



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

RODRIGO IVO MATOSO

**AVALIAÇÃO MECANOBIOLÓGICA DO TECIDO DENTÁRIO
RADICULAR DE RATOS COM TRAUMA OCLUSAL**

*MECHANOBIOLOGICAL ANALYSIS OF RAT ROOT TISSUE WITH
OCCLUSAL TRAUMA*

Piracicaba

2018

RODRIGO IVO MATOSO

**AVALIAÇÃO MECANOBIOLOGICA DO TECIDO DENTARIO
RADICULAR DE RATOS COM TRAUMA OCLUSAL**

*MECHANOBIOLOGICAL ANALYSIS OF RAT ROOT TISSUE WITH
OCCLUSAL TRAUMA*

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Biologia Buco-dental, na Área de Anatomia.

Thesis presented to the Piracicaba Dental School of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Buco-dental Biology, in Anatomy area.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Bevilacqua Prado

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida pelo aluno Rodrigo Ivo Matoso e orientada pelo Prof. Dr. Felipe Bevilacqua Prado.

Piracicaba

2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CAPES, 1443261

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5479-1157>

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

M428a Matoso, Rodrigo Ivo, 1978-
Avaliação mecanobiológica do tecido dentário radicular de ratos com trauma oclusal / Rodrigo Ivo Matoso. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Felipe Bevilacqua Prado.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Oclusão dentária traumática. 2. Análise de elementos finitos. 3. Reabsorção da raiz (Dentes). I. Prado, Felipe Bevilacqua, 1980-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Mechanobiological analysis of rat root tissue with occlusal trauma

Palavras-chave em inglês:

Dental occlusion traumatic

Finite element analysis

Root resorption

Área de concentração: Anatomia

Titulação: Doutor em Biologia Buco-Dental **Banca**

examinadora:

Felipe Bevilacqua Prado [Orientador]

Ana Cláudia Rossi

Eduardo César Almada Santos

Leonardo Soriano de Mello Santos

Paulo Roberto Botacin

Data de defesa: 27-02-2018

Programa de Pós-Graduação: Biologia Buco-Dental



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 27 de fevereiro de 2018, considerou o candidato RODRIGO IVO MATOSO aprovado.

PROF. DR. FELIPPE BEVILACQUA PRADO

PROF. DR. PAULO ROBERTO BOTACIN

PROF. DR. LEONARDO SORIANO DE MELLO SANTOS

PROF^a. DR^a. ANA CLÁUDIA ROSSI

PROF. DR. EDUARDO CÉSAR ALMADA SANTOS

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais **Vania Maria Ivo Matoso** e **Antonio Edson da Silva Matoso**, que abriram mão de muitos dos seus sonhos para realizarem os meus e os de minhas irmãs. Pais dedicados que sempre zelaram pela minha vida e pela formação do meu caráter.

Às minhas irmãs **Danielle Ivo Matoso** e **Lorena Ivo Matoso**, dedico este trabalho. Pois, mais uma vez estou colhendo parte do que a nossa convivência e crescimento de irmãos nos permitiu semear juntos.

Dedico à minha esposa **Nayandra Brito**, pelo apoio, companheirismo e pelo amor que compartilha comigo.

Dedico também aos meus filhotes **Gabriel Matoso** e **Rafael Matoso**, que transformaram a minha vida; e que, sem saberem, fazem-me entender porque devo ser melhor pessoa a cada dia.

Dedico à minha filhotinha e princesa **Isabela Brito**, por todo o carinho e amor que cativamos juntos.

Às minhas avós **Maria José Cacela Alves** (materna) e **Maria Eulália Holanda e Silva** (paterna), *in memoriam*, pela dedicação e pelos cuidados que tiveram comigo.

Dedico aos meus sobrinhos **Pablo**, **Davi**, **Isabela** e **Mariana**, e às minhas afilhadas **Pietra** e **Melissa**, que são parte do mundo melhor do futuro que nos reserva.

Dedico aos meus mestres da Odontologia Legal, *in memoriam*, **Eduardo Daruge** e **César Augusto Teixeira de Oliveira**, por todo o conhecimento que dividiram comigo e pela saudosa amizade.

AGRADECIMENTOS

A **Deus Pai, Filho e Espírito Santo**, Criador do Céu e da Terra, Alfa e Ômega, por me dar paz de espírito e saúde, e por me permitir chegar até estes dias de minha vida. Louvado seja nosso senhor Jesus Cristo!

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), na pessoa do Reitor Prof. Dr. **Marcelo Knobel**.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP-UNICAMP), em nome do seu Diretor, Prof. Dr. **Guilherme Elias Pessanha Henriques**, e do seu Diretor Associado, o Prof. Dr. **Francisco Haiter Neto**.

À Prof^ª. Dr^ª. **Cíntia Pereira Machado Tabchoury**, Coordenadora-Geral dos Programas de Pós-Graduação e à Prof^ª. Dr^ª. **Maria Beatriz Duarte Gavião**, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Biologia Buco-Dental.

À Coordenadoria de Pós-Graduação e à Equipe Técnica da Coordenadoria de Pós-graduação agradeço pela paciência, atenção e disponibilidade.

Aos professores e demais servidores do Departamento de Morfologia (área de Anatomia) e ao Departamento de Odontologia Social (área de Odontologia Legal).

Ao meu orientador, o Professor Doutor **Felippe Bevilacqua Prado**, que me reconheceu profissional e academicamente, desde o ingresso no doutorado! Novamente agradeço pelo zelo, boa-vontade e pelo alto grau de exigência para que eu pudesse fazer o meu melhor, pela Ciência. Professor, muito obrigado pela confiança no meu trabalho e na minha pessoa! A forma com a qual me orientou, servirá de norte para quando eu orientar meus alunos.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo apoio financeiro oferecido para realização deste trabalho.

Meus agradecimentos à Professora Doutora **Ana Cláudia Rossi**, docente que, embora bastante jovem em idade, demonstra grande conhecimento, experiência, paciência e sabedoria. Professora Ana Cláudia, agradeço pelo trato sempre cortês e pela profícua e intensa participação nesta minha jornada do doutorado, que culmina na presente Tese!

Ao Professor Doutor **Alexandre Rodrigues Freire**, jovem pesquisador, cujo conhecimento no emprego de tecnologias computacionais em Anatomia e Ciências Forenses é incontestado, o meu muito obrigado! Certamente, a sua participação foi diretamente fundamental para a conclusão deste trabalho! Os alunos da FOP/UNICAMP e a essa própria Instituição precisam muito de sua labuta e dedicação, em equipe com os professores Felipe Prado e Ana Cláudia Rossi.

Ao grande e saudoso mestre **Eduardo Daruge**, o meu muitíssimo obrigado! Reitero os agradecimentos que fiz na minha Dissertação a sua pessoa, agora *in memoriam*... Memória minha (e de tantos outros) que a História não deixará apagar: que você foi o Mestre dos Mestres! Sou, absolutamente, uma pessoa de muita sorte por ter conhecido e por ter cultivado serena amizade com o Dr. Daruge (o “Darujão”) por tudo o que foi e pelo que representa para a Odontologia brasileira. Obrigado por ter me ensinado muito em tão breve tempo! Orgulho-me em saber que conheci o imortal Professor Doutor Eduardo Daruge, cujo conhecimento, por obra de Deus, é um verdadeiro legado que será perpetuado por inúmeras gerações! Adoraria vê-lo, fisicamente, na minha defesa da Tese, mas o tenho em viva lembrança!

O meu muito obrigado ao querido professor e amigo Doutor **Eduardo Daruge Junior**, pela amizade, pelos ensinamentos, pelos conselhos, pela confiança, pela força, por todo o amor e carinho que dedicou a mim desde 2011, quando ingressei no mestrado. Meu imenso agradecimento por você ter me concedido a tão honrosa e ímpar oportunidade de ter feito merecida homenagem ao seu pai, que tanto se esmerou para a execução e conclusão da obra “Tratado de Odontologia Legal e Deontologia (2017)”, mas que, por obra divina, não pôde ver a sua publicação.

A todos os **servidores da Biblioteca da UNICAMP e da Biblioteca da FOP-UNICAMP**.

Ao magnífico amigo e professor **Casimiro Abreu Possante de Almeida**, agradeço, imensamente, pelos conhecimentos, pelas observações e conselhos, por ser presente mesmo à distância, e, especialmente, pela amizade. Sua franqueza, exemplo de humildade e sabedoria me fazem crescer na Odontologia e na arte de viver. A você, meu amigo Casimiro, meus sinceros agradecimentos e eterna admiração!

Agradeço ao amigo e companheiro conselheiro, no Conselho Federal de Odontologia, **Rogério Dubosselard Zimmermann**, que, a exemplo do querido professor Casimiro, é docente de fino trato e fonte de rico conhecimento. Muito grato ao Zimmermann pelas observações sempre pontuais e engrandecedoras, ao longo da minha caminhada no doutorado!

Ao Professor Doutor **Luiz Francesquini Júnior**, pelos ensinamentos importantes durante meu tempo no doutorado.

Ao Professor Doutor **Francisco Carlos Groppo**, renomado professor, pelo exemplo de humildade e presteza na docência.

Agradeço ao Professor Doutor **Rafael Nóbrega Stipp** pelo apoio no início da minha caminhada no doutorado.

