



FORMULÁRIO PARA RELATÓRIO FINAL

1. Identificação do Projeto

Título do Projeto PIBIC/PAIC

ESTUDO DAS ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS NA REGIÃO DO LIGAMENTO PERIODONTAL EM RATOS WISTAR, APÓS MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA EXPERIMENTAL EM HIPOTIREOIDISMO AGUDO INDUZIDO

Orientador

ROSANY PICCOLOTTO CARVALHO

Aluno

Rômulo Vitoriano Da Costa

2. Informações de Acesso ao Documento

2.1 Este documento é confidencial?

SIM NÃO

2.2 Este trabalho ocasionará registro de patente?

SIM NÃO

2.3 Este trabalho pode ser liberado para reprodução?

SIM NÃO

2.4 Em caso de liberação parcial, quais dados podem ser liberados? Especifique.

3. Introdução

O hipotireoidismo é uma doença sistêmica que ocorre devido à diminuição da ação dos hormônios tireoidianos ocasionando um déficit metabólico. As características mais comuns dessa doença incluem sintomas como letargia, edema facial, pele seca, baixa reposição óssea, fraqueza, bradicardia, hipotermia, constipação e fadiga.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



UFAM

Ausielloetal.(2009) afirma que no Brasil a taxa da incidência do hipotireoidismo, em homens varia de 0,7 a 3/100.000 e em mulheres de 0,8 a 10,9/100.000 habitantes.

Regeziet al.(2013) afirma que esse quadro pode resultar de inúmeros fatores, que podem incluir defeitos congênitos, bócio por deficiência de iodo tireoidite autoimune (de Hashimoto), doenças hipofisárias e hipotalâmicas, e também causas idiopáticas. Ausielloet al.(2009) classifica a doença em primária, quando há alguma disfunção intrínseca da tireoide que interrompe a produção de hormônios. E em secundária, que é provocada por distúrbios que comprometem o controle hipotalâmico e hipofisário normal da tireoide.

Os dentes, o periodonto, e os processos alveolares são diretamente influenciados pelos hormônios que controlam a fisiologia óssea, e os hormônios mais atuantes no metabolismo ósseo são segundo Nanci (2008) e Kierszenbaum (2011): a Calcitonina, o Paratormônio (PTH), 1,25-diidroxitiramina D, estrogênio e glicocorticoides, que agem de forma direta, e a Triiodotironina (T3) que interfere nos ossos de forma indireta, pois os hormônios tireoidianos influenciam o metabolismo do organismo em geral, segundo Nanci (2008).

Como o hipotireoidismo causa alterações ósseas como osteoporose, processos cicatriciais ósseos lentos, retardo no desenvolvimento de ossos e dentes. É esperado que o hipotireoidismo possa interferir de algum modo em tratamentos ortodônticos, já que geram um estresse biomecânico que estimula o organismo a reabsorver e regenerar tecido ósseo, dente, cimento e ligamento periodontal (remodelação periodontal) segundo Graber et al. (2011).

Este estudo tem por objetivo verificar os efeitos do hipotireoidismo no decorrer de um tratamento ortodôntico, que interfere diretamente na fisiologia óssea e bucal, tendo em vista que não há muitos estudos que associem disfunções dos hormônios tireoidianos sobre a remodelação periodontal promovida pelos tratamentos ortodônticos. O estudo fará uma simulação em animais, cujos organismos possuem um sistema estomatognático similar ao humano, de um tratamento ortodôntico sendo realizado enquanto uma disfunção fisiológica específica é induzida, neste caso é o hipotireoidismo agudo.



UFAM

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



4. Objetivos

4.1. Objetivo Geral

- Verificar se a movimentação ortodôntica em ratos com hipotireoidismo agudo induzido por bloqueadores da glândula tireoide interfere na remodelação periodontal.

4.2 Objetivos específicos

- Demonstrar experimentalmente se patologias hipotireoideanas tem o potencial de interferir em tratamentos ortodônticos.
- Aplicar um aparelho ortodôntico adaptado aos ratos controles e ratos induzidos a hipotireoidismo experimental.
- Analisar histologicamente o osso alveolar, formado em áreas de estresse experimental durante a movimentação e comparar os resultados dos grupos teste e controle

5 Metodologia

Foram utilizados 16 ratos adultos da raça Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), obtidos do biotério da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). O uso dos ratos Wistar como animal experimental foi baseado nas semelhanças histofisiológicas entre o sistema estomatognático murino e humano levantadas por Venturi (2006) e Treuting (2012). Os animais foram acondicionados em gaiolas, contendo cada uma, de 3 a 6 animais. Manteve-se o ambiente com controle de iluminação (12 horas de escuro e 12 horas de luz), temperatura de 25°C e umidade de 20 a 25%. O hipotireoidismo agudo induzido se deu pela administração de metimazol 5mg/100 ml na água de bebida à vontade como feita por Venturi (2006). O acesso à água será *ad libidum*. As gaiolas deverão ser sempre limpas e arejadas. A alimentação dos ratos será uma ração que será fornecida *ad libidum*. Não foi necessária nenhuma trituração da ração, pois esta não se mostrou capaz de quebrar os aparelhos durante a fase experimental. Os ratos serão



continuamente pesados, para verificar se houve perda ou ganho de massa corporal durante toda a fase experimental (por causa da ação da depleção da tiroxina).

