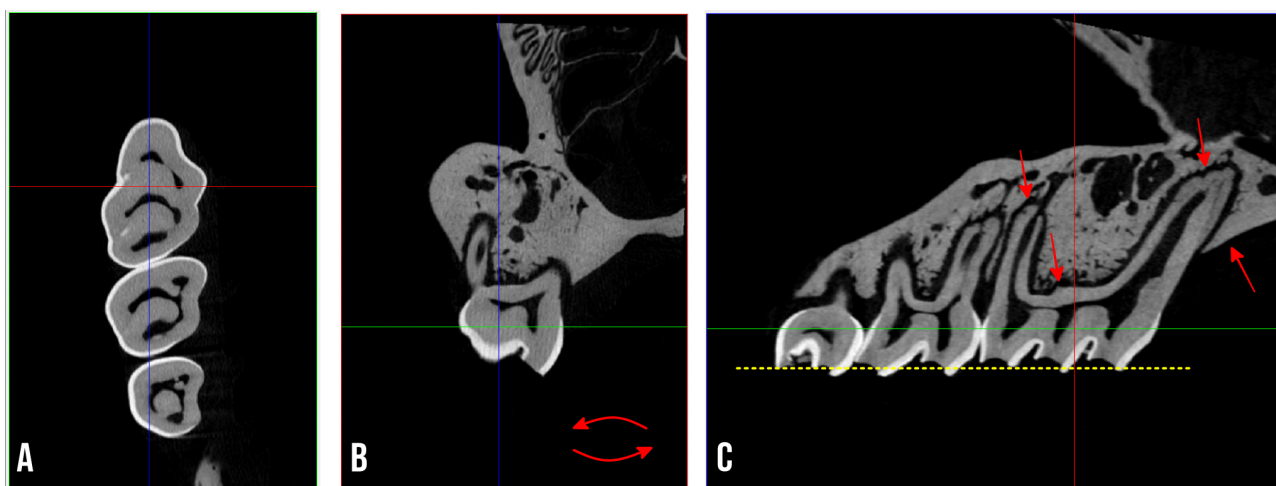


FIGURA 2. Padronização dos cortes pelo software DataViewer: Em **A** ilustração da imagem em vista coronal. Em **B** uma vista axial e **C** uma vista sagital.

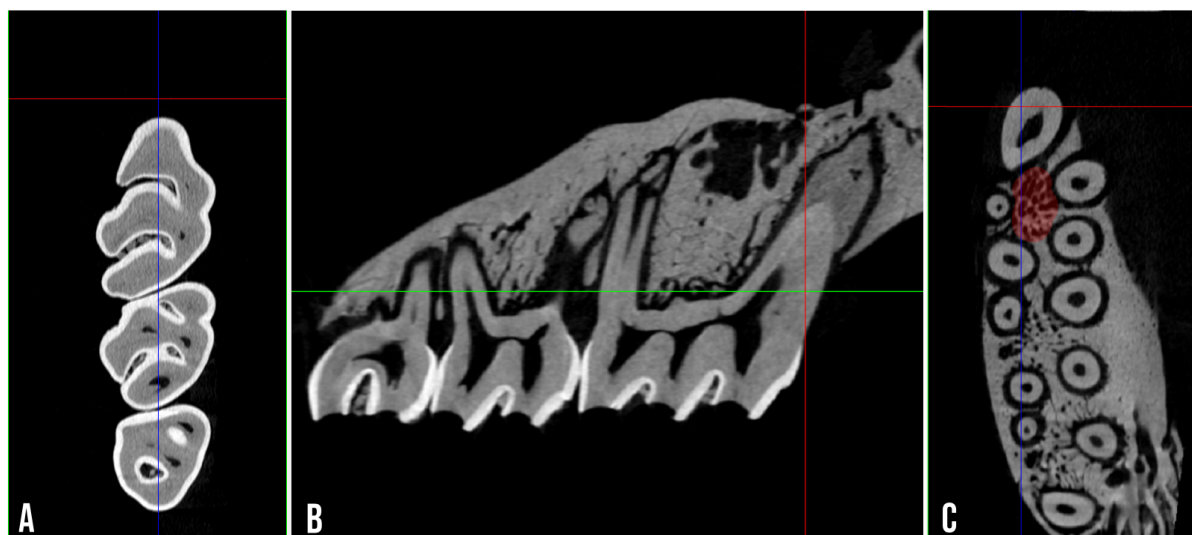


FIGURA 3. Padronização dos cortes pelo software DataViewer: Em **A** a ilustração da porção mais cervical das coroas na vista coronal. Em **B** a ilustração da vista sagital do mesmo corte da porção mais cervical analisada da vista coronal, em **C**.

PARÂMETROS MICROTOMOGRÁFICOS

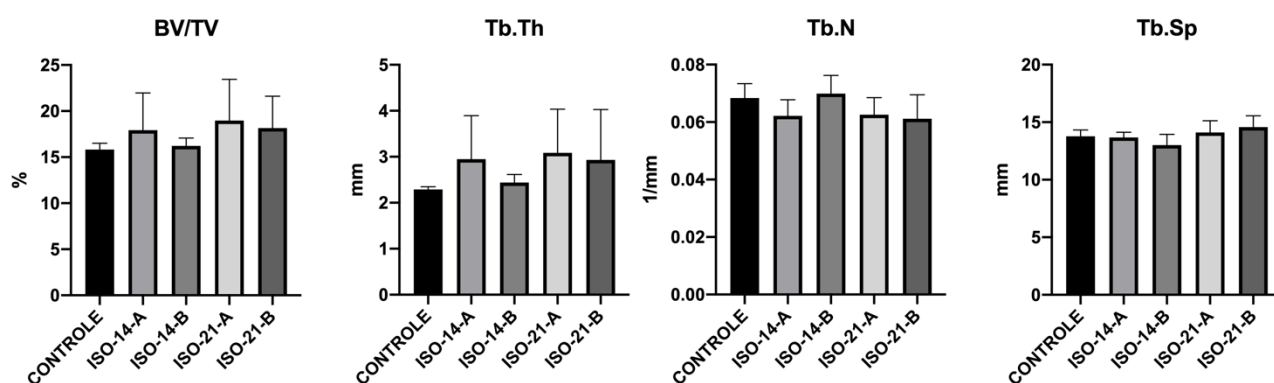


FIGURA 4. Gráfico mostrando o Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp) dos Grupos 1, 4, 5, 6 e 7, respectivamente.

PARÂMETROS MICROTOMOGRÁFICOS

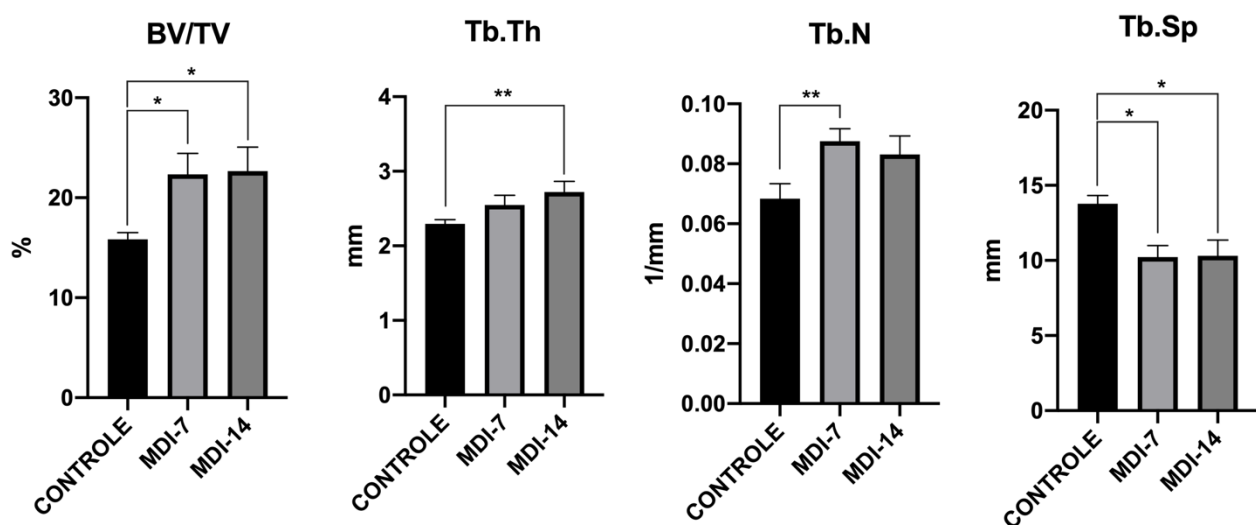


FIGURA 5. Gráfico mostrando o Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp) dos Grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Observe-se que o grupo 2 (MDI-7) e o grupo 3 (MDI-14) tiveram um aumento do BV/TV em comparação ao grupo 1 (Controle) ($P = 0.0327$ e $P = 0.0175$, respectivamente); Grupo 3 (MDI-14) teve um aumento de Tb.Th em comparação ao grupo 1 (Controle) ($P = 0.0027$); Grupo 2 (MDI-7) teve um aumento de Tb.N em comparação ao grupo 1 (Controle) ($P = 0.0089$); Grupo 2 (MDI-7) e o grupo 3 (MDI-14) tiveram uma diminuição do Tb.Sp em comparação ao grupo 1 (Controle) ($P = 0.0216$ e $P = 0.0267$, respectivamente).