Ao Professor Doutor **Eduardo César Almada Santos** pelas importantes contribuições feitas por ocasião da apresentação da minha qualificação no doutorado!

À minha amada e lindona esposa **Nayandra** o meu muitíssimo obrigado, pelo amor, carinho, presença, paciência, respeito e por todo o apoio que tive nos momentos tranquilos e nos turbulentos dessa minha jornada do doutorado! Obrigado por compreender minhas ausências e pelo zelo comigo, durante as minhas angústias! Muito obrigado, meu amor, pois, sem você, teria sido muito mais difícil trilhar esse caminho!

Reitero, *ipsis litteris*, os agradecimentos aos meus pais, que fiz na minha Dissertação (2014): “Infinitos agradecimentos aos meus pais **Vania** e **Edson**, por tudo o que me proporcionaram em termos de educação, de conselhos, de carinho, de cuidados, de apoio, de confiança, de valores morais e éticos. E, sobretudo, obrigado pelo imensurável amor de vocês comigo, pois se sou o que sou, se cheguei até onde cheguei, e até aonde poderei ir, eu devo ao amor que nunca me foi negado por vocês. Matosão e Dadá, amo muito vocês”! Tenham certeza de que as noites mal dormidas de vocês e que o fardo que carregaram para que eu fosse alguém bom e de bem para a vida, mais uma vez frutificou!

Às minhas irmãs **Danielle** e à **Lorena**, meus agradecimentos eternos por serem irmãs maravilhosas, o que muito contribuiu com a minha formação e caráter. Amo muito vocês, Dani e Ló!

Agradeço aos meus amados e ainda tão pequenos filhotes **Gabriel** (5 anos) e **Rafael** (2 anos) que são verdadeiras maravilhas em minha vida e que muito me fizeram crescer como homem! Sinto infinita saudade de vocês dois! Rogo ao Senhor Deus do Universo que vocês cresçam na caridade, sejam justos e piedosos, homens de honra, sábios, saudáveis e tementes a Deus!

Agradeço também à minha filhotinha **Isabela** (7 anos), que precisou entender que eu tinha que passar algumas noites em claro, ficar alguns dias sem poder brincar, e também viajar para me dedicar ao doutorado. Muito obrigado, princesinha, pelo teu carinho! Que Deus te reserve um futuro promissor e de muita paz!

Agradeço aos meus sobrinhos **Pablo** e **Davi**, sobrinhas **Isabela** e **Mariana**, e às minhas afilhadas **Pietra** e **Melissa**, pelo importantíssimo fato de existirem em minha vida!

Mais uma vez o meu muitíssimo obrigado às **minhas professoras e meus professores do ensino infantil, do ensino fundamental e médio (Colégio Santa Rosa) e do ensino superior (Universidade Federal do Pará)**, que me ensinaram não apenas as “lições de sala de aula”, mas que também contribuíram para minha formação moral e cívica. Tenham certeza que cada uma das senhoras e dos senhores fez frutificar, em mim, a busca pelo

conhecimento científico em benefício dos nossos semelhantes! Cada um de vocês é um tijolo na construção da minha inteligência e do meu ser! **Sem o Professor, não existe o Doutor!** Muito obrigado!

Mais uma vez, é primordial agradecer à professora **Gessy Brandão** e às **professoras da escola de inglês Gessy's Course**, os meus sinceros e eternos agradecimentos. O meu conhecimento de sólida base sobre a Língua Inglesa (escrita, falada e compreendida) é devido à qualidade do ensino daquela escola, em especial no período em que por lá passei de 1989 a 1995. Querida professora Gessy Brandão, a senhora e as professoras, que colaboravam com sua escola, deram-me inestimável legado linguístico! O meu sempre muito obrigado!

Ao amigo de longa data e *shihan* **João Florentino da Gama Brito**, que, ainda na minha infância e na formação do meu caráter, ensinou-me de forma indelével e na prática, o significado de “fidelidade para com o verdadeiro caminho da razão” e de “criar o intuito de esforço”, do Dojo Kun – a aplicação do caratê à vida cotidiana. *Shihan*, OSS!

Ao *sensei* e grande amigo **Roney Antonio Rodrigues Filho** agradeço, primeiramente, por me ensinar a arte do “caminho do espírito harmonioso” – Aikido! E, segundo, agradeço imensamente pela camaradagem, pela acolhida, pela doação, pelo carinho, pelos conselhos, pela sinceridade e, especialmente, pela forte amizade construída! Se Deus quiser a forte raiz da Escola Aiki Kaizen de Aikido se harmonizará nas terras de Makunaima! Essa gratidão se estende à sua esposa **Fernanda**! Agradeço **aos meus amigos da Escola de Aikido do Sensei Roney, a todos sem exceção**, pelo companheirismo, pela harmonia e por tornarem as minhas viagens para Piracicaba-SP sempre agradáveis!

Ao meu inestimável mestre, professor na graduação, **César Augusto Teixeira de Oliveira** (cirurgião-dentista/perito odontologista no Pará), *in memoriam*, por ter me feito apaixonado pela Odontologia Legal.

Às minhas professoras **Vania Castro Correa** e **Dinair Pamplona dos Santos Tembra** e ao **Professor Doutor Aladim Gomes Lameira** que foram os professores que fundaram o alicerce do meu conhecimento em Anatomia Humana, na UFPA.

Muito grato à querida amiga **Maisa Daruge**, esposa e esteio do grande amigo Eduardo Daruge Junior, que foi ao longo desses 7 anos, alguém que pude contar para me ajudar a resolver várias coisas em Piracicaba, juntamente com o Tico. Isso faz parte de minha gratidão e respeito eternos e pela amizade construída!

Ao Professor Doutor **Leonardo Soriano de Mello Santos** – o Leozão. Companheiro de batalhas e grande amigo, desde quando éramos acadêmicos de Odontologia.

Mais uma vez agradeço por tudo que fez por mim na FOP-UNICAMP, para que eu conseguisse chegar até a defesa da minha Tese!

Minha eterna gratidão ao estimadíssimo amigo, e futuro Doutor, **Rafael Araújo**, jovem pesquisador iluminado por Deus. Agradeço imensamente por ter me cedido abrigo e por dividir teu cantinho, pelo tempo em que estive em Piracicaba e pelos momentos que confraternizamos! Resumindo, por tudo o que você fez por mim! Sempre conte comigo!

Agradeço especialmente à Professora Mestra, Diretora do IML-RR, e minha amiga-irmã **Marcela Campelo Pereira**, pelo apoio irrestrito ao longo de toda a minha jornada e contratempos durante o meu doutoramento! Mais uma vez, agradeço pelos plantões que teve que me cobrir no IML-RR e pelo incentivo, nesta minha caminhada! Sempre sou grato pela amizade incondicional. Minha gratidão eterna, amiga Marcela! Obviamente, agradeço ao teu marido e meu grande amigo **Leandro Ferreira Lopes** e à **família inteira de vocês dois**, pela compreensão e pelo apoio que, indiretamente, me deram, ao te ajudarem a me ajudar!

Agradeço ao meu amigo e guru **Luís Eduardo Lopes Albuquerque**, um profissional de vanguarda e amigo fiel, que sempre me ajudou e me aconselha de forma extremamente lúcida e profícua! Amigo Dudu, obrigado pelas palavras sempre bem iluminadas! O teu apoio e o da Marcela, a mim, no IML-RR, foram-me muito importantes nessa jornada de mestrado e doutorado! Muito obrigado pela amizade!

Ao amigo **Gilberto Paiva de Carvalho** que foi um importantíssimo apoio e parceiro ao longo da minha jornada no doutorado, desde a seleção até a conclusão desse trabalho! Obrigado pela amizade que compartilhamos!

Aos meus amigos e colegas **Silas Henrique Rabelo de Lima, Eduardo de Novaes Benedicto, Marcos Paulo Salles Machado, Sarah Teixeira Costa, Vívian dos Santos Souza, Marília de Oliveira Coelho Dutra Leal, Laíse Nascimento Correia Lima, Larissa Lopes Rodrigues, Yuli Andrea Lopez Quintero, Daniel Pignatari, Renato Taqueo, Talita Lima de Castro, Thaiane Bregadioli, Maria Cláudia Cuzzullin, Juliana Haddad, Ana Paula Guidi, Talita Maximo Carreira Ribeiro, Viviane Ulbricht, Cristhiane Martins Schmidt e Denise Rabelo Maciel** pelo incentivo, pela parceria, pelos conhecimentos multiplicados e pela troca de ideias, na minha jornada no doutorado, e pela amizade!

Agradeço aos meus colegas e amigos **odontologistas, cirurgiões-dentistas, médicos-legistas e todos os demais servidores lotados no IML-RR** pelo suporte, direto e indireto, que me proporcionaram ao longo dos meus 7 (sete) anos entre mestrado e doutorado na FOP-UNICAMP. Muito obrigado!

Agradeço também à amiga cirurgiã-dentista **Isabela Garcia Tardivo**, esposa do amigo Rafael Araújo, por toda sua ajuda quando precisei, nesse período, e pela amizade!

À equipe técnica da Coordenadoria de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP: **Roberta Clares Morales dos Santos** (*in memoriam*), **Érica Pinho Sinhoreti**, **Ana Paula Carone** e **Raquel Marcondes Cesar**, por todo fundamental apoio que me deram na CPG, durante meu mestrado e doutorado, e pela profissional presteza no servir!