5.1. Grupos experimentais

Foram utilizados 4 grupos experimentais, sendo necessário um período de 9 dias para a movimentação ortodôntica. A instalação do aparelho ortodôntico exerceu força sobre o primeiro molar maxilar direito. O primeiro molar maxilar esquerdo serviu como um controle dentro do mesmo animal.

a) Grupo controle (Ctrl) $n = 4$

Neste grupo os animais não receberam inibidor da glândula tireoide e também não passaram por procedimento cirúrgico para inserção do aparelho ortodôntico.

b) Grupo Hipotireoidismo (Hp) $n = 4$

Os animais foram tratados com inibidor da glândula tireoide nos sete dias que antecederam o período experimental, período este necessário até que os efeitos de depleção hormonal pudessem ser observados segundo Venturi (2006), contudo, o tratamento continuou até o término do experimento. Não foi feito nenhum procedimento cirúrgico para inserção do aparelho ortodôntico.

c) Grupo com Aparelho Ortodôntico (Ap) $n = 4$

Os animais deste grupo foram submetidos à instalação de um aparelho ortodôntico que exerceu força sobre o primeiro molar maxilar direito durante 9 dias. O primeiro molar maxilar esquerdo serviu como um controle dentro do mesmo animal.

d) Grupo com Aparelho Ortodôntico e Hipotireoidismo (Hp + Ap) $n = 4$

Neste grupo foram tratados com inibidor da glândula tireoide nos sete dias que antecedem o período da instalação do aparelho ortodôntico que exerceu força sobre o primeiro molar maxilar direito durante 9 dias. O primeiro molar maxilar esquerdo serviu como um controle dentro do mesmo animal. A finalidade foi simular como um tratamento ortodôntico reage em um paciente com um quadro de hipotireoidismo agudo em progressão

5.2. Dosagens hormonais

As amostras de sangue utilizadas na avaliação hormonal dos ratos foram coletadas por decapitação após a imolação com o anestésico. O sangue foi colocado em tubos de



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



UFAM

ensaio para centrífuga com heparina. E posteriormente foram centrifugados por 15 minutos a 2000 rpm e, o plasma será armazenado no biofreezer a -20°C . As dosagens hormonais foram realizadas no plasma pelo método de elisaimunoensaio (ELISA), com o uso de um kit específico (Zivia t4 Elisa, PishtaztebZamanDiagnostics, fabricado no Irã) para a dosagem de T4 (tiroxina). As leituras ocorrerão em leitora de microplacas em espectrofotômetro. Todas as análises serão realizadas segundo instruções do fabricante e padronizadas para a espécie estudada. O principal teste é baseado na técnica de ELISA competitivo. Nesta técnica, os poços são revestidos por certa quantidade de anticorpos anti-T4 anticorpo monoclonal. O tampão de ensaio, o soro da cobaia, e uma quantidade constante do conjugado T4-HRP foi adicionado por micro titulação. Durante a incubação, o T4 e o conjugado concorrem para os locais vinculativos sobre os poços. Os poços então foram completamente lavados para remover todo o T4 não ligado. A solução de TMB-substrato é adicionada e incubada, resultando no desenvolvimento da cor azul. O desenvolvimento da cor é interrompido com a adição da solução de parada, e a absorbância é medida espectrofotometricamente em 450 nm, a intensidade da cor é proporcional à quantidade de enzima presente e inversamente relacionada com T4 não marcado na amostra. Por referência a uma série de normas de T4 analisadas da mesma forma, a concentração de T4 na amostra desconhecida é quantificada e obtiveram-se os dados e protocolos gerados a partir das instruções dadas pelo fabricante do kit específico (PishtaztebZamamnDiagnostics, Teerã, Irã) além da curva padrão construída a partir dos padrões de absorbância dados. Como valor esperado, pode-se estabelecer de acordo com o fabricante do kit, que o valor médio da dosagem hormonal em ratos adultos seja de $8,6 \mu\text{g/dl}$, podendo também variar em uma faixa de $4,7- 12,5 \mu\text{g/dl}$ dentro da normalidade. Tais valores são correspondentes respectivamente aos padrões medidos em $\mu\text{g/dl}$, que foram de 0,6 até 0,347, valores acima de 0,6, indicariam níveis baixos de tiroxina, com conseqüente quadro de depleção tireoideana.



Figura 1 – Amostra de sangue obtido após a imolação da cobaia.



Figura 2 - Soro plasmático obtido após a centrifugação das amostras.

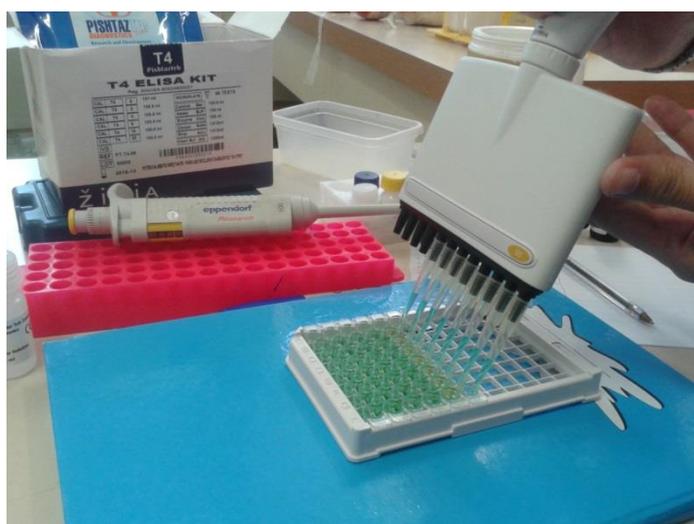


Figura 3 - Inoculação das amostras em uma placa de ELISA.



Figura 4 – Incubação dos Poços receptores.



Figura 5–Análise da Placa de ELISA.