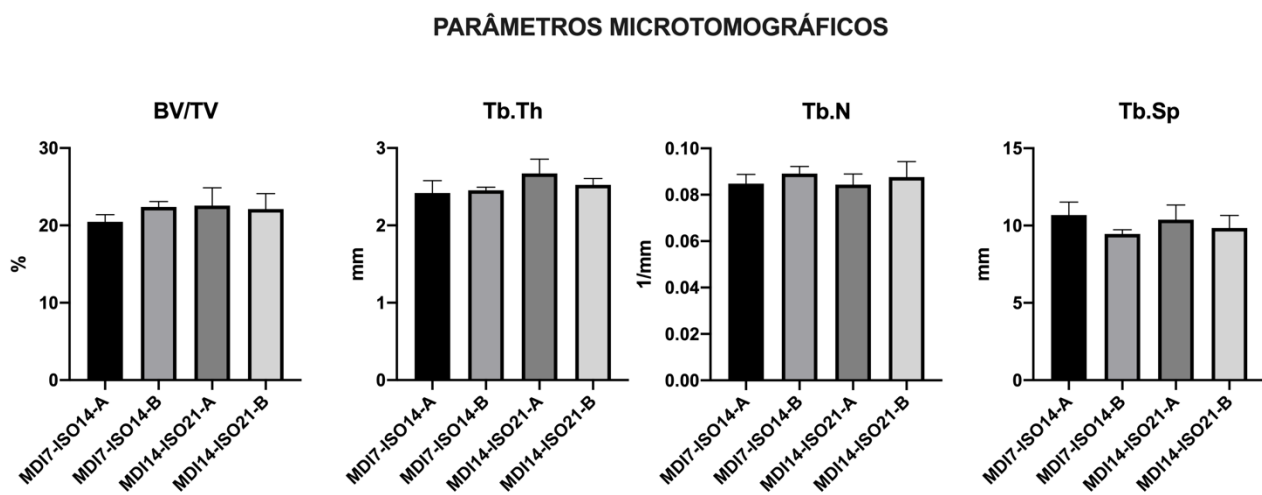


FIGURA 6. Gráfico mostrando o Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp) dos Grupos 8, 9, 10 e 11, respectivamente.

DESLOCAMENTO DENTÁRIO

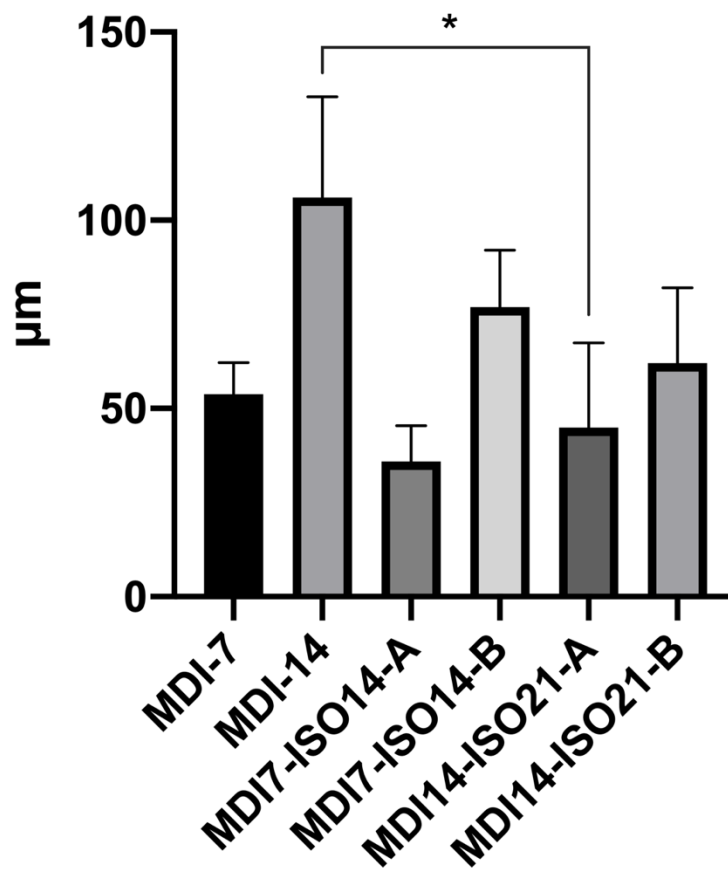


FIGURA 7. Gráfico mostrando a Quantidade de Deslocamento Dentário nos Grupos 2, 3, 8, 9, 10 e 11, respectivamente. Observe-se que o Grupo 10 (MDI14-ISO21-A) teve significamente um menor deslocamento dentário em comparação com o Grupo 3 (MDI-14). $P = 0,0405$.

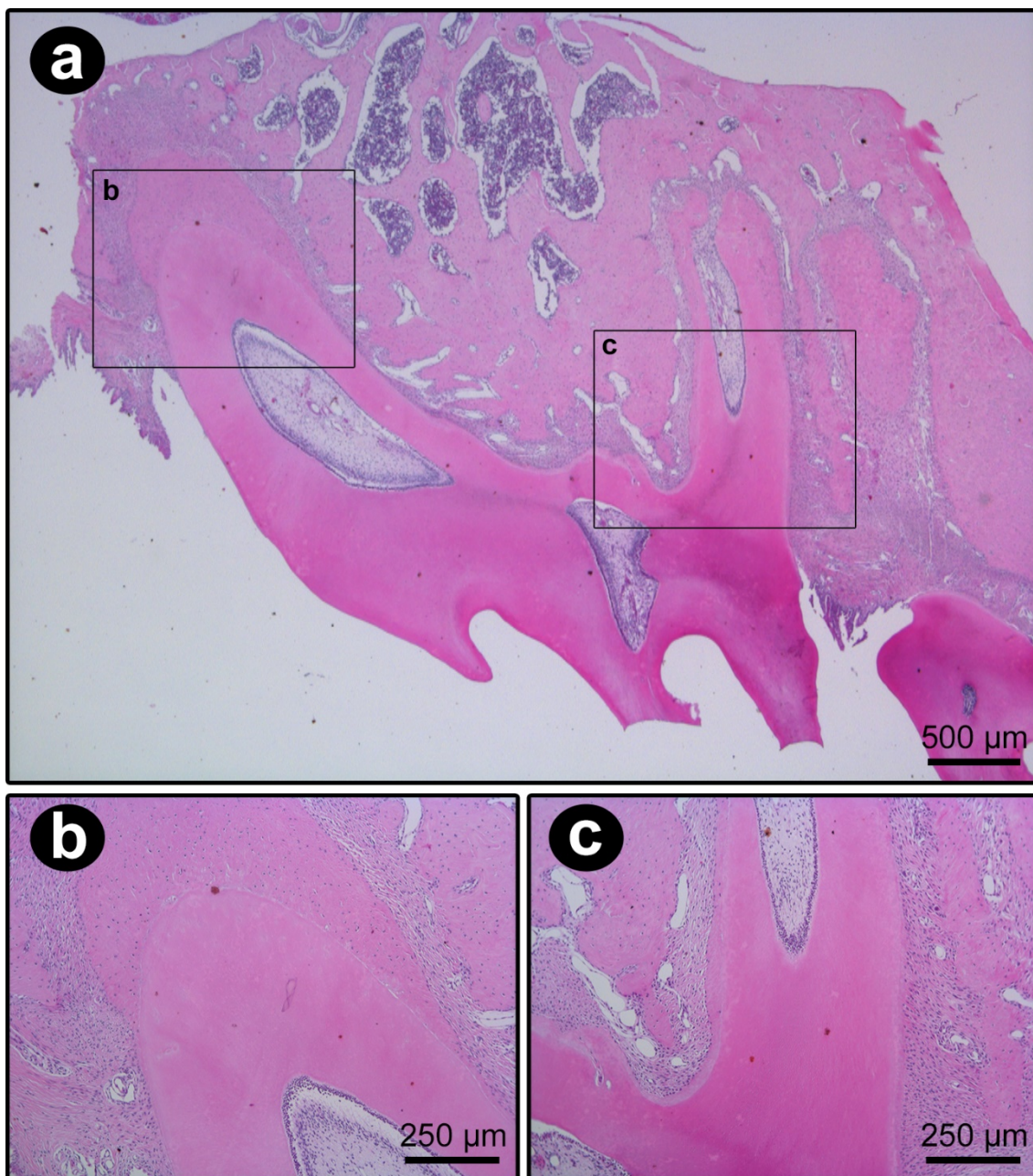


Figura 8: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 1 (controle). Em (a) pode ser observada uma visão panorâmica do primeiro molar superior e em (b) e (c) um maior aumento da raiz mesio-vestibular e da raiz disto-vestibular. Coloração: HE. Aumento original: (a) 2,5x; (b) e (c) 10x. Barras de escala: (a) 500 µm; (b) e (c) 250 µm.