Agradeço ao **Cristiano**, do laboratório de Anatomia, em nome do qual **agradeço a todos os servidores efetivos e terceirizados da FOP-UNICAMP**, pois figuram como trabalhadores da base de apoio e de logística para o adequado funcionamento da Faculdade e para a formação de profissionais da saúde.

Quero agradecer a todos os meus amigos, meus colegas e demais pessoas que colaboraram, direta ou indiretamente, na minha caminhada do meu Doutorado em Biologia Buco-Dental (área de Anatomia), que pela minha humana e frágil memória acabei por não citar nominalmente.

Por fim, agradeço **a você leitor**, que é a razão máxima a que se destina esta Tese de Doutorado, pelo bem da Ciência e da Humanidade!

“Gratidão é dívida que não prescreve”. (Autor desconhecido)

EPÍGRAFE

“Tu me revestiste de pele e carne, e me teceste de ossos e nervos”.

(Jó 10,11)

“Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu. É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu”.

(Versos da canção “Trem Bala”, de autoria de Ana Carolina Vilela da Costa)

RESUMO

O dente e o periodonto são continuamente submetidos a forças mecânicas capazes de estimular processos de remodelação óssea. Entretanto, sobrecargas mecânicas direcionadas aos tecidos periodontais podem promover alterações patológicas, como perda óssea e reabsorção radicular. Com o objetivo de avaliar a resposta mecanobiológica do tecido dental radicular, em primeiro molar inferior de ratos, submetidos à condição experimental de trauma oclusal dental, foram utilizados quinze ratos machos Wistar, aleatoriamente, divididos em dois grupos, sendo um grupo experimental (n=10) e outro o controle (n=5). O grupo experimental recebeu um dispositivo de resina e fragmento de fio ortodôntico em primeiro molar superior direito, para estabelecer condição de trauma oclusal. O grupo experimental foi dividido em dois subgrupos, conforme a data da eutanásia, que foi de 7 dias (n=5) e de 14 dias (n=5), após a instalação do dispositivo de trauma. O grupo controle não foi submetido à trauma oclusal e seus indivíduos foram eutanasiados no 14º dia, juntamente com um subgrupo experimental. Foram obtidas amostras histológicas dos primeiros molares inferiores direitos e do periodonto dos ratos. Foi construído o modelo de elementos finitos para simulação de sobrecarga oclusal (40 N) e para simulação de oclusão normal (20 N). Os resultados demonstraram compatibilidade no padrão de reabsorção radicular externa da análise histológica e a análise com elementos finitos. As áreas de cemento mais afetadas foram em região de furca e de raiz distal de primeiros molares inferiores direitos, no grupo experimental. No grupo controle não houve alteração significativa. A presente avaliação mecanobiológica comparativa entre os achados da análise de elementos finitos e os achados histológicos mostram semelhanças entre áreas afetadas pelas deformações, computacionalmente, simuladas e as áreas de reabsorção radicular externa. Além das sobrecargas oclusais, outras variáveis como a morfologia raiz do dente e os movimentos mandibulares parecem interferir nas respostas biomecânicas.

Palavras-chaves: Oclusão dentária traumática; Análise de elementos finitos; Reabsorção radicular.

ABSTRACT

Tooth and periodontium are continuously subjected to mechanical forces capable of stimulating processes of bone remodeling. However, mechanical overloads directed to the periodontal tissues can promote pathological alterations, such as bone loss and root resorption. In order to evaluate the mechanobiological response of dental root tissue in the first molar of rats submitted to the experimental condition of occlusal dental trauma, fifteen male Wistar rats were randomly divided into two groups, an experimental group (n=10) and the control group (n=5). A set of resin and fragment of orthodontic wire was placed in the upper right first molar of each rat of the experimental group, in order to establish occlusal trauma condition. The experimental group was divided into two subgroups, according to the date of euthanasia, which was 7 days (n=5) and 14 days (n=5), after the installation of the traumatic device. The control group was not submitted to occlusal trauma and their subjects were euthanized on the 14th day, together with an experimental subgroup. Histological samples were obtained from the lower right first molars and the periodontium of the rats. The finite element model was used to simulate occlusal overload (40 N) and to simulate normal occlusion (20 N). The results demonstrated compatibility between the pattern of histological external root resorption and the finite element analysis. The most affected areas were furcation region and distal root cementum of lower right first molars, in the experimental group. There was no significant change in the control group. The present comparative mechanobiological evaluation between the findings of the finite element analysis and the histological findings shows similarities between areas affected by high compressive strains, computationally, simulated and the areas of external root resorption. In addition to occlusal overloads, other variables such as tooth root morphology and mandibular movements may interfere with biomechanical responses.

Keywords: Traumatic dental occlusion; Finite Element Analysis; Root resorption.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D – tridimensional

CAD – *computer aided design*

EDTA – *ethylenediamine tetraacetic acid*

e.g. – do latim: *exempli gratia*

FEA – *finite element analysis*

FEM – *finite element model*

FE mesh – *finite element mesh*

H&E – coloração de hematoxilina e eosina

i.e. – do latim: *id est*

Micro-CT – *computerized microtomography*

MPa - megapascal

N – *Newton*

PDL – *periodontal ligament*

RANK – *receptor activator of NF- κ B*

RANKL – *receptor activator of nuclear factor- κ B ligand*

ROI – *region of interest*

OPG – *osteoprotegerin*

STL – *stereolithographic format*

LISTA DE SÍMBOLOS

ε – letra grega *Épsilon*; *Strain(s)*

μ – letra grega *Mi*; micro; (10^{-6})

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 ARTIGO: Mechanobiological analysis of rat root tissue with occlusal trauma.....	21
3 CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS*	40
ANEXOS	44
ANEXO 1 - Comprovante de submissão.....	44
ANEXO 2 - Certificação do Comitê de Ética.....	45

1 INTRODUÇÃO

Anatomicamente, o periodonto é constituído por tecidos de recobrimento e de suporte do dente: gengiva, ligamento periodontal, cimento e osso alveolar. Fisiologicamente, ele é dividido em duas partes: a gengiva, cuja principal função é proteger os tecidos subjacentes, e o aparato de inserção, composto pelo ligamento periodontal, cimento e osso alveolar (Newman et al., 2011).

Embora o cimento seja um tecido mineralizado intimamente unido à dentina, ele é considerado como parte do periodonto porque, juntamente com o osso, serve de ancoragem para as fibras do ligamento periodontal (Newman et al., 2011).

A homeostasia do periodonto de inserção ocorre por contínuos processos de remodelação óssea, que consiste na reabsorção do tecido ósseo mineralizado e aposição de nova matriz (Foster et al., 2017). Do ponto de vista microscópico, essa homeostasia é o equilíbrio dinâmico entre as atividades de osteoblastos e osteoclastos que mantém a fisiologia normal do osso alveolar e da raiz do dente (Yusof e Ghazali, 1989; Hefti, 1993; Foster et al., 2017).

Ao passo em que o processo de remodelação é contínuo no osso alveolar, o cimento radicular não sofre remodelação, ocorrendo, no entanto, lenta deposição mineralizada em sua superfície, ao longo da vida (Berkovitz et al., 2004; Kumar, 2013; Yamamoto et al., 2016). O desequilíbrio fisiológico no periodonto de inserção pode resultar tanto em reabsorção óssea quanto em reabsorção radicular externa, com a perda de cimento e dentina (Yusof e Ghazali, 1989).

No que concerne a reabsorção radicular, há duas funcionalidades bem delimitadas: reabsorção radicular fisiológica e reabsorção radicular patológica (Gunraj, 1999; Cholia et al., 2005).

Nesse sentido, a esfoliação dos dentes decíduos decorre como resultado de reabsorção radicular fisiológica, mediada por odontoclastos (Harokopakis-Hajishengallis, 2007). Esse mecanismo é tido como resultante da tensão causada pelos dentes em processo de erupção sobre as raízes dos decíduos (Yusof e Ghazali, 1989; Cholia et al., 2005). A reabsorção radicular fisiológica é cíclica, alternando sua ocorrência com períodos de tentativa de reparação tecidual, até que ocorra grande mobilidade do dente decíduo e sua completa esfoliação. Por outro lado, o processo de reabsorção radicular em dentes permanentes é dependente de condições patológicas (Cholia et al., 2005).

A reabsorção do cimento pode ocorrer em condições patológicas por ação de cementoclastos mononucleados ou por células gigantes multinucleadas, encontradas

frequentemente em lacunas de Howship, na superfície cementária. Embora a origem dos cementoclastos ainda seja desconhecida, é possível que surjam da mesma maneira como os osteoclastos (Kumar, 2013), que dependem de modulação proteica do sistema RANK/RANKL/OPG para promoverem o processo de remodelação óssea (reabsorção e aposição) (Boyce e Xing, 2007).

A reabsorção radicular patológica depende, basicamente, de fatores locais (por exemplo: força ortodôntica excessiva, sobrecarga oclusal, pressão de dentes impactados ou supranumerários sobre outros dentes, tumores e cistos, infecção periapical de origem pulpar, granuloma periapical, doença periodontal, após reimplantação de dentes avulsionados, entre outras causas) ou de condições sistêmicas (por exemplo: hipoparatiroidismo, hiperparatiroidismo, doença de Paget, radioterapia, entre outras causas). Porém, há casos em que os estudos dessas causas não conduzem a um diagnóstico que estabeleça alguma correlação, sendo, assim, consideradas reabsorções idiopáticas (Newman, 1975; Andreasen, 1985; Yusof e Ghazali, 1989; Cholia et al., 2005; Lins et al., 2018).