5.3. Anestesia dos Animais

Para os procedimentos de instalação dos aparelhos ortodônticos foi aplicada uma dose única por via intraperitoneal de solução anestésica contendo uma mistura de 75-95 mg/kg de cloridrato de ketamina e 5 mg/kg de cloridrato de xilazina IP, essa composição anestésica foi recomendada nos estudos de Damy et al.(2010) e Schanaider et al.(2004), ambos os medicamentos são de uso veterinário. A anestesia teve um período de duração de 2 a 4 horas.

5.4. Período Pós-operatório



A recuperação dos ratos foi feita em uma sala aquecida, sem ruídos e com iluminação reduzida, de acordo com Damyet al.(2010). Houve um cuidado integral por 48 horas após a cirurgia. A dor foi pesquisada para determinar a aplicação do analgésico. O local da cirurgia foi avaliado com cuidado, sem estressar o animal. No estudo piloto que foi feito não houve nenhuma sintomatologia dolorosa após os procedimentos. Mas caso houvesse dor nas fases do projeto, segundo Damyet al.(2010) poderia ter sido administrado acetoaminofenol (Tylenol®) na concentração de 1-2 mg/ml de água no bebedouro.

5.5. Eutanásia dos Animais

Quando a movimentação ortodôntica experimental foi interrompida, os animais foram imolados com uma dose excessiva de ketamina e xilazina. Este método visou não causar nenhum tipo de sofrimento aos animais utilizados, ele foi usado por Ortiz (2004) em sua pesquisa.

5.6. Indução à Movimentação Ortodôntica

Foi realizada a instalação dos aparelhos ortodônticos experimentais movimentando o primeiro molar superior direito, ancorando nos incisivos superiores, segundo Ortiz (2004) e Heller et al. (1979). A movimentação dentária induzida foi feita através do aparelho ortodôntico experimental por um período de 9 dias nos grupos experimentais Ap e Hp+Ap, pois Fracalossi et al.(2009) percebeu em seu estudo que nesse período de tempo , as reabsorções radiculares ficam mais exuberantes e bem marcadas.

5.7. Montagem e Instalação dos Aparelhos Ortodônticos de Movimentação Dentária Induzida

Foi realizada a instalação dos aparelhos ortodônticos experimentais movimentando o primeiro molar superior direito, ancorando nos incisivos superiores, segundo Ortiz (2004) e Heller et al. (1979). A movimentação dentária induzida foi feita através do aparelho ortodôntico experimental por um período de 9 dias, pois Fracalossi et al.(2009) percebeu em seu estudo que nesse período de tempo , as reabsorções radiculares ficam mais exuberantes e bem marcadas. Aparentemente, nesse estudo efetivamente houve movimentação dentária quando visto de forma superficial na boca do rato quando aberta.

Quando o animal esteve comprovadamente em estado de anestesia, o mesmo foi colocado em decúbito dorsal, posicionado em uma mesa operatória, a partir de Houston (1964) e modificado por Sales (1989) e Ortiz (2004).

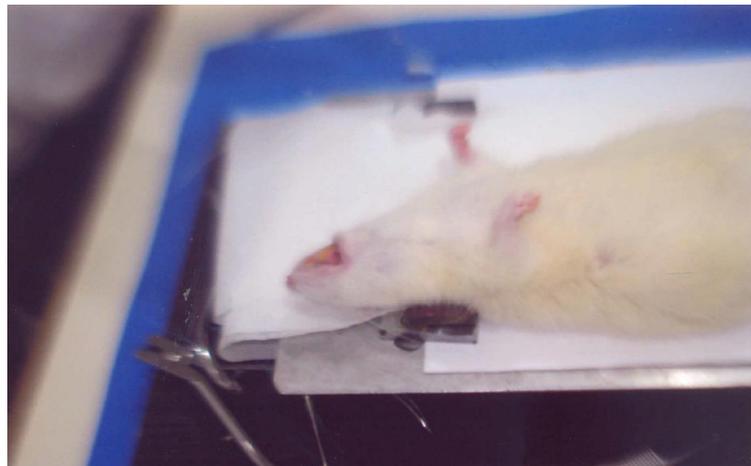


Figura 6- Rato em posição de decúbito dorsal.

A montagem dos aparelhos foi feita de acordo com o método de Ortiz (2004) e Fracalossi et al.(2009), que usa emprego de molas fechadas para inclinar mesialmente o primeiro molar superior direito e possibilitou alterar a posição desse dente no processo alveolar, por meio de fenômenos de reabsorção e de aposição óssea no ligamento periodontal. O primeiro molar superior direito foi escolhido para a movimentação dentária porque não tem rizogênese contínua e suas raízes distam do dente incisivo superior. Para a instalação dos aparelhos ortodônticos experimentais foram necessários os seguintes instrumentais e materiais odontológicos, que foram adaptados a partir dos que foram utilizados por Ortiz (2004), Fracalossi et al.(2009), Heller et al.(1979) e Silveira et al.(2006):

- Um segmento de mola fechada espiralada de aço inoxidável a base de CrNi de 4mm de comprimento com fio de 0,006 X 0,022 polegadas, da marca Morelli®.
- Fio para amarrilho de aço inoxidável a base de CrNi 0,20 mm, da marca Morelli®;
- Um compasso de Willis;
- Um compasso de pontas secas;
- Um porta-agulhaCastroviejo;



UFAM

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



- Uma pinça clínica pequena;
- Um dobrador de amarrilho;
- Uma ponta diamantada de 2200 da KAVO ®;
- Resina Composta da marca 3M ®;
- Um micro-motor de bancada em baixa rotação da marca Beltec ® modelo LB-100 com adaptação para contra-ângulo;
- Um contra-ângulo de baixa rotação da marca Dentscler ®;
- E um refletor odontológico.