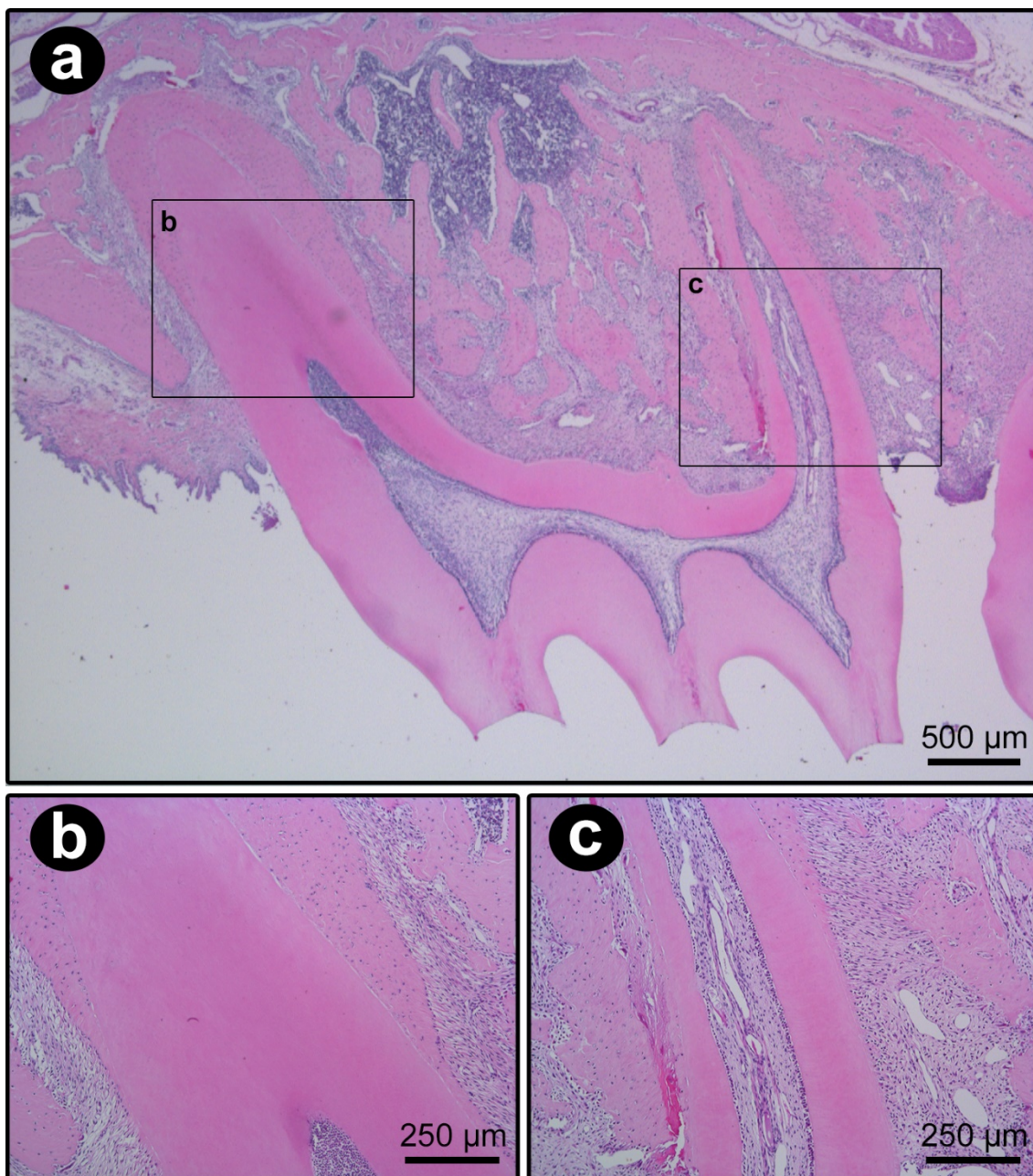


Figura 9: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 2 (MDI-7). Em (a) pode ser observada uma visão panorâmica do primeiro molar superior e em (b) e (c) um maior aumento da raiz mesio-vestibular e da raiz disto-vestibular. Coloração: HE. Aumento original: (a) 2,5x; (b) e (c) 10x. Barras de escala: (a) 500 µm; (b) e (c) 250 µm.

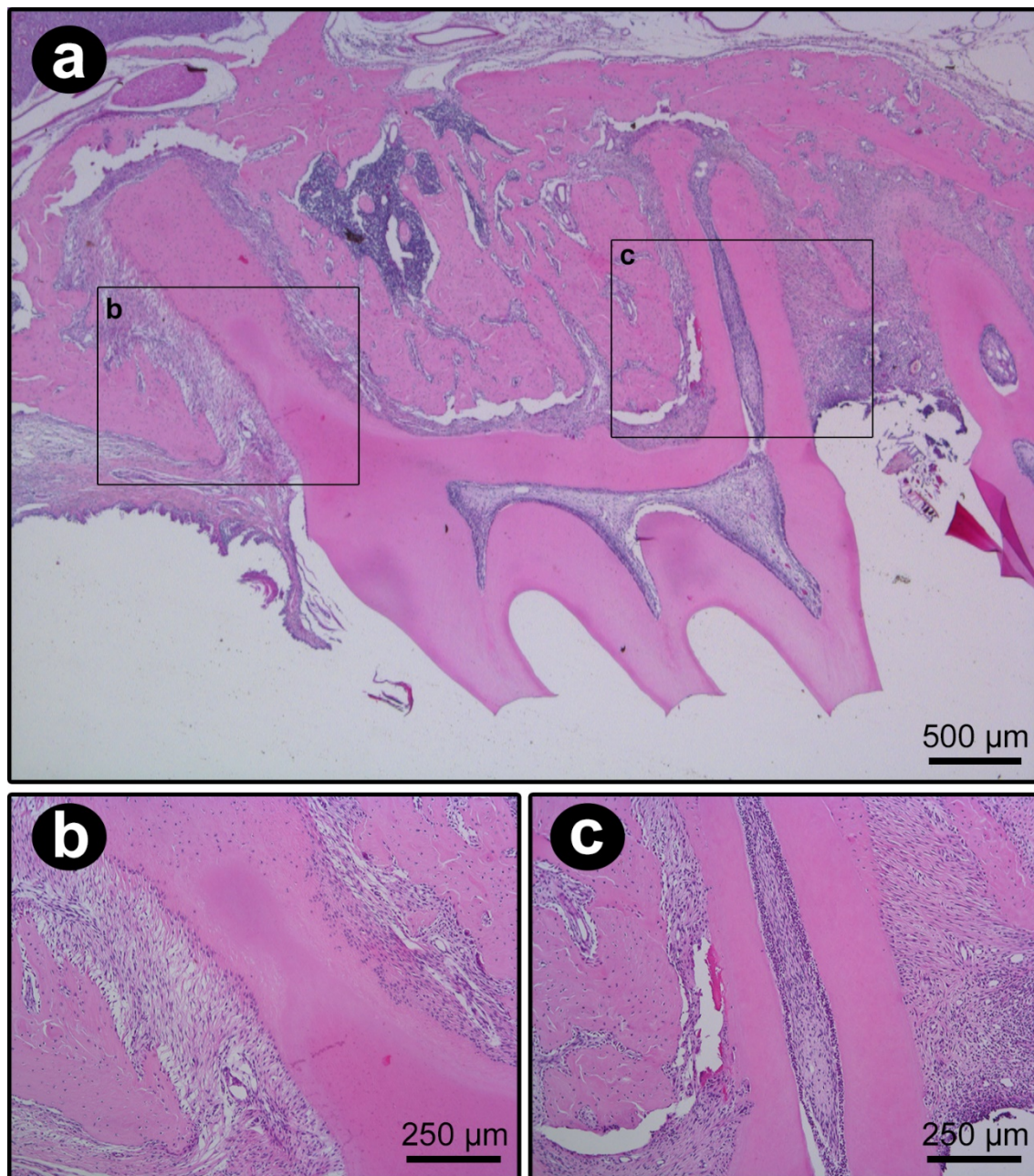


Figura 10: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 3 (MDI-14). Em (a) pode ser observada uma visão panorâmica do primeiro molar superior e em (b) e (c) um maior aumento da raiz mesio-vestibular e da raiz disto-vestibular. Coloração: HE. Aumento original: (a) 2,5x; (b) e (c) 10x. Barras de escala: (a) 500 µm; (b) e (c) 250 µm.

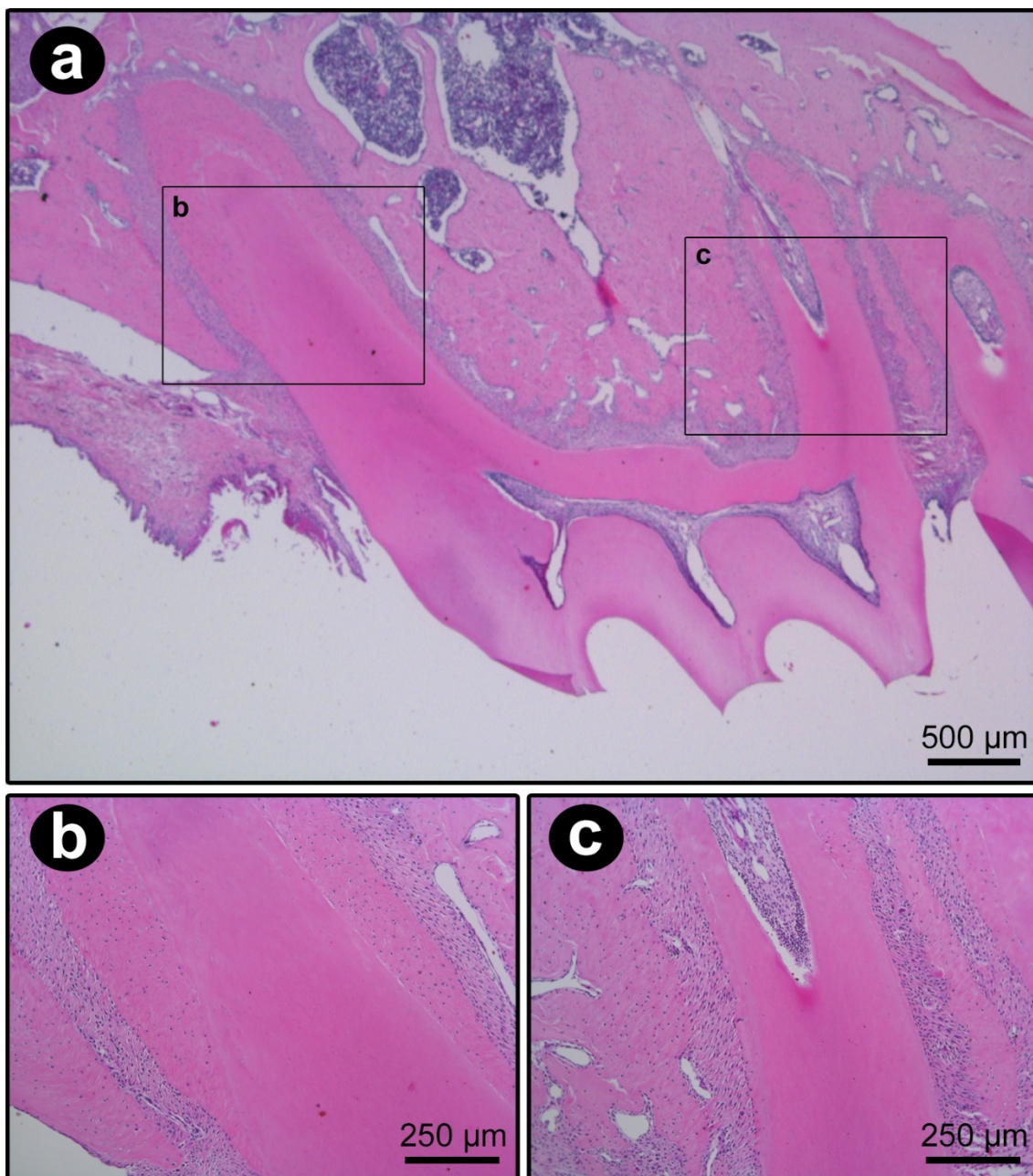


Figura 11: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 4 (ISO14-A). Em (a) pode ser observada uma visão panorâmica do primeiro molar superior e em (b) e (c) um maior aumento da raiz mesio-vestibular e da raiz disto-vestibular. Coloração: HE. Aumento original: (a) 2,5x; (b) e (c) 10x. Barras de escala: (a) 500 µm; (b) e (c) 250 µm.