A reabsorção radicular patológica é a perda de tecido mineralizado da dentina e/ou do cimento, que, quanto à etiologia, pode ser idiopática ou resultante de trauma dental, infecções da polpa, lesões ósseas, movimentação ortodôntica, dentes impactados, entre outras causas. Quanto à superfície do dente que foi acometida, essas reabsorções podem ser: interna ou externa (Lins et al., 2018).

O contato oclusal prematuro e o trauma oclusal, com ou sem infecção, podem causar inflamação que resultam em dor pulpar (Edens et al., 2016). Essas alterações da oclusão são consideradas um dos fatores etiológicos da hipersensibilidade da dentina, hipótese confirmada em indução experimental em humanos (Ikeda et al., 1998).

Fujii et al. (2014) desenvolveram um modelo experimental para investigar a resposta dos tecidos periodontais submetidos à força oclusal excessiva, em ratos. O modelo consistia em estabelecer condição de trauma oclusal em molares de ratos, pela inserção de pino metálico (parafuso) em primeiro molar superior e pelo concomitante incremento na altura da cabeça do parafuso, estabelecendo uma altura total de 0,5mm. Esses autores analisaram resultados experimentais de 4, 7 e 14 dias, além do grupo controle. Os resultados mostraram alterações histopatológicas evidenciando lesão de furca no molar inferior (dente antagonista), com aumento da densidade de células de núcleo arredondado imersas no ligamento periodontal (com pico no dia 4), células gigantes multinucleadas apareceram ao centro da lesão no dia 7, e, do dia 7 ao dia 14 ocorreu reabsorção óssea alveolar e de cimento com rápida expansão de

células gigantes multinucleadas, nesses tecidos mineralizados. Confirmando, portanto, a efetividade daquele modelo experimental.

As respostas mecanobiológicas dos tecidos periodontais ocorrem a partir da absorção e da dissipação de estímulos mecânicos, que são gerados pelas forças aplicadas sobre a estrutura rígida do dente. Sendo o ligamento periodontal uma articulação membranosas entre a porção radicular do dente e o osso alveolar, ele atua na modulação da adaptação óssea (processo de remodelação) frente a tensões mecânicas, a exemplo de forças de movimentação ortodôntica e trauma de oclusão. O ligamento periodontal atua dissipando as forças aplicadas sobre os dentes, em direção aos tecidos mineralizados aos quais se ancora (cimento e osso alveolar), gerando forças de tensão e de compressão (Dutra et al., 2016). Essa dinâmica é capaz de promover alterações em micronível (molecular e celular), que repercutem com efeitos em macroescala (variação da estrutura interna do osso e forma externa) (Lekszycki, 2005). Porém, os mecanismos que controlam esses processos mecanobiológicos continuam pouco compreendidos (Lekszycki, 2005; Boyce e Xing, 2007).

Do ponto de vista macroscópico, o diagnóstico daquelas reabsorções radiculares que não são detectadas ao exame clínico intraoral são, na maioria das vezes, perceptíveis por meio de exames de imagens (Tronstad, 1988; Cholia et al., 2005)

Estudos histopatológicos e imuno-histoquímicos têm sido utilizados para analisar o comportamento celular, nos tecidos de suporte do periodonto, e os mecanismos moleculares de reabsorções patológicas que guardam relação com condições de traumas de oclusão e movimentos ortodônticos (McCulloch et al., 2000; Walker et al., 2008; Fujii et al., 2014; Nakatsu et al., 2014).

Atualmente, a análise de elementos finitos pode ser empregada para avaliar a mecanobiologia dos tecidos em associação com estudos histopatológicos e imuno-histoquímicos e permite compreender a dissipação de forças de tensão e de compressão, aplicadas sobre os tecidos periodontais reconstruídos, tridimensionalmente, *in silico* (Viecilli et al., 2008; Cattaneo et al., 2009; Poiate et al., 2009).

Pesquisas histológicas, sobre os efeitos de diferentes estímulos mecânicos no periodonto, a exemplo do estresse mastigatório, movimentos ortodônticos e do trauma oclusal (Shiraishi et al., 2001; Viecilli et al., 2013; Nakatsu et al., 2014) evidenciam o processo fisiológico da remodelação óssea e também processos de reabsorções patológicas do cimento e do osso alveolar. Por sua vez, o método dos elementos finitos, no sentido de analisar estresses estruturais biomecânicos, tem se mostrado como uma técnica de alta precisão (Viecilli et al., 2013; Chou et al., 2015; Omori et al., 2015; Santos et al., 2015; Toro-Ibacache et al., 2016).

Nesse sentido, o método de elementos finitos é uma ferramenta útil na análise do estresse mecanobiológico que incide sobre as estruturas rígidas do periodonto que geram repercussões em nível celular e tecidual (Rudolph et al., 2001; Poiate et al., 2009).

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta mecanobiológica do tecido dental radicular, em primeiro molar inferior de ratos, submetidos à condição experimental de trauma oclusal dental.

2 ARTIGO: Mechanobiological analysis of rat root tissue with occlusal trauma

Artigo submetido ao periódico: *Journal of Applied Oral Science* (Anexo 1).

ABSTRACT

Tooth and periodontium are continuously subjected to mechanical forces capable of stimulating processes of bone remodeling. However, mechanical overloads directed to the periodontal tissues can promote pathological alterations, such as bone loss and root resorption. In order to evaluate the mechanobiological response of dental root tissue in the first molar of rats submitted to the experimental condition of occlusal dental trauma, fifteen male Wistar rats were randomly divided into two groups, an experimental group (n=10) and the control group (n=5). A set of resin and fragment of orthodontic wire was placed in the upper right first molar of each rat of the experimental group, in order to establish occlusal trauma condition. The experimental group was divided into two subgroups, according to the date of euthanasia, which was 7 days (n=5) and 14 days (n=5), after the installation of the traumatic device. The control group was not submitted to occlusal trauma and their subjects were euthanized on the 14th day, together with an experimental subgroup. Histological samples were obtained from the lower right first molars and the periodontium of the rats. The finite element model was used to simulate occlusal overload (40 N) and to simulate normal occlusion (20 N). The results demonstrated compatibility between the pattern of external root resorption and the finite element analysis. The most affected areas were furcation region and distal root cementum of lower right first molars, in the experimental group. There was no significant change in the control group. The comparative mechanobiological evaluation between the findings of the finite element analysis and the histological findings show similarities in areas affected by the computationally simulated tensions and the areas of histological external root resorption. In addition to occlusal overloads, other variables such as tooth morphology and mandibular movements may interfere with biomechanical responses.

Keywords: Traumatic dental occlusion; Finite Element Analysis; Root resorption.

1 INTRODUCTION

The periodontal ligament (PDL) is the only tissue that joins two different mineralized tissues – the alveolar bone and the cementum, providing an important mechanism of absorbing forces generated by the masticatory effort (Nozaki et al., 2010; Foster et al., 2017).

Mechanical stimuli on the rigid tooth structure are absorbed, dissipated by the PDL (Dutra et al., 2016) and promote functional adaptation and renewal in the bone. This renewal consists of bone remodeling, responding to the mechanical stresses in the bone tissue. It is a complex, highly organized and regulated process and it is composed of events in micro-level (molecular and cellular) that have repercussions with macroscale effects (variation of internal bone structure and external shape). However, the mechanisms controlling its initiation, progression, and cessation remain poorly understood (Lekszycki, 2005; Boyce & Xing, 2007).

Functional adaptation of the alveolar bone, resulting from biomechanical stimuli such as orthodontic movement, traumatic occlusion and application of load on dental implants, can be clinically understood from *in vivo* and *in vitro* studies. (Romanos et al., 2002; Ho et al., 2010; Lin et al., 2013; Lin et al., 2017). In these cases, histological and immunohistochemical studies suggest the important role of occlusion stimuli, in the maintenance of the functional alveolar structure and in the regulation of rat alveolar bone remodeling. (Enokida et al., 2005; Goto et al. 2011).

Overloads exerted on tooth structure that exceed the ability of bone remodeling, induce biochemical pathways go towards periodontal hard tissues resorption (Viecilli et al., 2008; Yamaguchi, 2009; Nakatsu et al., 2014). In this sense, occlusal trauma is an etiological factor responsible for starting biomechanical process that is associated to bone loss and tooth root resorption (Fujii et al., 2014; Nakatsu et al., 2014).

Immunohistochemical mechanisms involving formation and activity of osteoclasts, odontoclasts and cementoclasts are not completely clear. However, these clastic cells are morphologically and functionally similar, and are responsible for resorption of mineralized tissue (bone, dentine and cementum) (Walker et al., 2008; Iglesias-Linares & Hartsfield, 2017; Li et al., 2017; Kaval et al., 2018). Fujii et al. (2014) established an *in vivo* model to study the response of periodontal tissues to excessive occlusal loading in mice, by observing histopathological changes.