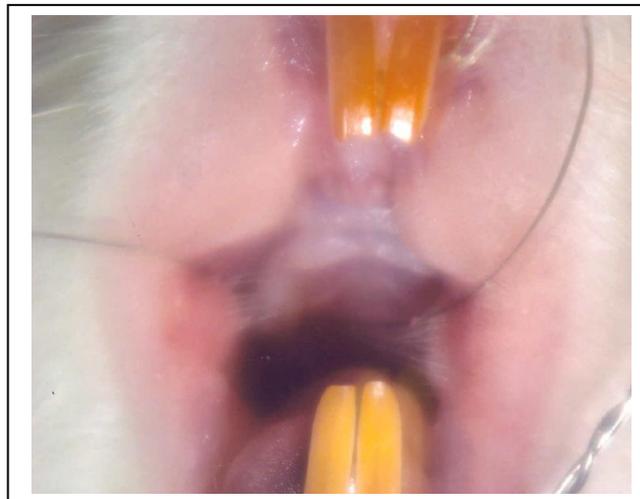


Figura 7-Rato com a boca aberta sendo evidenciada a passagem do fio ortodôntico de 0,20 mm pelo primeiro molar superior.

Os aparelhos ortodônticos seguiram o modelo de Heller et al.(1979), com algumas modificações sugeridas por Ortiz (2004), Fracalossi et al. (2009) e Silveira et al. (2006). A escolha do uso de uma mola fechada de aço inoxidável à base de CrNi para a confecção do aparelho foi baseada na disponibilidade de encontrar um modelo no tamanho apropriado no mercado e o fato de a mesma apresentar uma maior degradação de força segundo Porto et al. (2009) e Proffit (2009). Essa maior dissipação de força foi importante para se adaptar as funções estomatognáticas da cobaia, que a todo instante se movimentava, e evitar que o aparelho ortodôntico incomodasse a cobaia a ponto de desencadear um quadro de depressão e hiperestesia, apesar de a mola fechada de Niti ser apontada por Porto et al. (2009) como sendo um melhor parâmetro de avaliação de força ortodôntica.

Cada aparelho a ser instalado nas cobaias seguiu um esquema de montagem específico adaptado e proposto por Ortiz (2004), Fracalossiet al.(2009), Silveira (2006) e Heller et al. (1979), sempre sob a luz de um refletor:

- Primeiro passo; preparação das molas:

1. Foi feito três marcas seguidas no rolo de mola fechada antes do corte, utilizando para esta marcação o alicate de corte de amarrilho. A primeira marca foi feita 3 a 4 helicoides (voltas da mola) à frente da segunda, há exatos 4 mm da marca anterior, medida com o compasso de pontas secas calibrado pelo compasso de Willis;
2. Uma última marca 3 a 4 helicoides após a segunda marca. E assim sucessivamente. Cada mola então foi composta dos 4 mm efetivos para a ativação e 3 a 4 helicoides em cada extremidade para a união dos fios de amarrilhos aos dentes.
3. Dois segmentos do fio de amarrilho de 0,20 mm de aproximadamente 7 cm de comprimento foram amarrados a cada extremidade do segmento de mola ortodôntica e cada segmento será unido em suas pontas para não se soltarem da mola. Uma vez que as molas estejam prontas foi iniciado a instalação nos dentes.

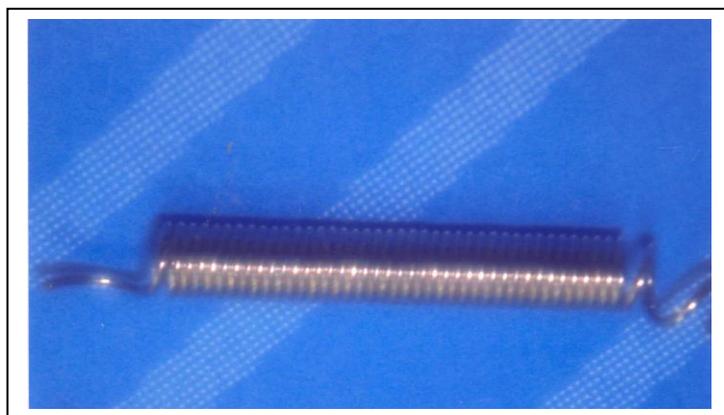


Figura 8 - Foto da mola fechada.

- União da mola ao primeiro molar superior direito:

1. Utilizando um porta agulha Castroviejo e afastando-se a mucosa jugal do rato com uma pinça clínica, inseriu-se inicialmente pelo espaço interproximal entre o primeiro e o segundo molares superiores esquerdos, a ponta de um fio de aproximadamente 7 cm de amarrilho 0,20 mm. Esta ponta de 5 cm é previamente manipulada tomando a forma de anzol. Esta passagemrequisitou treinamento prévio para ser realizada com êxito e com dano mínimo aos tecidos moles adjacentes.

2. Uma vez apreendida a ponta deste “anzol” por vestibular do espaço interproximal com o porta agulha Castroviejo, puxa-se o fio até a metade de seu comprimento.
3. Inserimos a ponta da porção lingual deste segmento de amarrilho à extremidade livre da mola, amarrando-a de forma que a mola se posicionasse por mesial e o mais próximo possível da coroa do primeiro molar superior esquerdo. O fio de amarrilho 0,20 mm será análogo a uma banda, abraçando o primeiro molar superior esquerdo e ao mesmo tempo fixando uma das extremidades da mola.



Figura 9- Foto da etapa de união da mola ao primeiro molar superior direito.