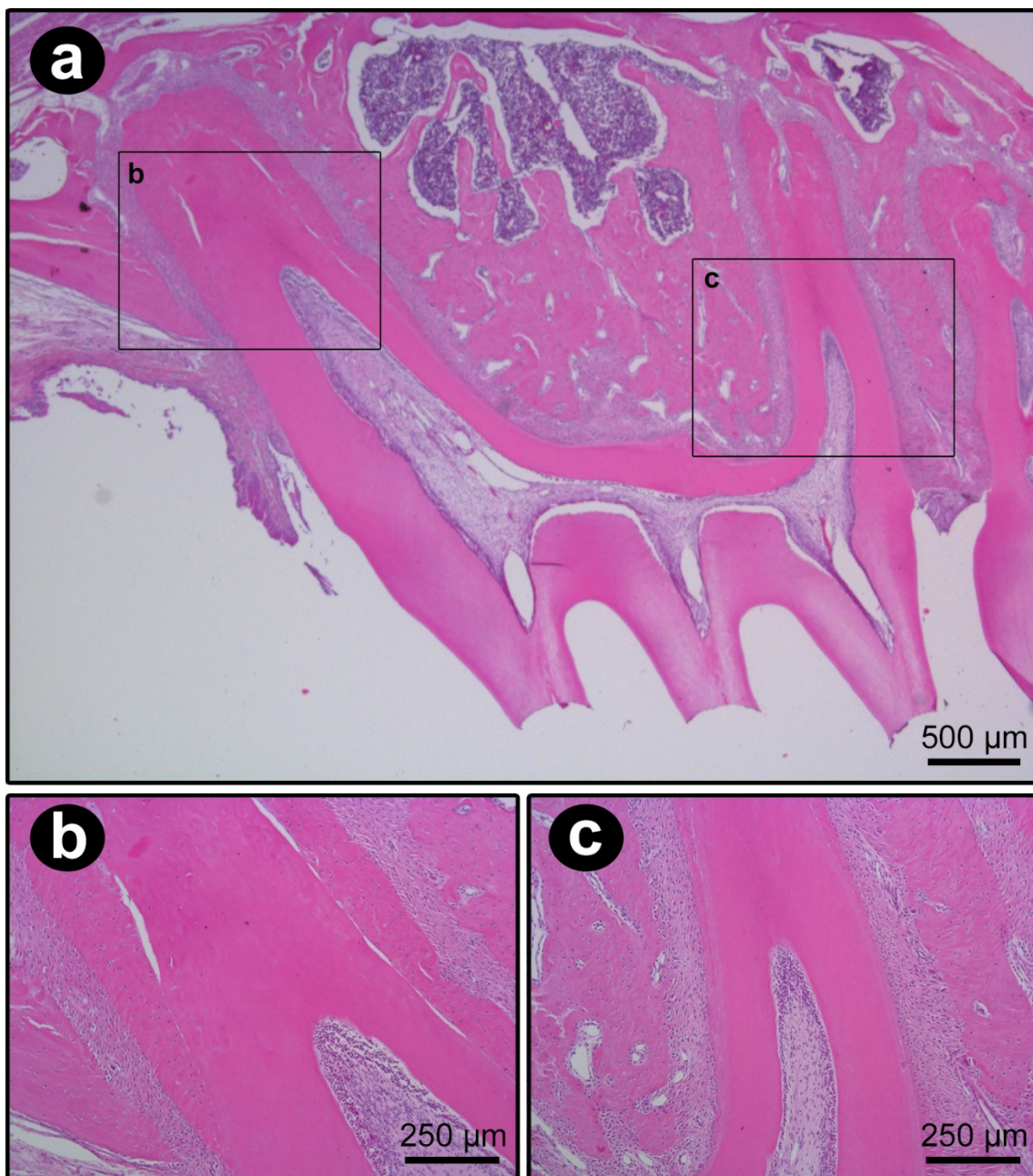


Figura 12: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 5 (ISO14-B). Em (a) pode ser observada uma visão panorâmica do primeiro molar superior e em (b) e (c) um maior aumento da raiz mesio-vestibular e da raiz disto-vestibular. Coloração: HE. Aumento original: (a) 2,5x; (b) e (c) 10x. Barras de escala: (a) 500 µm; (b) e (c) 250 µm.

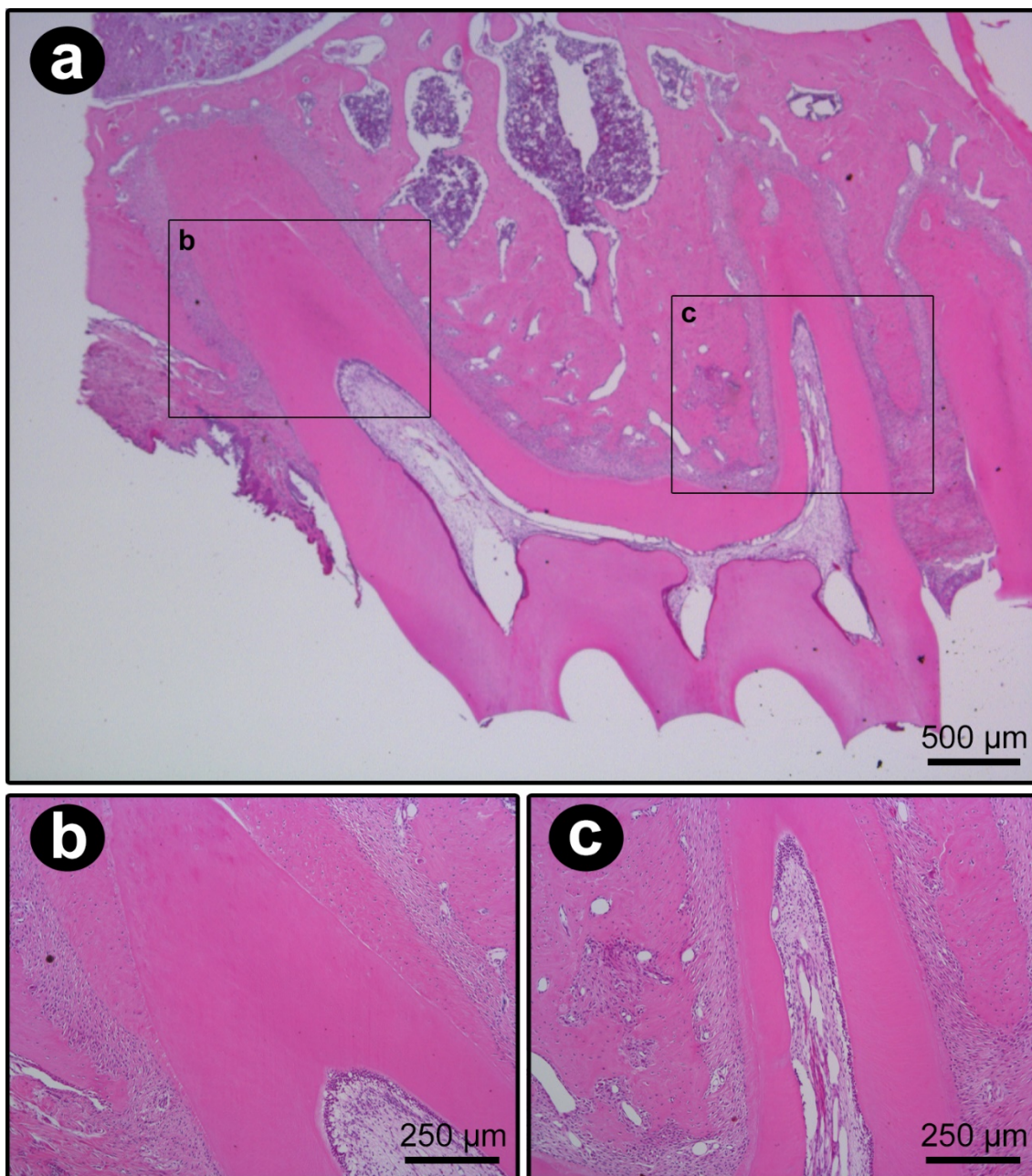


Figura 13: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 6 (ISO21-A). Em (a) pode ser observada uma visão panorâmica do primeiro molar superior e em (b) e (c) um maior aumento da raiz mesio-vestibular e da raiz disto-vestibular. Coloração: HE. Aumento original: (a) 2,5x; (b) e (c) 10x. Barras de escala: (a) 500 µm; (b) e (c) 250 µm.