Indirectly, alveolar bone and dental cementum, through PDL, receive forces exerted on the teeth during mastication (Poiate et al., 2009; Naveh et al., 2012). This mechanical tension in the alveolar process is superior to that in the long bones when in function (Mavropoulos et al., 2010). The peak of functional stresses in long bones varies from less than –1000 microstrain

($\mu\epsilon$) during walking, and -2000 to -3000 $\mu\epsilon$, during more vigorous activities, being able to reach peaks of -5000 $\mu\epsilon$ when galloping in horse racing (Fritton & Rubin, 2001; Ehrlich & Lanyon, 2002; Mavropoulos et al., 2010). Finite element analysis (FEA) indicates that during mastication, the tension in the alveolar bone can reach up -4000 to -6000 $\mu\epsilon$, according to the consistency of food (Mavropoulos et al., 2010).

These values represent the deformation that bone normally undergoes, while helping to define parameters, within which *in vitro* studies should be designed for *in silico* analysis. However, while these are the normal deformation parameters, the “active subset” of the deformation environment at which bone cells are actually responsive remains undefined and may be very different from the global deformation data determined from *in vivo* measurement (Ehrlich & Lanyon, 2002).

According to Gunraj (1999), as a consequence of traumatic injuries, root resorption can occur as three different types: surface, inflammatory and replacement resorption. The surface (or transient) resorption is limited and occurs with any injury to the PDL or cementum. Its resorptive defect is usually very small, so that, on radiographic examination, it will likely appear normal. The inflammatory resorption is related to more severe cases of trauma, or in cases in which the resultant inflammatory response is more intense. In this type, the damage to the cementum is able to expose dentine to inflammatory resorptive cells (macrophages and osteoclasts) within the PDL and alveolar bone. Lastly, in dental injuries (luxation or avulsion) with loss of viability of PDL cells or extensive damage to the ligament occurred because of drying or inappropriate storage, complications during healing occur in the interface tooth/socket. So, instead of connective tissue cells participating in PDL repair, cells of the alveolar bone replace the periodontal attachment and continue to resorb the root, gradually replacing it with alveolar bone.

The resorptive cells (osteoclasts, cementoclasts and odontoclasts) are necessary for physiological root resorption, during tooth eruption. On the other hand, if their activity produces permanent tooth internal or external resorption, irreversible damages to the tooth hard tissues will occur (Wang & McCauley, 2011).

The aim of this study was to evaluate the mechanobiology of root dental tissue, in lower first molar of rats, underwent to experimental condition of traumatic occlusion.

2 MATERIALS AND METHODS

This study was approved by the Committee for Ethics in Animal Experimentation of the Institute of Biology/State University of Campinas (Protocol number CEUA-IB-UNICAMP-3661-1).

2.1 Sample characterization

Fifteen male Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*), weighing about 250–350 g, obtained from Multidisciplinary Center for Biological Research (CEMIB) of the State University of Campinas (Campinas, São Paulo, Brazil), were kept in group of five individuals per cage, with controlled temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) and light-dark cycle (12/12h) and free access to water and feed. All experiments were conducted in accordance to the guidelines of National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA). The animals were randomly divided in two groups. The experimental group was designed according to Rossi et al. (2017).

In order to establish a condition of dental occlusal trauma, a fragment of orthodontic wire of 1 mm in diameter was unilaterally cemented with composite (Fill Magic[®]–Vigodent, Brazil), in ten rats (upper right first molar). This experimental group with 10 individuals (group 1, n=10) was divided in two subgroups (n=5). Five of those animals were euthanized 7 days after placing a wire/composite set on the occlusal surface of their upper right first molars. The other five rats, under the same condition of experimental occlusal trauma, were euthanized 14 days after the installation of the wire/composite set.

The animals of the control group (group 2, n=5) had their teeth kept without the experimental occlusal trauma condition (wire/composite sets were not placed).

2.2 Procedures

The procedure was carried out under general anesthesia using injection of ketamine hydrochloride (40-87 mg/kg) (Dopalen[®], Agribands Brazil Ltda., Paulínia, São Paulo, Brazil), by intraperitoneal injection, and muscle relaxant xylazine hydrochloride (5-13 mg/kg) (Anasedan[®], Sespo Ind. Co. Ltda, Paulínia, São Paulo, Brazil), by intramuscular injection. The condition of traumatic occlusion was performed by placing a wire/composite set on occlusal surface of upper right first molar in the animals of group 1. This technique was adapted from Kumazawa et al. (1995), according to Rossi et al. (2017).

2.2.1 Sample preparation and histological examination

At 7 and 14 days after placing wire/composite sets, the rats of group 1 (experimental group) were euthanized by excessive anesthesia. The five animals of control group were also euthanized at 14 days. The heads were disarticulated, dissected to separate mandibles, then, fixed in 10% neutral buffered formalin solution, during 24h at 4°C. The 15 mandibles were

demineralized in 5% EDTA (Life Science Research Products. AMRESCO Products) for 42 days, dehydrated in increasing series of alcohol and embedded in paraffin. Buccolingual serial sections of 6 μm thickness were prepared (rotary microtome Leica RM2235, Leica Systems, USA) and stained in hematoxylin-eosin (H&E).

Histological changes of the root cementum of the lower right first molar and its surrounding periodontal tissues were observed under a light microscope connected to a camera (Nikon Eclipse 80i, Shinagawa, Tokyo, Japan). In order to evaluate the root cementum tissue the histological images obtained were delimited by two yellow dashed lines that divide each image in three anatomical thirds: mesial root (one third), furcation site (one third) and distal root (one third).

2.3 Finite element analysis

2.3.1 Geometry acquisition

To obtain a high accurate geometry in a microscopic level, the structures were reduced to the upper and lower first molars and their support structures (alveolar bone and periodontal ligament). From micro-CT images, the 3D surfaces were constructed using the software Materialise MIMICS Research v18 (Materialise, Leuven, Belgium). The surfaces were obtained from segmentation based in the pixel marking by gray values threshold. The final structure was composed by alveolar bone (supporting the upper and lower first molars), filled periodontal and pulpal spaces (representing the periodontal ligament and pulp) and the upper and lower molar teeth. To construct the geometry of the experimental group, the 3D surfaces of resin and orthodontic wire fragment cemented on the upper right first molar were created using the CAD software Rhinoceros 3D 5.0 (McNeel & Associates, USA). Thus, two groups of 3D surfaces were designed featuring the control and experimental groups (figure 1). To conclude the geometry acquisition, all 3D surfaces were exported as stereolithographic format (STL).

2.3.2 Finite element model and FEA

The two groups of 3D surfaces were imported in the software Materialise 3-Matic Research v10 (Materialise, Leuven, Belgium), where the surfaces were converted to volumetric meshes (FE meshes), composed by tetrahedral elements (figure 1).

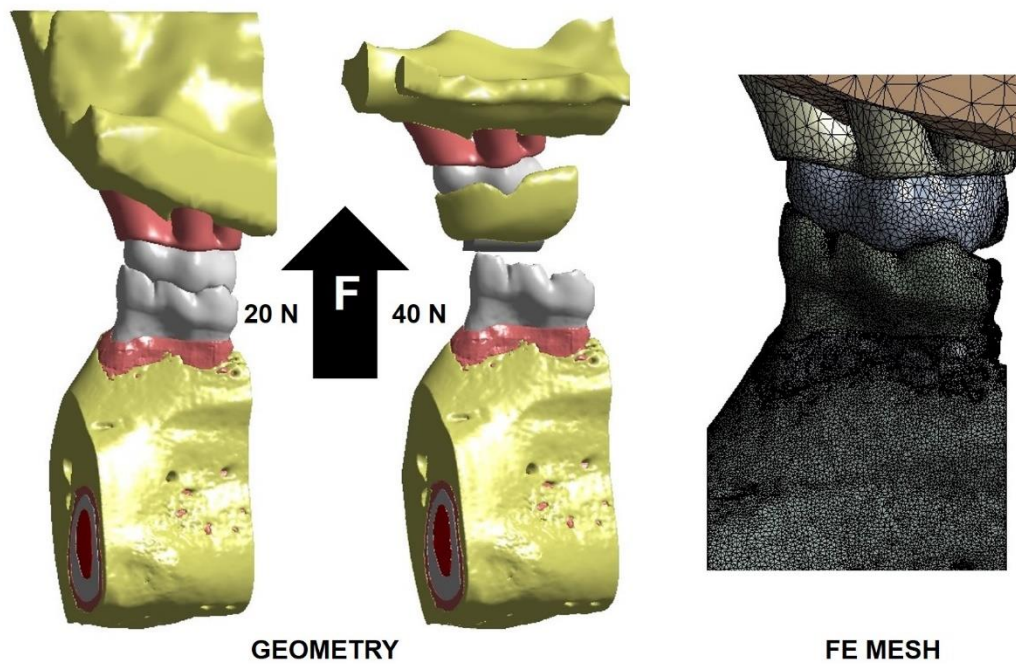


Figure 1. Geometries of control (normal occlusion) and experimental (occlusal overload by premature contact – note the presence of cemented orthodontic wire fragment) groups. The finite element mesh (FE mesh) shows the tetrahedral elements of control group. The black arrow represents the biting force of control group (20 N) and experimental group (40 N) during the simulation. The force was simulated on the Z axis.

The models were imported in the software Ansys v17 Structural Mechanics (Ansys, Inc., USA) and the structures were assigned according to their mechanical properties (table 1), which all models were considered as linear elastic and isotropic.

Table 1. Mechanical properties containing the elastic modulus (in MPa) and Poisson's ratio.