- União da mola aos incisivos superiores:
 1. Utilizando uma ponta diamantada tronco-cônica em baixa rotação, devidamente refrigerada, serão feitos sulcos de retenção o mais cervical possível, nas faces distais e mesiais de ambos os incisivos superiores. As bordas das retenções apresentarão um ângulo vivo, nunca arredondado, possibilitando uma maior apreensão dos fios.

2. Cada segmento de fio de amarrilho de aço inoxidável a de base CrNi de 0,20 mm previamente unidos à extremidade da mola serão amarrados aos incisivos. Cada segmento de fio para cada incisivo separadamente, distendendo a mola 2mm. Tal conformação dá ao aparelho uma resistência às forças de tração.
3. Realizamos a aferição do comprimento da mola em 6 mm com o compasso de pontas secas, calibrado com o compasso de Willis, a cada amarração sistematicamente, garantindo assim o comprimento exato da mola, ao final do procedimento. A força despendida por esta distensão da mola sobre o primeiro molar superior esquerdo foi de 75 cN medida e padronizada previamente com um dinamômetro da marca Morelli de 25 a 250 g, devidamente calibrado e aferido. Devido às propriedades do aço, esta força dissipar-se-á gradualmente ao longo dos dias que o aparelho permanecer na cavidade bucal do rato.
4. Finalmente, após um condicionamento ácido, foi depositada uma fina camada de resina composta para fins ortodônticos recobrimdo os fios de amarrilho ao redor dos incisivos. Também foi feito o recobrimento dos fios de amarrilho 0,20 mm por lingual até a extremidade da mola, protegendo-a da interferência dos incisivos inferiores durante a alimentação.



Figura 10- Aspecto final da montagem do aparelho ortodôntico antes do encaixe no sulco.

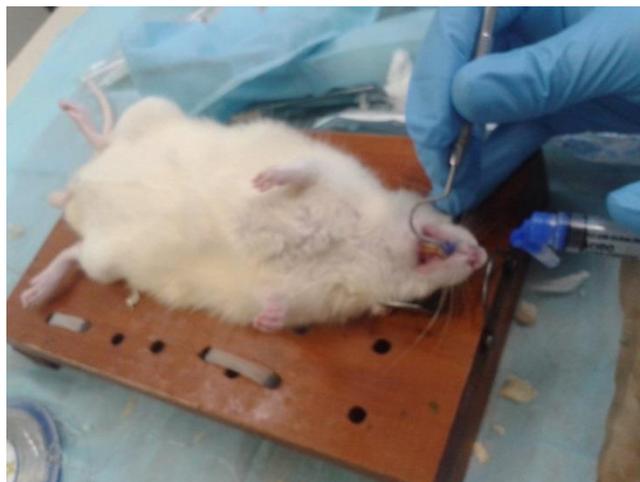


Figura 11-- Etapa do condicionamento ácido das estruturas dentais.

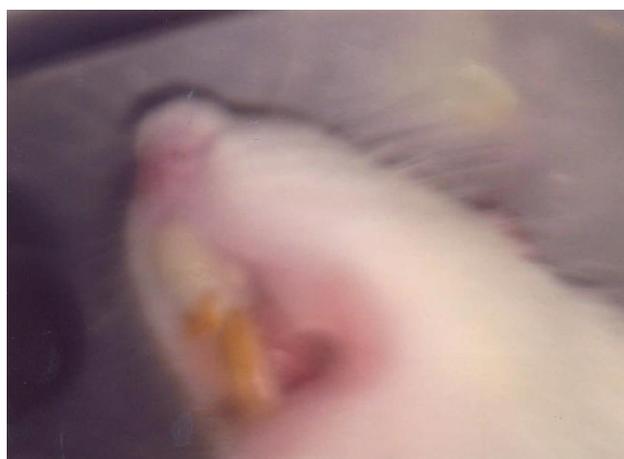


Figura 12- Aspecto final do aparelho coberto pela resina composta.

Diariamente, foi feita a inspeção dos aparelhos ortodônticos nos ratos de forma não invasiva. Caso houvesse quebra, seria feito novamente todo o processo de anestesia das cobaias e remontagem dos aparelhos. O que não foi necessário porque o dispositivo se mostrou altamente resistente, com exceção de um rato do grupo Ap+Hp, que teve o aparelho quebrado um dia antes da imolação, sendo assim não foi necessário a reinstalação do aparelho.

Se considerarmos que o estudo se propõe a observar os aspectos microscópicos da movimentação dentária induzida com uma força contínua leve, em um período curto, de 9 a 10 dias, a utilização de uma força de 75cN para o experimento é pertinente. Esta força foi calculada baseando-se no princípio que o dente murino é 50 vezes menor que o molar humano, portanto precisaremos de uma força 50 vezes menor que 3.750 cN, que é

uma força contínua aplicada em molares humanos durante tratamentos ortodônticos. E Treuting (2012) afirma que a estrutura altamente rica em dentina dos incisivos de roedores confere uma força equivalente a de molares humanos. O estudo não tem como evitar reações biológicas adversas ou colaterais nos tecidos analisados.

Para Fracalossiet al.(2009) o trabalho precisa da presença desses fenômenos para estudar algumas condicionantes que alteram as características microscópicas dos tecidos.

5.8. Retirada das peças cirúrgicas

Ortiz (2004) recomenda que em seguida à imolação, seja feita a decapitação seguida da dessecação, utilizando tesouras Íris e Metzemberaum. Durante a dessecação, foram removidos todos os componentes epiteliais e musculares envolvendo a maxila. Um a quantidade não desejada de tecido mole remanescente poderia atrapalhar a velocidade de desmineralização entre as amostras. Logo em seguida, foi feita uma análise macroscópica comparativa entre as peças retiradas dos murinos em que foram instalados os aparelhos ortodônticos.