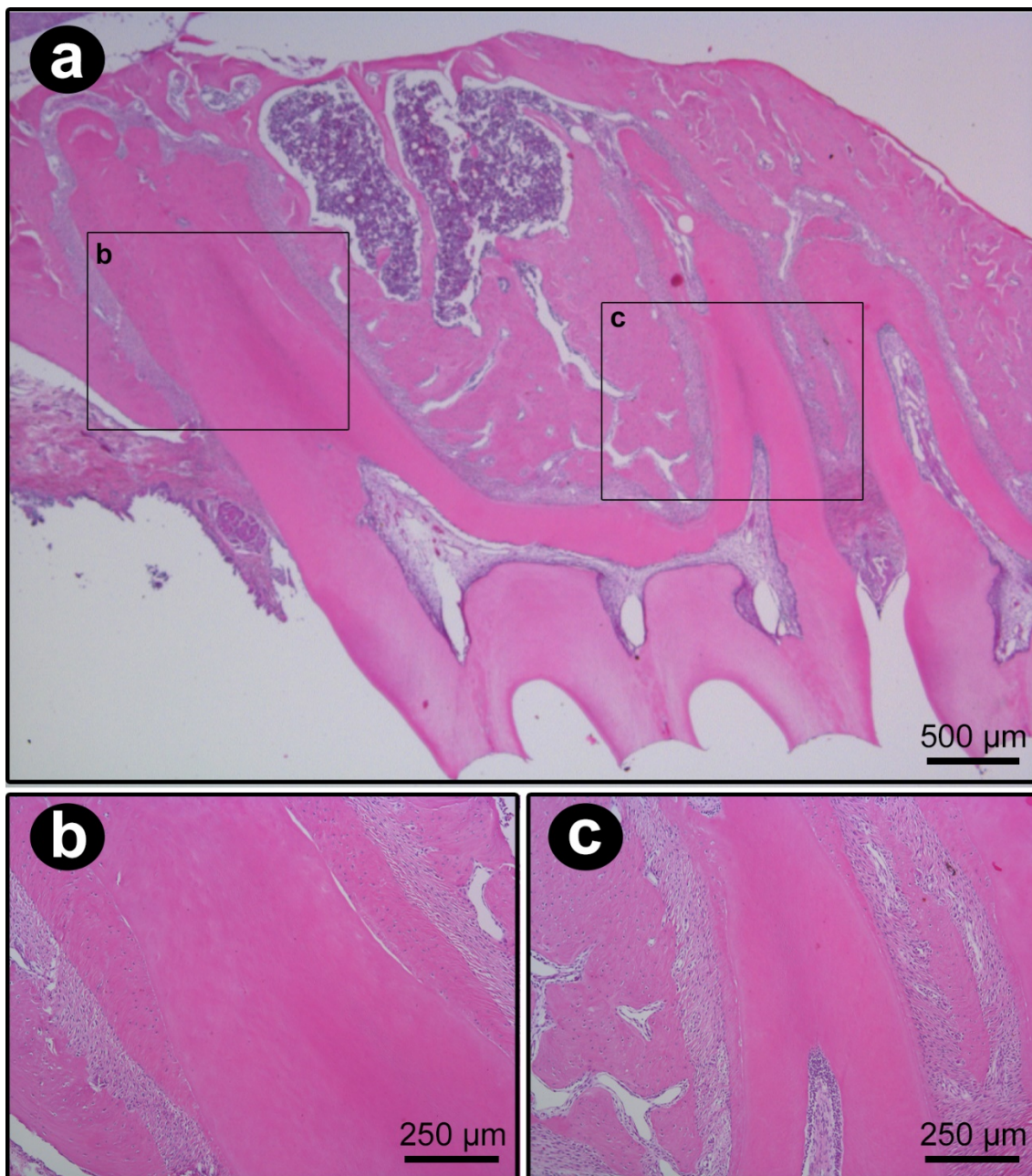


Figura 14: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 7 (ISO21-B). Em (a) pode ser observada uma visão panorâmica do primeiro molar superior e em (b) e (c) um maior aumento da raiz mesio-vestibular e da raiz disto-vestibular. Coloração: HE. Aumento original: (a) 2,5x; (b) e (c) 10x. Barras de escala: (a) 500 µm; (b) e (c) 250 µm.

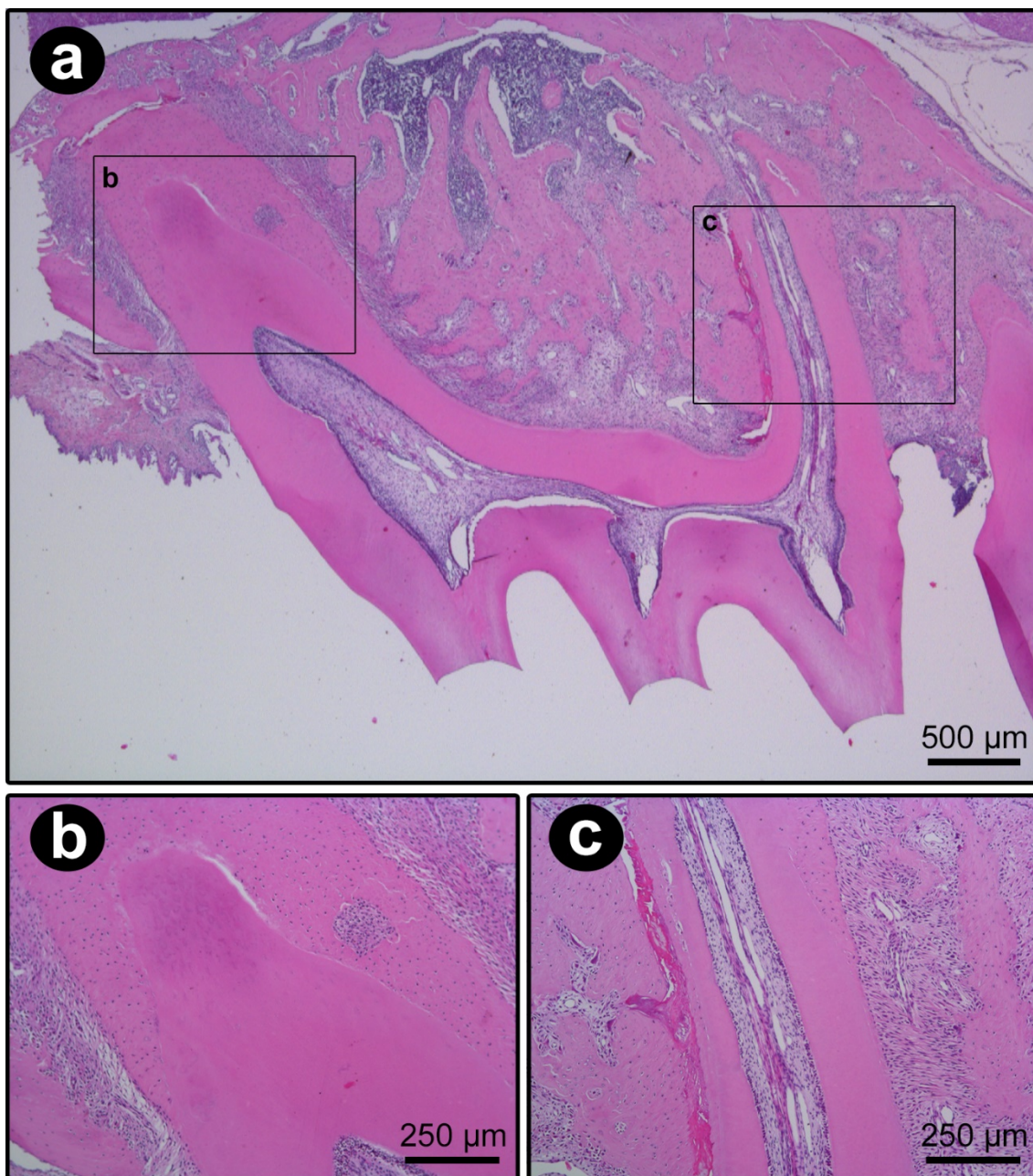


Figura 15: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 8 (MDI7-ISO14-A). Em (a) pode ser observada uma visão panorâmica do primeiro molar superior e em (b) e (c) um maior aumento da raiz mesio-vestibular e da raiz disto-vestibular. Coloração: HE. Aumento original: (a) 2,5x; (b) e (c) 10x. Barras de escala: (a) 500 µm; (b) e (c) 250 µm.