Structures	Mechanical Properties	
	Elastic modulus	Poisson's ratio
Tooth ¹	30000	0.3
Periodontal ligament ²	50	0.4
Pulp ²	2	0.4
Alveolar bone ¹	19920	0.3
Resin ³	16600	0.24
Stainless steel (wire fragment) ⁴	19500	0.3

¹Cox et al., 2012

²Rayfield, 2017

³Willems et al., 1992

⁴Ansys v17 database

The analysis was set to simulate a molar biting in normal occlusion (control group; figure 1) and traumatic overload occlusion (experimental group; figure 1). Furthermore, the molar bite force was set as 20 N magnitude directed to the upper right first molar, which features the normal occlusal contact, *i.e.* without significant bone remodeling changes (Nozaki et al., 2010). In the occlusal overload condition, the lower right first molar was directed to the upper molar on the premature contact (cemented orthodontic wire) with a bite force set as 40 N, featuring the dental traumatic occlusion, whose effects were described (Nozaki et al., 2010). Restraints were applied on the cutting planes of the blocks to keep the stability of models during biting force action.

After processing stage the results were obtained from the calculation of the minimum principal strain, which the values mean the compressive strain in the structure. In order to evaluate the results, a region of interest (ROI) was determined: the dental structure of mesial root, furcation site and distal root in contact to the periodontal tissue (ROI). The pulp tissue was also evaluated. The compressive strains were evaluated qualitatively following an interval of strain values scale, which are expressed by negative values of microstrain ($\mu\epsilon$). The compressive strain configuration in the dental tissue allows to figure out the mechanical influence in biological response. Thus, the results from FEA were associated to the histological characterization analysis.

3 RESULTS

3.1 Finite element analysis

Regarding the compressive strain in all molar structure, the control group presented lower compressive strains and uniform distribution whereas the experimental group presented higher compressive strain and non-uniform distribution. The figure 2 (Experimental) shows high compression on the dental occlusal surface and pulp tissue.

According to the ROI in the control group, the mesial root presented the lowest compressive strains ranging from $-9 \times 10^{-4} \mu\epsilon$ to $-1.5 \times 10^{-3} \mu\epsilon$. The furcation site presented compressive strains ranging from $-9 \times 10^{-4} \mu\epsilon$ to $-2 \times 10^{-3} \mu\epsilon$ and the distal root presented the highest compressive strains ranging from $-9 \times 10^{-4} \mu\epsilon$ to $-2.5 \times 10^{-3} \mu\epsilon$.

In the experimental group, at the occlusal surface the highest compressive strain areas are located in the mesial side. According to the ROI – the roots and furcation site – the distal root presented the highest compressive strain ranging from $-1.5 \times 10^{-3} \mu\epsilon$ to $-3.5 \times 10^{-3} \mu\epsilon$, the furcation site presented compressive strain ranging from $-1.5 \times 10^{-3} \mu\epsilon$ to $-2.5 \times 10^{-3} \mu\epsilon$ and the mesial root presented the lowest compressive strain ranging from $-9 \times 10^{-4} \mu\epsilon$ to $-2 \times$

$10^{-3} \mu\epsilon$. The pulp tissue presented higher strain in the distal root canal than in the mesial root canal (figure 2).

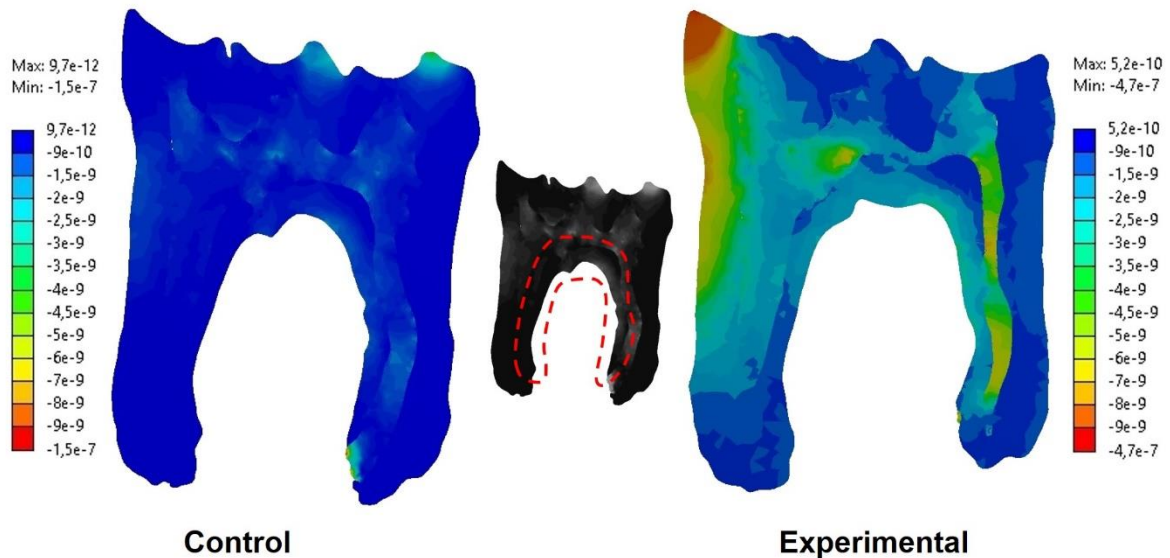


Figure 2. Minimum principal strain results of control and experimental groups in longitudinal cut view, which was located at the central site of the tooth. The negative values indicate compressive strains and each color indicate interval of values. In exception of minimum and maximum values, all intermediary values are the same in both scales. The red dashed area indicates the region of interest (ROI).

The computational results from FEA presented the increase of compressive strains in the condition of occlusal trauma and the presence of root resorption in the histologic group. These findings are important to establish the relation between the mechanical and histological changes in this situation.

3.2 Histological analysis

The histological analyses are shown in figure 3. The samples from the control group showed histological signs of maintenance of the anatomical conformation and continuity of the root cementum (figure 3-A).

On the other hand, samples from the 7 and 14-day subgroups (figure 3 – B and C, respectively) showed signs of cementum resorption. It is possible to examine, in these two samples, inflammatory infiltrate in the periodontal ligament and in the pulpal tissue (Figure 3-C, distal root). The black arrows point to agglomerations of cementoclasts, where external root resorption occurred.

As the histological images of the region of interest (ROI) are two-dimensional, they were delimited into three thirds: mesial, middle (highlighting the furcation site) and distal.

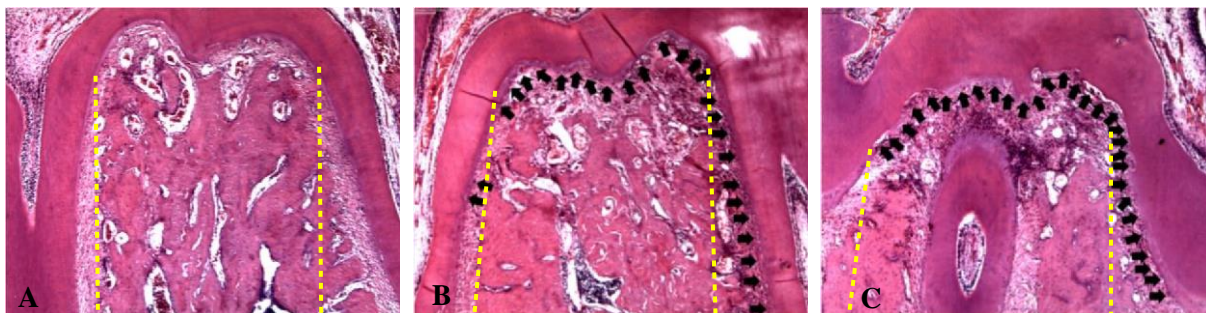


Figure 3. Histological findings in the region of interest (ROI) of the control group (A), sample of the 7-day experimental subgroup (B) and sample of the 14-day experimental subgroup (C). Region of the periodontium apparatus of lower right first molar. Each sample is divided in three thirds, and the yellow dashed line seen on the left, delimits mesial root; between the two yellow dashed lines it is seen the furcation region, and the yellow dashed line seen on the right delimits distal root. (H&E, original magnification, $\times 5$)

4 DISCUSSION

Mechanical stimuli on the tooth establish a chain reaction called mechanotransduction, mediated by certain cells of periodontal tissues, once the periodontal ligament dissipates the loads (Wan et al., 2012; Dutra et al., 2016). The physical stimulus is detected by cells that convert it into biochemical signal, starting bone remodeling or even activating clastic cells (*e.g.*, osteoclasts and cementoclasts) responsible for bone loss and root resorption (Wan et al., 2012; Fujii et al., 2014; Babaji et al., 2017).

Root resorptions may occur due to physiological process (when primary teeth are undergoing exfoliation), local factors (*e.g.*, occlusal trauma, orthodontic pressure) and systemic condition (*e.g.*, tumor pressure, Paget's disease). But it is also possible to come across with idiopathic root resorptions (Yusof & Ghazali, 1989; Cholia et al., 2005).

In the current study, control group (figure 3-A) did not present resorptive lacunae in tooth hard tissues (dentine/cementum), while the experimental specimens (figure 3-B and C) showed cementum resorption strongly concentrated in middle and in distal thirds of the ROI. External root resorption associated to occlusal trauma has been reported in other studies (Yusof & Ghazali, 1989; Gunraj, 1999; Fuss et al., 2003; Cholia et al., 2005).