Figura 13 – Amostra obtida após a dessecação.



Figura 14 – Amostra após remoção de tecidos moles.

5.9. Preparo histológico de tecidos bucodentais.

As maxilas deverão ser colocadas em uma solução de formol a 10% para fixação histológica. Ortiz (2004) recomenda que cada maxila deve permanecer nesta solução até a obtenção de todas as peças cirúrgicas do experimento para sofrerem desmineralização simultânea.

A desmineralização será feita em solução de Morse (30 ml de água destilada+50 ml de etanol 95% +20 ml de álcool n-butílico), por aproximadamente uma semana, sendo que a solução será trocada 1 vez a cada 2 dias e o ponto de desmineralização será conferido diariamente. Para a observação imediata será utilizada uma lupa. Os restos dos aparelhos ortodônticos serão removidos somente após a desmineralização total das peças com um alicate de corte de amarrilho. O preparo macroscópico pode ser feito com uma lâmina de barbear.

Fracalossiet al.(2009) recomenda um plano de corte transversal, pois o mesmo possibilita visualizar todas as raízes do primeiro molar superior esquerdo simultaneamente. Fracalossiet al.(2009) também afirma que essa característica desse corte é associada a uma riqueza de detalhes anatômicos das raízes, ligamento periodontal e osso alveolar adjacente. E a maior padronização durante a fase laboratorial dos cortes fazem das secções transversais as ideais para a movimentação dentária induzida em murinos. Após o corte transversal, serão produzidas lâminas.

As lâminas receberão uma coloração pelo método de hematoxilina-eosina de Harris e Lison. Depois da montagem das lâminas e lamínulas de vidro e secagem, todas elas



serão guardadas e identificadas, em caixas de armazenamento em um local fresco e seco.

5.10. Análise histológica e critérios qualitativos para análise

A análise de resultados, inspirada na análise feita por Marques et al.(2011) e Fracalossi et al.(2009), será feita com base na resposta dos tecidos à movimentação dentária induzida dos grupos, em comparação com os respectivos grupos controle. Através da análise histopatológica, os seguintes eventos também deverão ser acompanhados: infiltrado inflamatório (células mononucleares e polimorfonucleares), vascularização celular e atividade dos osteoclastos.

A análise histopatológica deve ser feita com um microscópio óptico com um aumento de 120 X, baseada nas respostas estimuladas pela força ortodôntica aplicada nas condições de depleção da atividade tireoideana.

Os aspectos microscópicos da movimentação dentária induzida deverão ser observados no ligamento periodontal, no osso alveolar e nas raízes do primeiro molar, nos lados de pressão e tensão. Segundo Fracalossiet al.(2009) nos cortes transversais, a análise deverá ocorrer nas raízes mesiovestibular (MV), mesiolingual (ML), intermediárias (INT), distovestibular (DV) e distolingual(DL). A análise microscópica empregada deve ser inteiramente qualitativa e consideraram-se os fenômenos teciduais e celulares decorrentes do movimento dentário induzido. Dentre esses fenômenos estão:

1. áreas hialinas do ligamento periodontal;
2. células clásticas;
3. reabsorção óssea frontal;
4. reabsorção óssea à distância;
5. reabsorção radicular;
6. distensão das fibras do ligamento periodontal.

5.11 Análises estatísticas

Após os testes, os dados foram apresentados e organizados. Foram calculadas as médias e os erros padrões para cada uma das medidas realizadas nos grupos estudados. Foram utilizados a média, mediana, desvio-padrão e proporções para variáveis categóricas, além do teste qui-quadrado de Pearson. Foram considerados



estatisticamente significantes valores com $p < 0,05$. Os dados foram digitalizados em planilha Excel 2010, Microsoft®.

6. Resultados e Discussão

6.1 Massa Corporal (g)

Os ratos foram pesados continuamente para verificar se a medicação induziu em perda ou ganho de massa corporal (por causa da ação da depleção da tiroxina). Verifica-se que não houve um ganho de massa corporal tão expressivo por parte dos grupos em que houve indução ao hipotireoidismo agudo.

Grupos	07/04	14/04	23/04
Grupo Ctrl	314±27,22g (n=4)	324±27,22g (n=4)	324±27,22g (n=4)
Grupo Hp	336,5±27,22g (n=4)	342,5±27,22g (n=4)	345±27,22g (n=4)
Grupo Ap	324,5±27,22g (n=4)	337,5±27,22g (n=4)	351±27,22g (n=4)
Grupo Hp+Ap	334,5±27,22g (n=4)	341,5±27,22g (n=4)	327,5±27,22g (n=4)

Quadro 1 - Avaliação da massa corporal dos Ratos no decorrer do experimento

6.2 Dosagens da Tiroxina Total

Após o período experimental de cada grupo, foi realizada a coleta de sangue para a obtenção da amostra de soro necessária para a dosagem da tiroxina pelo método ELISA. Verifica-se que os grupos Hp e Hp+Ap apresentaram níveis de T4 totais em conformidade com o padrão pré-estabelecido de depleção hormonal, ou seja, níveis acima de 0,6.

Os resultados estão descritos no quadro 2.

Grupos	Níveis de T4
Grupo Ctrl	0,386±0,184 (n=4)
Grupo Hp	0,7866±0,184 (n=4)
Grupo Ap	0,373±0,184 (n=4)
Grupo Hp+Ap	0,787±0,184 (n=4)

Quadro 2 - Avaliação dos níveis médios de tiroxina com erro padrão dos ratos durante a ELISA.