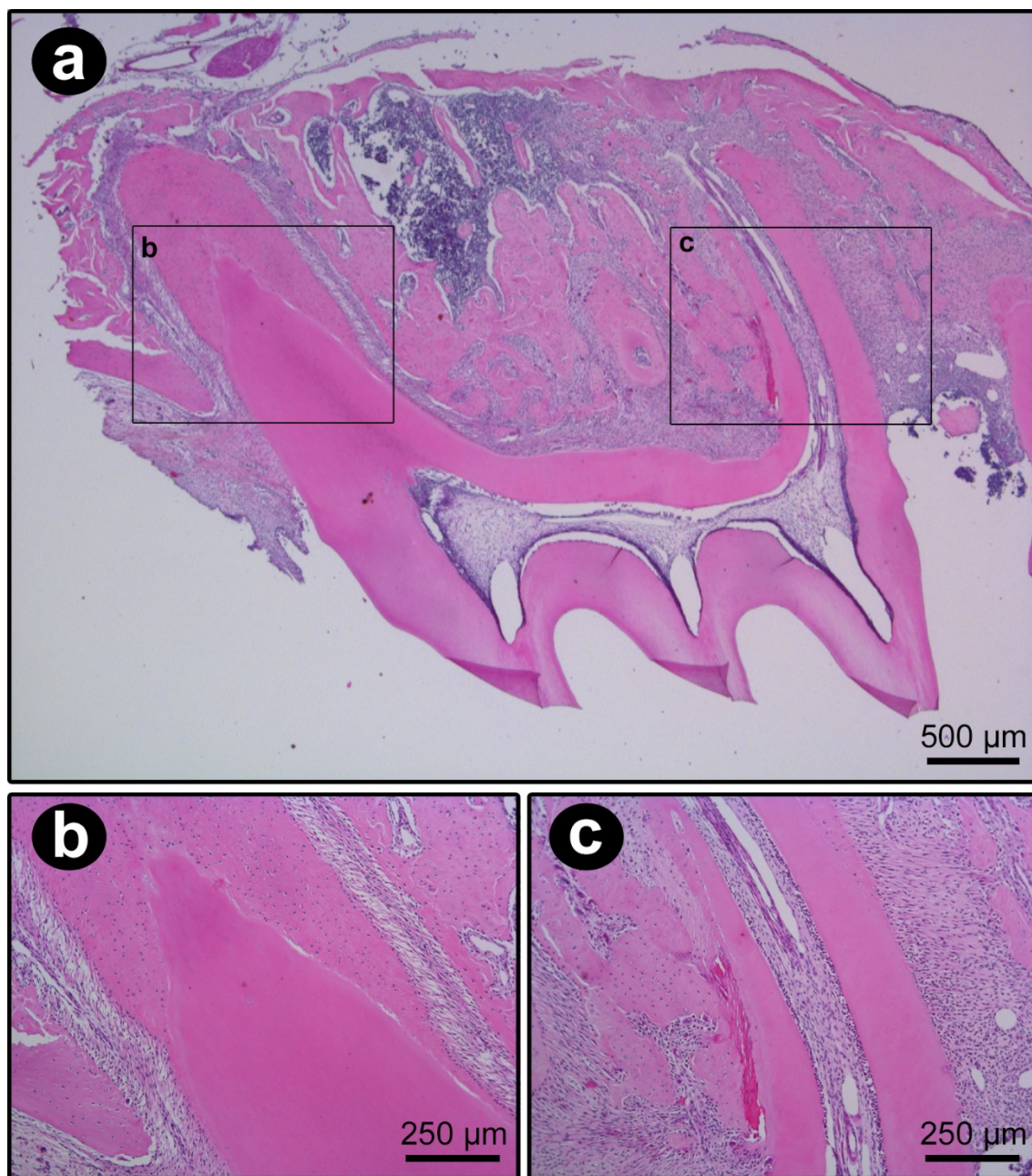


Figura 16: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 9 (MDI7-ISO14-B). Em (a) pode ser observada uma visão panorâmica do primeiro molar superior e em (b) e (c) um maior aumento da raiz mesio-vestibular e da raiz disto-vestibular. Coloração: HE. Aumento original: (a) 2,5x; (b) e (c) 10x. Barras de escala: (a) 500 µm; (b) e (c) 250 µm.

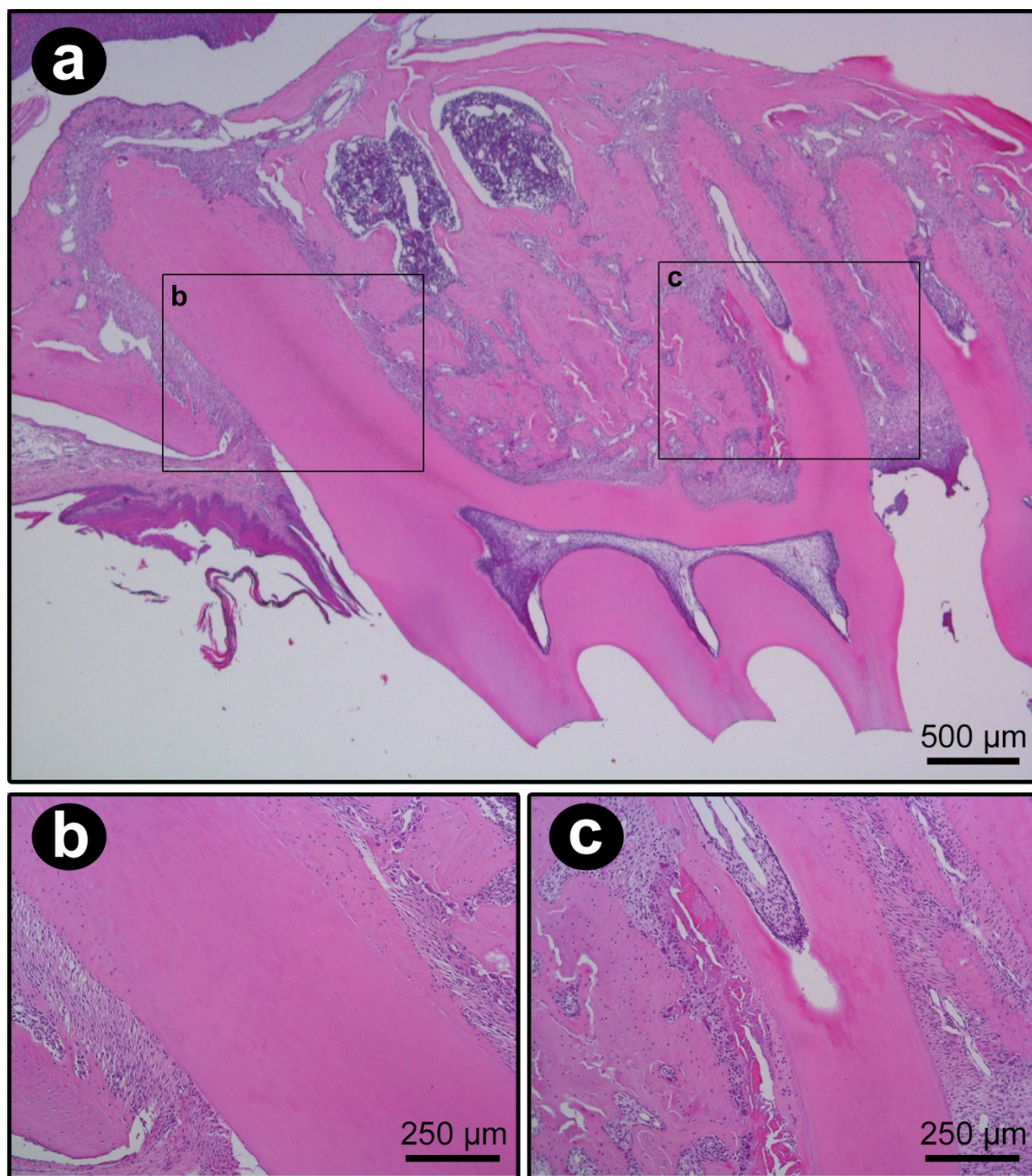


Figura 17: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 10 (MDI-14-ISO21-A). Em (a) pode ser observada uma visão panorâmica do primeiro molar superior e em (b) e (c) um maior aumento da raiz mesio-vestibular e da raiz disto-vestibular. Coloração: HE. Aumento original: (a) 2,5x; (b) e (c) 10x. Barras de escala: (a) 500 µm; (b) e (c) 250 µm.

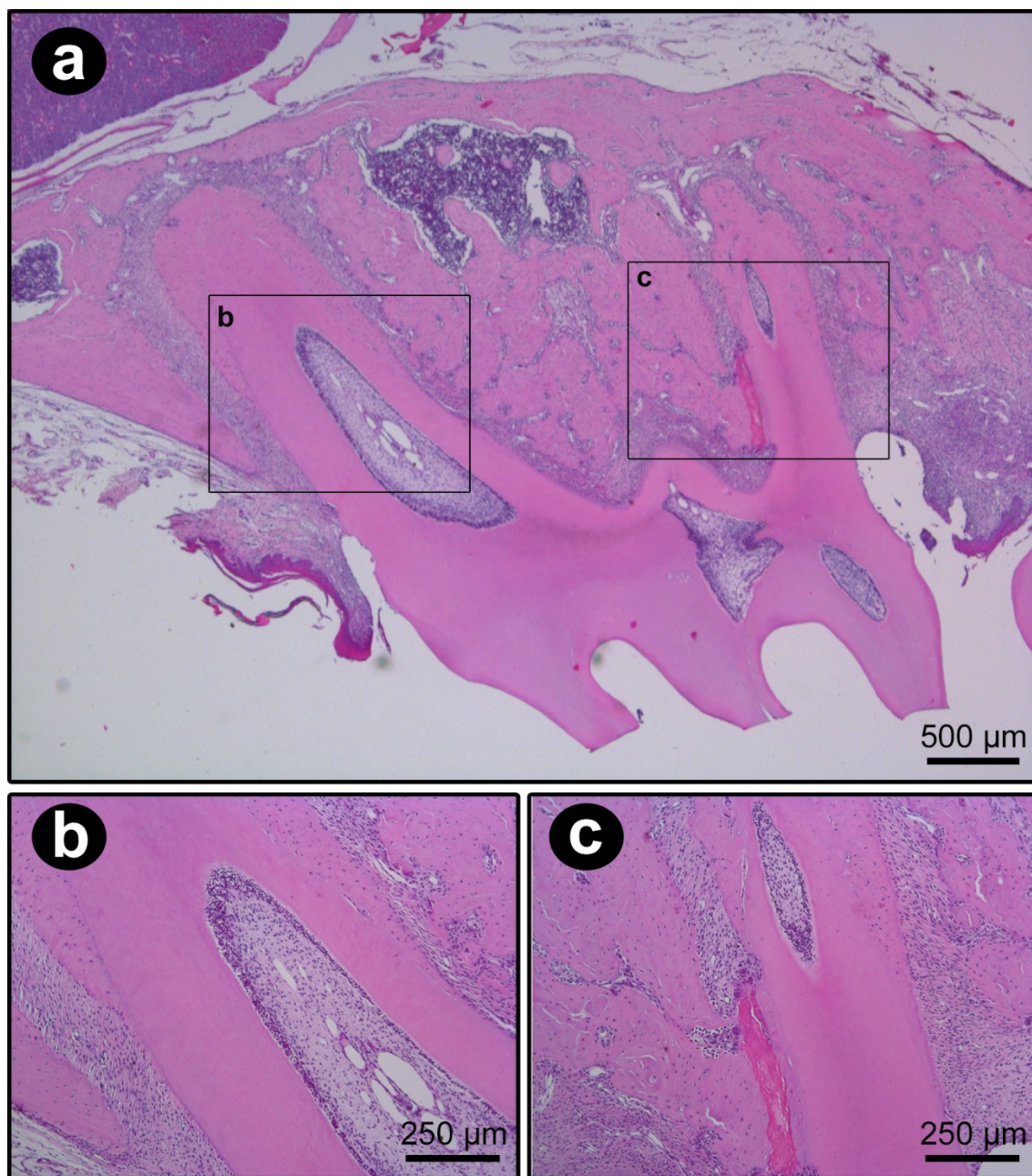


Figura 18: Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do primeiro molar superior e dos tecidos periodontais de suporte no grupo 11 (MDI-14-ISO21-B). Em (a) pode ser observada uma visão panorâmica do primeiro molar superior e em (b) e (c) um maior aumento da raiz mesio-vestibular e da raiz disto-vestibular. Coloração: HE. Aumento original: (a) 2,5x; (b) e (c) 10x. Barras de escala: (a) 500 µm; (b) e (c) 250 µm.