Comparing the 7-day group (figure 3-B) to the 14-day group (figure 3-C), the gaps created by cementoclasts are more evident in figure 3-C than in figure 3-B, probably due to the maintenance of inflammatory response (Graves, 2008; Huynh et al., 2017).

Many studies concerning occlusal trauma have demonstrated that overloads are able to generate bone loss and/or root resorption (Kantor et al., 1976; Ne et al., 1999; Boyce & Xing, 2007; Wan et al., 2012), however the molecular mechanism of osteoclastogenesis, cementoclastogenesis and odontoclastogenesis is still controversial (Ne et al., 1999; Oka et al.

2007; Walker et al., 2008; Kumar, 2013; Babaji et al., 2017; Li et al., 2017; Iglesias-Linares & Hartsfield, 2017; Kaval et al., 2018).

Regarding de high strain distribution in the distal root pulp in our finite element analysis, it is possible to assume that the pulpal mechanobiological response may be somehow associated to the external root resorption. This assumption seems to be reasonable once inside dentin tubules there are odontoblasts able to secret RANKL molecules, then stimulating cementoclastogenesis (Goldberg et al., 2011; Sojod et al., 2017).

In the present research, finite element analysis (FEA) was performed in order to evaluate the compressive strain distribution along the furcation and roots of a rat lower right first molar model.

Loads were applied to simulate normal occlusion force (set in 20 N) and experimental traumatic occlusion (set in 40 N).

The FEA demonstrated that the control group simulation presented lower compressive strains and uniform distribution (figure 2; graphically represented in blue). This result is related to the preservation of normal occlusal anatomy of control group. On the other hand, the experimental group presented higher compressive strain and non-uniform distribution. This finding is represent by the wide variation of colors in the graphic (figure 2).

The experimental finite element model, seen in figure 2, shows high compression on the dental occlusal surface and pulp tissue. This finding seems to be related to the anatomy of the rat molars and its physiological mandible movements.

The elliptical path of the mandible results in upward and forward movement of the mandibular molars during mastication (Hiemäe & Ardran, 1968; Weijs, 1975). The opposing maxillary molars are speculated to displace both vertically into and mesially within the alveolar socket (Lin et al., 2013). This theory is compatible with our findings in the finite element model that demonstrated occlusal trauma on the anterior region of the mesial cusp, generating high stress in the mesial side of the tooth and in the furcation region.

Our FEA results, concerning de ROI (figure 2), indicate that the highest compressive strains affected distal (ranging from $-1.5 \times 10^{-3} \mu\epsilon$ to $-3.5 \times 10^{-3} \mu\epsilon$) and middle thirds (ranging from $-1.5 \times 10^{-3} \mu\epsilon$ to $-2.5 \times 10^{-3} \mu\epsilon$). Whereas, the mesial third presented the lowest compressive strain ranging from $-9 \times 10^{-4} \mu\epsilon$ to $-2 \times 10^{-3} \mu\epsilon$. These findings may be explained by the rat physiological movements of the mandible, during mastication under premature contact (causing occlusal trauma), which corroborate to previous studies (Hiemäe & Ardran, 1968; Weijs, 1975; Lin et al., 2013).

Another observation was the pulp tissue also presented higher strain in the distal root canal than the mesial root canal (figure 2). This finding may suggest, in such conditions, that occlusal trauma can cause pulpal mechanobiological response.

In the present study, the histological findings indicate external root resorption most affected middle and distal thirds (figure 3-A, B and C). The FEA results show higher compressive strain distribution in experimental model than in control group.

The present FEA shows the load applied on the lower right first molar, initially through a premature contact in the finite element model (experimental model), generated compressive strains strongly concentrated on the mesial side of the occlusal surface, and also in the furcation and distal root. These findings have showed results that may be cautiously compared to those of other studies (Jeon et al., 1999; Li et al., 2007; Roscoe et al., 2014), considering that cervical third of the root seemed to be at higher risk of root resorption. However, Jeon et al. (1999), Li et al. (2007) and Roscoe et al. (2014) had studied orthodontic forces, instead of occlusal trauma in lower first molars of rats.

The strains observed in the tooth roots (ROI) of our finite element model (FEM) can be compared to our histological findings, as seen in both figures 2 and 3. The histological findings present root resorption and inflammatory process among components of periodontal ligament. According to Dorow & Sander (2005), root resorption depends on individual biological effects, but the forces directly applied on the tooth play an important role in cases of root resorption. Those authors also state, considering their results, that resorption occurred when the hydrostatic stress exceeded capillary blood pressure in the periodontal ligament. Other two conditions must be considered that may cause a pattern of root resorption when teeth are undergoing occlusal trauma: the tooth morphology and the physiological mandible movements (Hiemäe & Ardran, 1968; Weijjs, 1975; Lin et al., 2013).

Kamble et al. (2012) investigated stress distribution in the roots of human upper central incisors with various types of root morphologies. They simulated orthodontic forces for different tooth movement using the FEM. Even though they had studied teeth without furcation, they analyzed the stress distribution pattern indicates that the maxillary central incisors with deviated root morphology are at higher risk of root resorption.

Comparing the FEA results (figure 2) to the external root resorption (seen in figure 3-B and C), it is possible to compare the teeth areas with extensive loss of rigid structure (cementum) to those areas of the computational analysis (compressive strain areas).

The present FEA results allow us to hypothesize how the dissipation of stress and tension generated by overloads occurs, seeming to be useful for understanding in histological examinations of mechanobiological responses to occlusal trauma.

Depending on the mechanical stimuli, bone remodeling or bone loss and root resorption will occur as local effects (Walker et al., 2008; Dutra et al., 2016). Considering this, it is possible to infer that anatomical shape of tooth root can be related to the manner of the rigid dental structure receives the loads and then how periodontal ligament dissipates the stress towards alveolar bone and cementum.

Therefore, in addition to the forces exerted on the teeth, other conditions shall be studied, such as the influence of the root morphology of the teeth and the influence of physiological mandibular movements.

There is a lack of research on evaluating occlusal trauma and its repercussions in the periodontal tissues, by means of the analysis of finite elements and histological studies, simultaneously.

5 CONCLUSION

The present comparative mechanobiological evaluation between the finite element analysis and the histological findings shows similarities regarding the areas affected by high compressive strains, computationally, simulated and the areas of external root resorption.

REFERENCES

- Babaji P, Devanna R, Jagtap K, et al. The cell biology and role of resorptive cells in diseases: A review. *Ann Afr Med.* 2017 Apr-Jun;16(2):39-45. doi: 10.4103/aam.aam_97_16.
- Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther.* 2007 Jun 29, 9(Suppl 1):S1. doi: 10.1186/ar2165.
- Cholia SS, Wilson PH, Makdissi J. Multiple idiopathic external apical root resorption: report of four cases. *Dentomaxillofac Radiol.* 2005 Jul;34(4):240-6. doi: 10.1259/dmfr/74146718.
- Cox PG, Rayfield EJ, Fagan MJ, Herrel A, Pataky TC, Jeffery N. Functional evolution of the feeding system in rodents. *PLoS One.* 2012;7(4):e36299. doi: 10.1371/journal.pone.0036299. Epub 2012 Apr 27.

Dorow C, Sander FG. Development of a model for the simulation of orthodontic load on lower first premolars using the finite element method. *J Orofac Orthop*. 2005 May;66(3):208-18.

Dutra EH, Nanda R, Yadav S. Bone Response of Loaded Periodontal Ligament. *Curr Osteoporos Rep*. 2016 Dec;14(6):280-3. doi: 10.1007/s11914-016-0328-x.

Enokida M, Kaneko S, Yanagishita M, Soma K. Influence of Occlusal Stimuli on the Remodelling of Alveolar Bone in a Rat Hypofunction-recovery model. *J Oral Biosci*. 2005;47(4):321–34. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1349-0079\(05\)80015-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1349-0079(05)80015-5).

Ehrlich PJ, Lanyon LE. Mechanical strain and bone cell function: a review. *Osteoporos Int*. 2002 Sep;13(9):688-700.

Foster BL, Ao M, Salmon CR, et al. Osteopontin regulates dentin and alveolar bone development and mineralization. *Bon*. 2017 Dec 3. pii: S8756-3282(17)30444-1. doi:10.1016/j.bone.2017.12.004.

Fritton SP, Rubin CT. In vivo measurement of bone deformations using strain gauges. In: Cowin SC, eds. *Bone mechanics handbook*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2001:8-10–8-34.

Fujii T, Takaya T, Mimura H, et al. Experimental model of occlusal trauma in mouse periodontal tissues. *J Hard Tissue Biol*. 2014;23(3):377-80. doi: 10.2485/jhtb.23.377

Fuss Z, Tsisis I, Lin S. Root resorption-diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors. *Dent Traumatol*. 2003 Aug;19(4):175-82.

Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: Structure, Composition and Mineralization The role of dentin ECM in dentin formation and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011 Jan 01;(3):711–735.

Goto KT, Kajiya H, Nemoto T, Tsutsumi T, Tsuzuki T, Sato H, et al. Hyperocclusion stimulates osteoclastogenesis via CCL2 expression. *J Dent Res*. 2011 Jun;90(6):793-8. doi: 10.1177/0022034511400742. Epub 2011 Mar 10.

Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2008 Aug;79(8 Suppl):1585-91. doi: 10.1902/jop.2008.080183.

Gunraj MN. Dental root resorption. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999 Dec;88(6):647-53.