6.3. Análise Histológica Macroscópica

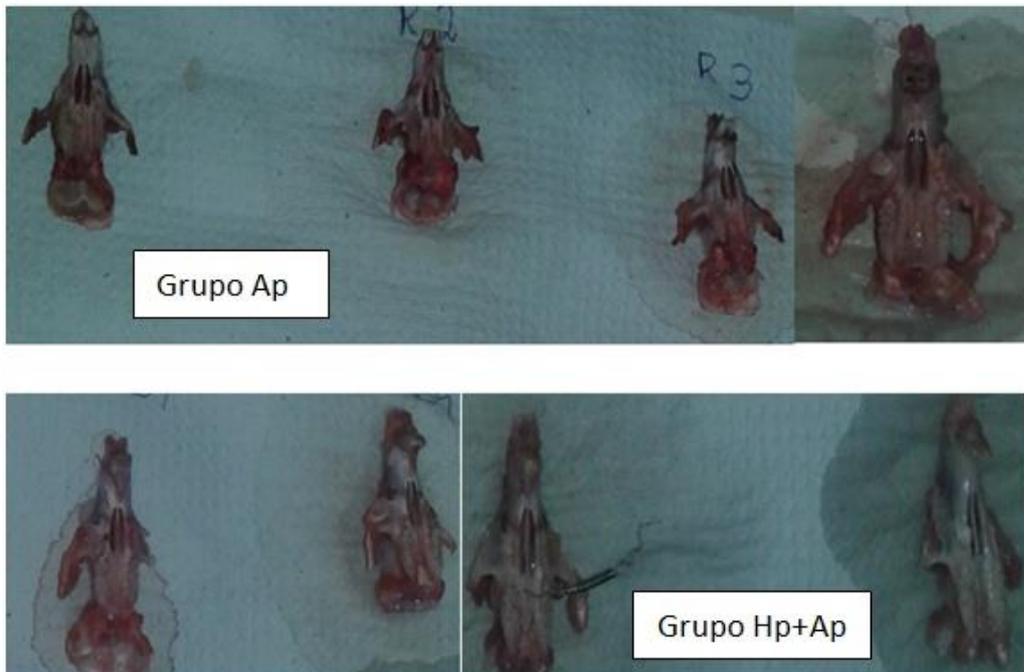


Figura 15 – Comparação histológica macroscópica nas peças anatômicas nos grupos em que foi inserido o aárelho ortodôntico.



A partir de uma análise histológica macroscópica, foi constatado que nos ratos pertencentes ao Grupo Ap+Hp, o aparelho ortodôntico conseguiu deslocar melhor o primeiro molar superior direito (criando um espaçamento maior entre os dentes) do que em comparação com o Grupo Ap, que apresentou uma firmeza maior do aparelho no espaço entre os molares com concomitante dificuldade de se remover esse aparelho na hora da coleta de peças histológicas para conservação. Nos ratos dos grupos Ctrl e Hp, não houve diferença significativa na estrutura e no arcabouço da estrutura dental, nem presença de mobilidade dentária ou espaçamentos entre os dentes.

Esse espaçamento resultou em uma firmeza menor do aparelho. Isso pode ser um indício da modificação na remodelação periodontal causada pela depleção de T4, apontada por Nanci (2008) e Venturi (2006). Atestamos também que de acordo com os resultados levantados pela eletroquimioluminiscência, os ratos dos grupos Hp+Ap e Hp, efetivamente tiveram níveis de T4 totais deprimidos, embora não houve um ganho de massa corporal tão expressivo por parte desses decorrentes do hipotireoidismo agudo. Tais evidências experimentais podem confirmar o que foi sugerido por Neville et al. (2011), Regezi et al. (2013) e Venturi (2006) sobre o papel dos hormônios tireoideanos sobre os tecidos estomatognáticos.

7 Conclusão

A partir do que foi observado durante a fase experimental, verificamos que nos ratos que foram induzidos a um quadro de hipotireoidismo agudo e fizeram o uso de um aparelho ortodôntico experimental, tiveram uma movimentação que resultou em um espaçamento interdentário maior no primeiro molar superior direito do que em relação ao grupo Ap. Tal fato é um indício de possível alteração causada na remodelação periodontal ocasionada pela depleção da glândula tireóide durante a movimentação dentária induzida.



8 Referências

1. AUSIELLO, D.; GOLDMAN, L. **Cecil Medicina**. Volume II. 23 ed. Rio de Janeiro: SaundersElsevier, 2009.p.2153-2207.
2. DAMY, S.B. et al. Aspectos Fundamentais da Experimentação Animal- Aplicações em cirurgia experimental. **AssocMedBras**, voume 56, número 1, pg.103-111, 2010.
3. FRACALOSSI, A.C.C. et al. Movimentação Dentária Experimental em Murinos: Período de Observação e Plano dos Cortes Microscópicos. **Dental Press OrtodonOrtop Facial**, Maringá, v.14, n.1, p.143-157, jan./fev. 2009.
4. COOPER, D. S.; KEIFFER, J. D.; SAXE, V.; MOVER, H.; MALOOF, F.; RIDGWAY,E.C. Methymazole pharmacology in the rat : studies using a newly developed radioimmunoassay for methymazole. **Endocrinology**, n. 114, vol. 3, p. 786-93, 1984.
5. GRABER, L. W.; VANARSDALL, R. L.; VIG, K. W. L. **Orthodontics: Current Principles and Techniques**.5 ed. Filadélfia: Elsevier, 2011.
6. HELLER, I.J.; NANDA, R. Effect of Metabolic Alteration of Periodontal Fibers on Orthodontic Tooth Movement, **Am. J.Orth.** v.75, n.3, 1979.
7. HOUSTON, J.W.B. A new design of rat mouth prop. **J. Dent. Res.**, v. 43, n. 3, p.458, 1964.
8. KIERSZENBAUM, A.L. **Histologia e Biologia Celular: Uma introdução à Patologia**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
9. MARQUES, A. A. F. at al. Morphological analysis of tissue reaction caused by new endodontic paste in subcutaneous tissue of rats. **Journal of Conservative Dentistry**. JUL-SET 2011, volume 14, número 3
10. NANCI, A. **Ten Cate Histologia Oral: Desenvolvimento, estrutura e função**. 7 ed. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 2008.
11. NANDA, R. S. et al. **Biomechanics in Orthodontics: principles and practice**.1 ed. Chicago: Ed. Quintessence books, 2010.
12. NEVILLE, B. W. et al. **Patologia oral e maxilofacial**.3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
13. ORTIZ, M.F.M. **Influência dos Bifosfonatos na Movimentação Dentária Induzida, na Frequência e nas Dimensões das Reabsorções Radiculares**