TABELAS

TABELA 1 - Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp) dos Grupos 1, 4, 5, 6 e 7, respectivamente.

	GRUPOS				
	CONTROLE	ISO14-A	ISO14-B	ISO21-A	ISO21-B
BV/TV (%)	15.83 ± 0.6843	17.92 ± 4.051	16.21 ± 0.8499	18.96 ± 4.498	18.15 ± 3.458
Tb.Th (mm)	2.291 ± 0.05735	2.948 ± 0.9467	2.434 ± 0.1774	3.084 ± 0.9503	2.930 ± 1.098
Tb.N (1/mm)	0.06834 ± 0.0050	0.06216 ± 0.0055	0.06990 ± 0.0063	0.06256 ± 0.0059	0.06116 ± 0.0083
Tb.Sp (mm)	13.77 ± 0.5575	13.68 ± 0.4449	13.02 ± 0.9189	14.11 ± 1.013	14.58 ± 0.9793

TABELA 2 - Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp) dos Grupos 1, 2 e 3, respectivamente.

	GRUPOS		
	CONTROLE	MDI-7	MDI-14
BV/TV (%)	15.83 ± 0.6843	22.35 ± 2.095	22.66 ± 2.415
Tb.Th (mm)	2.291 ± 0.05735	2.549 ± 0.1280	2.721 ± 0.1446
Tb.N (1/mm)	0.06834 ± 0.005	0.08754 ± 0.004	0.08316 ± 0.006
Tb.Sp (mm)	13.77 ± 0.5575	10.23 ± 0.7573	10.31 ± 1.043

TABELA 3 - Volume Trabecular (BV/TV), Espessura Trabecular (Tb.Th), Número de Trabéculas (Tb.N) e Separação Trabecular (Tb.Sp) dos Grupos 8, 9, 10 e 11, respectivamente.

	GRUPOS			
	MDI7-ISO14-A	MDI7-ISO14-B	MDI14-ISO21-A	MDI14-ISO21-B
BV/TV (%)	20.46 ± 0.9131	22.39 ± 0.7087	22.55 ± 2.316	22.12 ± 1.990
Tb.Th (mm)	2.418 ± 0.1600	2.453 ± 0.04103	2.671 ± 0.1854	2.523 ± 0.08242
Tb.N (1/mm)	0.08478 ± 0.004	0.08912 ± 0.003	0.08434 ± 0.004	0.008762 ± 0.006
Tb.Sp (mm)	10.68 ± 0.8367	9.458 ± 0.2686	10.39 ± 0.9465	9.844 ± 0.8079

TABELA 4 - Quantidade de Deslocamento Dentário nos Grupos 2, 3, 8, 9, 10 e 11, respectivamente.

	GRUPOS					
	MDI7	MDI14	MDI7-ISO14-A	MDI7-ISO14-B	MDI14-ISO21-A	MDI14-ISO21-B
µm	35.97 ± 9.509	79.94 ± 15.13	44.97 ± 22.51	62.02 ± 20.10	53.82 ± 8.294	104.0 ± 29.05

ANEXOS

ANEXO A – Normas do Periódico “American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics”

American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics

General Information

The *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* publishes original research, clinical trials, systematic reviews, and other material related to orthodontics and dentofacial orthopedics. Clinical articles, including Case Reports, are now published in the AJO-DO Clinical Companion

Submitted manuscripts must be original, written in English, and not published or under consideration elsewhere. Manuscripts will be reviewed by the editor and peer reviewers and are subject to editorial revision. Authors should follow the guidelines below.

Statements and opinions expressed in the articles and communications herein are those of the author(s) and not necessarily those of the editor(s) or publisher, and the editor(s) and publisher disclaim any responsibility or liability for such material. Neither the editor(s) nor the publisher guarantees, warrants, or endorses any product or service advertised in this publication; neither do they guarantee any claim made by the manufacturer of any product or service. Each reader must determine whether to act on the information in this publication, and neither the Journal nor its sponsoring organizations shall be liable for any injury due to the publication of erroneous information.

Electronic manuscript submission and review

The American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics uses Editorial Manager (EM), an online manuscript submission and review system.

To submit or review an article, please go to the AJO-DO EM website: <https://www.editorialmanager.com/ajodo/>.

Rolf G. Behrents, Editor-in-Chief

E-mail: behrents@gmail.com

Send other correspondence to:

Stacey Kauffman, Managing Editor

American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics

E-mail: ajodoeditorialoffice@gmail.com

On the cover

To submit a smiling patient photo for use on the cover of the Journal, please send an e-mail to: ajodoeditorialoffice@gmail.com.



Before You Begin

Ethics in publishing

Please see our information on [Ethics in publishing](#).

Studies in humans and animals

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with [The Code of Ethics of the World Medical Association](#) (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the [Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals](#) and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms [sex and gender](#) should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, [EU Directive 2010/63/EU for animal experiments](#), or the National Research Council's [Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#) and the authors should clearly

indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

Informed consent and patient details

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author but copies should not be provided to the journal. Only if specifically requested by the journal in exceptional circumstances (for example if a legal issue arises) the author must provide copies of the consents or evidence that such consents have been obtained. For more information, please review the Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals. Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Conflict of interest

Each author should complete and submit a copy of the International Committee of Medical Journal Editors Form for the Disclosure of Conflicts of Interest, available at <http://www.icmje.org/conflicts-of-interest/>.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To

verify compliance, your article may be checked by [Crossref Similarity Check](#) and other originality or duplicate checking software.

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. [More details and an example.](#)

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original

submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement, it is recommended to state this.

Open access

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's Author Services.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Blinding

The *AJO-DO* uses a blind review process; the identity of the author and the location of the research are concealed from the reviewers, and the identities of the reviewers are concealed from the author. The following submission items are sent to reviewers during the

review process and should not contain any identifying information.

Highlights * Manuscript * Figures * Tables * Other Material

The title page, which should contain complete author information, is not sent to reviewers.

In the manuscript, please pay special attention to Material and Methods and

Acknowledgments sections; wherever author or the author's institution is mentioned, use the "hidden" format in Word to conceal it, or move it to the title page.

Guidelines for Original Articles

Submit Original Articles via EM: <https://www.editorialmanager.com/ajodo/>.

Before you begin, please review the guidelines below.

1. *Title Page*. Put all information pertaining to the authors in the Title Page. Include the title of the article, full name(s) of the author(s), as well as each person's institutional affiliations and positions and email address; identify the corresponding author and include an address, telephone numbers, and an e-mail address. This information will not be available to the reviewers.

2. *Abstract*. Structured abstracts of 250 words or less are preferred. A structured abstract contains the following sections: Introduction, describing the problem; Methods, describing how the study was performed; Results, describing the primary results; and Conclusions, reporting what the authors conclude from the findings and any clinical implications.

3. *Manuscript*. The manuscript should be organized in the following sections: Introduction and literature review, Methods, Results, Discussion, Conclusions, References, and figure captions. Express measurements in metric units, whenever practical. Refer to teeth by their full names. For style questions, refer to the *AMA Manual of Style, 10th edition*. Cite references selectively, and number them in the order cited. Make sure that all references have been mentioned in the text. Follow the format for references in "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (Ann Intern Med 1997;126:36-47); <http://www.icmje.org>. DOI numbers are optional but encouraged. Include the list of references with the manuscript proper. Submit figures and tables separately (see below); do not embed figures in the word processing document.

4. *Figures.* Digital images should be in TIF or EPS format, CMYK or grayscale, at least 5 inches wide and at least 300 pixels per inch (118 pixels per cm). Do not embed images in a word processing program. If published, images could be reduced to 1 column width (about 3 inches), so authors should ensure that figures will remain legible at that scale. For best results, avoid screening, shading, and colored backgrounds; use the simplest patterns available to indicate differences in charts. If a figure has been previously published, the legend (included in the manuscript proper) must give full credit to the original source, and written permission from the original publisher must be included. Be sure you have mentioned each figure, in order, in the text.

5. *Tables.* Tables should be self-explanatory and should supplement, not duplicate, the text. Number them with Roman numerals, in the order they are mentioned in the text. Provide a brief title for each. If a table has been previously published, include a footnote in the table giving full credit to the original source and include written permission for its use from the copyright holder. Submit tables as text-based files (Word is preferred, Excel is accepted) and not as graphic elements. Do not use colors, shading, boldface, or italics in tables. Use a period to indicate the decimal point, and not a comma. Do not submit tables as parts A and B; instead, divide into 2 separate tables. Do not "protect" tables by making them "read-only." The table title should be put above the table and not as a cell in the table. Similarly, table footnotes should be under the table, not table cells.