UFAM

Associadas. 2004. 187p. Tese (Doutorado em Odontologia), Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2004.

14. PORTO, JANISE B.P. **Avaliação in vitro das forças geradas por cadeiaselásticas e molas fechadas de NiTi.** 2009. Porto Alegre, 109 f. Dissertação (Mestrado), Faculdade De Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2009.

15. PROFFIT, W. R. et al. **Ortodontia Contemporânea.** 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

16. REGEZI, J. A.; SCIUBBA, J. J.;JORDAN, R. C. K. **Patologia Oral: correlações clínicopatológicas.** 6 ed. Rido de Janeiro: Elsevier, 2013.

17. SALES, C.L.F. **Avaliação dos efeitos do glutaraldeído sobre os tecidos pulpare e periapicais após pulpotomia em ratos: estudo microscópico.** Bauru, 120 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Odontologia de Bauru, USP, 1989.

18. SCHANAIDER, A.; SILVA, P.C. Uso de animais em cirurgia experimental. **Acta Cir. Bras.**(serial online), volume 19, número 4, jul-ago.

19. SILVEIRA, D. et al. Alterações periodontais durante a movimentação dentária induzida em ratos. **Revista Odonto Ciência**, PUC-RS, v.21, n.54, out./dez. 2006.

20. TREUTING, P. M. et al. **Comparative Anatomy and Histology: A mouse and human atlas.** 1 ed. Seattle: ElsevierAcademic Press, 2012.

21. VELLINI, F.F.**Ortodontia: Diagnóstico e Planejamento Clínico.** 6ed. São Paulo: Artes Médicas, 2004.

22. VENTURI, G. J. V. **Avaliação histológica do ligamento periodontal de ratos wistarsob efeito do hipotireoidismo agudo induzido pelo metimazol (Tapazol).** 2006. Campinas, 79 f. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências Médicas de Campinas, 2006.



9 Cronograma de Atividades

1. Cronograma de Atividades (Alterado) *

Nº	Descrição	Ago 2015	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2016	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Revisão de Literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2	Seleção dos ratos de acordo com a idade e sexo							X	X	X			
3	Submissão do trabalho ao Conselho de Ética em Experimentação Animal	X	X										
4	Montagem dos aparelhos de indução ortodôntica					X	X		X	x			
5	Realização das dosagens hormonais								X	X			
6	Coleta de Dados									X	X	X	X
7	Análise dos Dados							X	X	X	X	X	
8	Redação do Trabalho							X	X	X	X	X	x
9	-Elaboração de um artigo a partir do trabalho e envio para publicação em alguma revista especializada e conceituada. - Elaboração do Resumo e Relatório Final - Preparação da Apresentação Final para o Congresso.						X	X	X	X	X	X	X

* As alterações podem ser justificadas pelo fato de o biotério ter entrado em reforma, o que ocasionou atrasos na obtenção legal de cobaias. E a parte da análise histológica por histometria não pode ser realizada devido a entraves burocráticos e legais para a obtenção legal de equipamentos e reagentes químicos em grande quantidade necessários para a realização dessa etapa.



Resumo

Este estudo teve por objetivo verificar experimentalmente as implicações do estado fisiológico de hipotireoidismo na remodelação óssea e histológica durante o tratamento ortodôntico; portanto, foram utilizados 16 ratos adultos da raça Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), divididos em 4 grupos experimentais: grupo controle (Ctrl), grupo hipotireoidismo induzido (Hp), grupo aparelho ortodôntico (Ap) e grupo aparelho ortodôntico com hipotireoidismo induzido (Hp+Ap). O experimento consistiu na indução do estado de hipotireoidismo em ratos Wistar com a utilização de bloqueadores da glândula Tireóide simultaneamente à inserção cirúrgica de aparelho ortodôntico. O período experimental de tratamento ortodôntico foi no máximo nove dias. Dosagens de T4(tiroxina) total foram feitas pelo método de eletroquimioluminiscência para comprovar a indução ao hipotireoidismo. Foi verificado que os ratos do grupo Hp+Ap, tiveram uma movimentação ortodôntica que resultou em um espaçamento interdentário maior no primeiro molar superior direito do que em relação ao grupo Ap. Esse espaçamento resultou em uma firmeza menor do aparelho. Tal fato é um indício de possível alteração causada na remodelação periodontal ocasionada pela depleção da glândula tireóide durante a movimentação dentária induzida.

Palavras-chave: Tireóide, Hipotireoidismo, Ortodontia