6. *Model release and permission forms.* Photographs of identifiable persons must be accompanied by a release signed by the person or both living parents or the guardian of minors. Illustrations or tables that have appeared in copyrighted material must be accompanied by written permission for their use from the copyright owner and original author, and the legend must properly credit the source. Permission also must be obtained to use modified tables or figures.

7. *Copyright release.* All authors will be asked to e-sign a copyright release before the article is published. In accordance with the Copyright Act of 1976, which became effective February 1, 1978, all manuscripts must be accompanied by the following written statement, signed by all authors: *"The undersigned author(s) transfers all copyright ownership of the manuscript [insert title of article here] to the American Association of Orthodontists in the event the work is published. The undersigned author(s) warrants that the article is original,*

does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party, is not under consideration by another journal, has not been previously published, and includes any product that may derive from the published journal, whether print or electronic media. I (we) sign for and accept responsibility for releasing this material." Scan the printed [copyright release](#) and submit it via EM.

8. *Use the International Committee of Medical Journal Editors Form for the Disclosure of Conflict of Interest (ICMJE Conflict of Interest Form).* If the manuscript is accepted, the disclosed information will be published with the article. The usual and customary listing of sources of support and institutional affiliations on the title page is proper and does not imply a conflict of interest. Guest editorials, Letters, and Review articles may be rejected if a conflict of interest exists.

9. *Institutional Review Board approval.* For those articles that report on the results of experiments of treatments where patients or animals have been used as the sample, Institutional Review Board (IRB) approval is mandatory. No experimental studies will be sent out for review without an IRB approval accompanying the manuscript submission.

Guidelines for Systematic Reviews

Systematic Reviews and Meta-Analyses must be prepared according to contemporary [PRISMA](#) (Preferred Reporting for Systematic Reviews and Meta-Analyses) standards. The AJO-DO will screen submissions for compliance before beginning the review process. To help authors understand and apply the standards, we have prepared a separate [Guidelines for AJO-DO Systematic Reviews and Meta-Analyses](#). This guide includes links to a [Model Orthodontic Systematic Review](#) and an accompanying [Explanation and Elaboration](#) document. These documents have been prepared in accordance with PRISMA guidelines and the "PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies that Evaluate Health Care Interventions: Explanations and Elaboration" (<http://www.plosmedicine.org/article/info:doi/10.1371/journal.pmed.1000100>).

These guidelines are supplemental to the [Guidelines for Original Articles](#), which describe how to meet general submission requirements, such as figure formats, reference style, required releases, and blinding. However, we have made these guidelines more relevant to

orthodontics and have adapted the reporting template to encourage transparent and pertinent reporting by introducing subheadings corresponding to established PRISMA items.

Further information on reporting of systematic reviews can also be obtained in the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions (<http://www.cochrane-handbook.org>).

Guidelines for Randomized Clinical Trials

Randomized Clinical Trials must meet current CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) requirements. The *AJO-DO* will screen submissions for compliance before beginning the review process. To help authors understand and apply the standards, we have prepared a separate document, Guidelines for AJO-DO Submissions: Randomized Clinical Trials. This document contains links to an Annotated RCT Sample Article and The CONSORT Statement: Application within and adaptations for orthodontic trials.

These guidelines are supplemental to the Guidelines for Original Articles, which describe how to meet general submission requirements, such as figure formats, reference style, required releases, and blinding.

Guidelines for Case Reports

Effective April 1, 2021, please submit new Case Reports to the *AJO-DO Clinical Companion*, <https://www.editorialmanager.com/xaor/>. Author Guidelines are available at the Clinical Companion website.

Clinician's Corner

Effective April 1, 2021, please submit new Clinician's Corner articles to the *AJO-DO Clinical Companion*, <https://www.editorialmanager.com/xaor/>. Author Guidelines are available at the Clinical Companion website.

Digital Orthodontics

Articles published in the Digital Orthodontics section will rely on or feature an emerging technology.

Guidelines for Miscellaneous Submissions

Letters to the Editor and their responses appear in the Readers' Forum section and are encouraged to stimulate healthy discourse between authors and our readers. Letters to the Editor must refer to an article that was published within the previous six (6) months and must be less than 500 words including references. Submit Letters via the Editorial Manager Web site. Submit a signed copyright release with the letter.

Brief, substantiated commentary on subjects of interest to the orthodontic profession is published occasionally as a Special Article. Submit Guest Editorials and Special Articles via the Web site.

Books and monographs (domestic and foreign) will be reviewed, depending upon their interest and value to subscribers.

Checklist for Authors

____ Title page, including full name of each author, academic degrees, institutional affiliation and position, and email address of each author, and full mailing address and contact information for the corresponding author. A Different author may be designated as the contact person for the article after it is published.

____ CRediT Author Statement, formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. [More details and an example](#)

____ Highlights (up to 5 Highlights, written in complete sentences, 85 characters each, including spaces).

____ Abstract (structured, 250 words; a graphical abstract is optional)

____ Manuscript, including references and figure legends

____ Figures, high resolution and in TIF or EPS format

____ Tables

____ Copyright release statement, signed by all authors

____ Photographic consent statement(s)

____ ICMJE Conflict of interest statement for each author

____ Permissions to reproduce previously published material

____ Permission to reproduce proprietary images (including screenshots that include a company logo)



Preparation

Double anonymized review

This journal uses double anonymized review, which means the identities of the authors are concealed from the reviewers, and vice versa. More information is available on our website. To facilitate this, please include the following separately:

Title page (with author details): This should include the title, authors' names, affiliations, acknowledgements and any Declaration of Interest statement, and a complete address for the corresponding author including an e-mail address.

Anonymized manuscript (no author details): The main body of the paper (including the references, figures, tables and any acknowledgements) should not include any identifying information, such as the authors' names or affiliations.

Article structure

Introduction

Provide an adequate background so readers can understand the nature of the problem and its significance. State the objectives of the work. Cite literature selectively, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and Methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. If methods have already been published, indicate by a reference citation and describe only the relevant modifications. Include manufacturer information (company name and location) for any commercial product mentioned. Report your power analysis and ethics approval, as appropriate.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

Explain your findings and explore their significance. Compare and contrast your results with other relevant studies. Mention the limitations of your study, and discuss the implications of the findings for future research and for clinical practice. Do not repeat information given in other parts of the manuscript.

Conclusions

Write a short Conclusions section that can stand alone. If possible, refer back to the goals or objectives of the research.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the

article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract

A structured abstract using the headings Introduction, Methods, Results, and Conclusions is required for Original Article, Systematic Review, Randomized Controlled Trial, and Techno Bytes. An unstructured abstract is acceptable for Case Report and Clinician's Corner.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

Authors can make use of Elsevier's [Illustration Services](#) to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Acknowledgments

Collate acknowledgments in a separate section at the end of the article before the references; do not include them on the title page, as a footnote to the title page, or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (eg, providing help with language or writing assistance, or proofreading the article).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Artwork

Image manipulation

Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;

- Submit graphics that are disproportionately large for the content.
- Embed your images in the Word document.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF) or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) in addition to color reproduction in print. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text (Word) and not as images. Upload tables separately, together in one file if the tables are small, or as individual files; do not embed tables in the manuscript. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeg W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Preprint references

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, the formal publication should be used as the reference. If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but are not yet formally published, these may be referenced. Preprints should be clearly marked as such, for example by

including the word preprint, or the name of the preprint server, as part of the reference. The preprint DOI should also be provided.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

Reference style

Text: Indicate references by superscript numbers in the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

List: Number the references in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

1. Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *Sci Commun* 2010;16351-9.

Reference to a book:

2. Strunk Jr W, White EB. *The elements of style*. 4th ed. New York: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

3. Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. *Introduction to the electronic age*. New York: E-Publishing Inc; 2009. p. 281-304.

Note shortened form for last page number. e.g., 51-9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to 'Uniform

Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (J Am Med Assoc 1997;**277**:927–34) (see also http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages

you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

Submission Checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)

For any further information please visit our customer support site at <https://service.elsevier.com>.

Permissions

To use information borrowed or adapted from another source, authors must obtain permission from the copyright holder (usually the publisher). This is necessary even if you are the author of the borrowed material. It is essential to begin the process of obtaining permissions early; a delay may require removing the copyrighted material from the article. Give the source of a borrowed table in a footnote to the table; give the source of a borrowed figure in the legend of the figure. The source must also appear in the list of references. Use exact wording required by the copyright holder. For more information about permission issues, contact permissionshelpdesk@elsevier.com or visit <https://www.elsevier.com/about/policies/copyright/permissions>.

Permission is also required for the following images:

- Photos of a product if the product is identified or can reasonably be identified from the photo
- Logos
- Screenshots that involve copyrighted third-party material, whether a reasonably identifiable user interface or any nonincidental material appearing in the screenshot



After Acceptance

Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download the free Adobe Reader, version 9 (or higher). Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site. If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and scan the pages and return via e-mail. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50

days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#).



Author Inquiries

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch. You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

ANEXO B – Certificado do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Efeito do ácido 13-cis-retinóico sobre a movimentação dentária induzida em ratos"**, Processo FOA nº 00462-2020, sob responsabilidade de Alberto Carlos Botazzo Delbem apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 02 de Outubro de 2020.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 30 de outubro de 2022.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 30 de Novembro de 2022.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Effects of 13-cis-retinoic acid on orthodontic tooth movement in rats"**, Protocol FOA nº 00462-2020, under the supervision of Alberto Carlos Botazzo Delbem presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on October 02, 2020.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: October 30, 2022.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: November 30, 2022.

Prof. Associado Guilherme de Paula Nogueira
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua.foa@unesp.br