Hiiemäe K, Ardian G M. A cinefluorographic study of mandibular movement during feeding in the rat. *J. Zool.* 1968;154:139-54.

Ho SP, Kurylo MP, Fong TK, Lee SS, Wagner HD, Ryder MI, et al. The biomechanical characteristics of the bone-periodontal ligament-cementum complex. *Biomaterials.* 2010 Sep;31(25):6635-46. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.05.024. Epub 2010 Jun 11.

Huynh NC, Everts V, Pavasant P, Ampornaramveth RS. Interleukin-1 β induces human cementoblasts to support osteoclastogenesis. *Int J Oral Sci.* 2017 Dec 13;9(12):e5. doi: 10.1038/ijos.2017.45.

Iglesias-Linares A, Hartsfield JK Jr. Cellular and Molecular Pathways Leading to External Root Resorption. *J Dent Res.* 2017 Feb;96(2):145-152. doi: 10.1177/0022034516677539. Epub 2016 Nov 5.

Jeon PD, Turley PK, Moon HB, et al. Analysis of stress in the periodontium of the maxillary first molar with a three-dimensional finite element model. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999 Mar;115(3):267-74.

Kamble RH, Lohkare S, Hararey PV, et al. Stress distribution pattern in a root of maxillary central incisor having various root morphologies: a finite element study. *Angle Orthod.* 2012 Sep;82(5):799-805. doi: 10.2319/083111-560.1. Epub 2012 Feb 6.

Kantor M, Polson AM, Zander HA. Alveolar bone regeneration after removal of inflammatory and traumatic factors. *J Periodontol.* 1976 Dec;47(12):687-95.

Kaval ME, Güneri P, Çalışkan MK. Regenerative endodontic treatment of perforated internal root resorption: a case report. *Int Endod J*. 2018 Jan;51(1):128-137. doi: 10.1111/iej.12784. Epub 2017 May 29.

Kumar GS, editor. *Orban's Oral Histology and Embriology*. 13. ed. Tamil Nadu: Elsevier; 2013.

Kumazawa M, Kohsaka T, Yamasaki M, Nakamura H, Kameyama Y. Effect of traumatic occlusion on periapical lesions in rats. *J Endod*. 1995;21(7):372-5.

Lekszycki T. Functional adaptation of bone as an optimal control problem. *J. Theoret. Appl. Mech*. 2005, 43(3)120–40.

Li C, Qi WT, Jiang HW. Odontoclastogenesis of mouse papilla-derived MDPC-23 cells induced by lipopolysaccharide. *Int Endod J*. 2017 Mar 23. doi: 10.1111/iej.12771. [Epub ahead of print]

Li P, Mao J, Peng Z. Three-dimensional finite element analysis of the mechanical stress on root from orthodontic tooth movement by sliding mechanics. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2007 Dec;27(6):745-7. doi: 10.1007/s11596-007-0634-8.

Lin JD, Özcoban H, Greene JP, Jang AT, Djomehri SI, Fahey KP, et al. Biomechanics of a bone-periodontal ligament-tooth fibrous joint. *J Biomech*. 2013 Feb 1;46(3):443-9. doi: 10.1016/j.jbiomech.2012.11.010. Epub 2012 Dec 7.

Lin JD, Jang AT, Kurylo MP, Hurng J, Yang F, Yang L, et al. Periodontal ligament entheses and their adaptive role in the context of dentoalveolar joint function. *Dent Mater*. 2017 Jun;33(6):650-666. doi: 10.1016/j.dental.2017.03.007. Epub 2017 May 2.

Mavropoulos A, Odman A, Ammann P, Kiliaridis S. Rehabilitation of masticatory function improves the alveolar bone architecture of the mandible in adult rats. *Bone*. 2010 Sep;47(3):687-92. doi: 10.1016/j.bone.2010.06.025. Epub 2010 Jun 30.

Nakatsu S, Yoshinaga Y, Kuramoto A, et al. Occlusal trauma accelerates attachment loss at the onset of experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res*. 2014 Jun;49(3):314-22. doi: 10.1111/jre.12109. Epub 2013 Jul 1.

Naveh GR, Shahar R, Brumfeld V, Weiner S. Tooth movements are guided by specific contact areas between the tooth root and the jaw bone: A dynamic 3D microCT study of the rat molar. *J Struct Biol*. 2012 Feb;177(2):477-83. doi: 10.1016/j.jsb.2011.11.019. Epub 2011 Nov 22.

Ne RF, Witherspoon DE, Gutmann JL. Tooth resorption. *Quintessence Int*. 1999 Jan;30(1):9-25.

Nozaki K, Kaku M, Yamashita Y, Yamauchi M, Miura H. Effect of cyclic mechanical loading on osteoclast recruitment in periodontal tissue. *J Periodontal Res*. 2010 Feb;45(1):8-15. doi: 10.1111/j.1600-0765.2008.01193.x. Epub 2009 Jul 8.

Oka H, Miyauchi M, Sakamoto K, et al. PGE2 activates cementoclastogenesis by cementoblasts via EP4. *J Dent Res*. 2007 Oct;86(10):974-9.

Poiate IA, de Vasconcellos AB, de Santana RB, et al. Three-dimensional stress distribution in the human periodontal ligament in masticatory, parafunctional, and trauma loads: finite element analysis. *J Periodontol*. 2009 Nov;80(11):1859-67. doi: 10.1902/jop.2009.090220.

Rayfield EJ. Finite element analysis and understanding the biomechanics and evolution of living and fossil organisms. *Ann Rev Earth Planet Sci*. 2007; 35:541–576.

Romanos GE, Toh CG, Siar CH, Swaminathan D. Histologic and histomorphometric evaluation of peri-implant bone subjected to immediate loading: an experimental study with *Macaca fascicularis*. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002 Jan-Feb;17(1):44-51.

Roscoe MG, Meira JBC, Dalstra M, et al. Orthodontic loading influence on root resorption susceptibility: Finite element analysis. *Dent Mater*. 2014;30 Suppl 1:e100. doi: 10.1016/j.dental.2014.08.203.

Rossi AC, Freire Ar, Okamoto R, Costa ST, Botacin PR, Prado FB. Mechanical and biological response of alveolar bone with tooth under traumatic occlusion in rats: experimental analysis associated to computer simulation. *FASEB J.* 2017;31:577.11.

Sojod B, Chateau D, Mueller CG, Babajko S, Berdal A, Lézot F, et al RANK/RANKL/OPG Signalization implication in periodontitis: new evidence from a RANK transgenic mouse model. *Front. Physiol.*, 2017 May 24;8:338. doi: 10.3389/fphys.2017.00338

Viecilli RF, Katona TR, Chen J, et al. Three-dimensional mechanical environment of orthodontic tooth movement and root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2008 Jun;133(6):791.e11-26. doi: 10.1016/j.ajodo.2007.11.023.

Walker CG, Ito Y, Dangaria S, et al. RANKL, osteopontin, and osteoclast homeostasis in a hyperocclusion mouse model. *Eur J Oral Sci.* 2008 Aug;116(4):312-8. doi: 10.1111/j.1600-0722.2008.00545.x.

Wan HY, Sun HQ, Sun GX, et al. The early phase response of rat alveolar bone to traumatic occlusion. *Arch Oral Biol.* 2012 Jun;57(6):737-43. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.01.002. Epub 2012 Jan 31.

Wang Z, McCauley LK. Osteoclasts and odontoclasts: signaling pathways to development and disease. *Oral Dis.* 2011 Mar;17(2):129-42. doi: 10.1111/j.1601-0825.2010.01718.x.

Weijjs WA, Dantuma R. Electromyography and mechanics of mastication in the albino rat. *J Morphol.* 1975 May;146(1):1-33. doi: 10.1002/jmor.1051460102.

Willems G, Lambrechts P, Braem M, Celis JP, Vanherle G. A classification of dental composites according to their morphological and mechanical characteristics. *Dent Mater.* 1992 Sep;8(5):310-9.

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

Yusof VZ, Ghazali MN. Multiple external root resorption. *J Am Dent Assoc.* 1989 Apr;118(4), 453–5.

3 CONCLUSÃO

A reabsorção radicular externa foi diagnosticada histologicamente, no presente estudo, envolvendo região de furca e cimento de raiz distal; sendo compatível com os achados do trauma de oclusão simulado computacionalmente com elementos finitos.

REFERÊNCIAS*

Andreasen JO. External root resorption: its implication in dental traumatology, paedodontics, periodontics, orthodontics and endodontics. *Int Endod J.* 1985 Apr;18(2):109-18.

Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ, editores. *Anatomia, embriologia e histologia bucal.* 3. ed. Porto Alegre: Artmed; 2004.

Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther.* 2007 Jun 29, 9(Suppl 1):S1. doi: 10.1186/ar2165.

Cattaneo PM, Dalstra M, Melsen B. Strains in periodontal ligament and alveolar bone associated with orthodontic tooth movement analyzed by finite element. *Orthod Craniofac Res.* 2009 May;12(2):120-8. doi: 10.1111/j.1601-6343.2009.01445.x.

Cholia SS, Wilson PH, Makdissi J. Multiple idiopathic external apical root resorption: report of four cases. *Dentomaxillofac Radiol.* 2005 Jul;34(4):240-6. doi: 10.1259/dmfr/74146718.

Chou HY, Satpute D, Müftü A, et al. Influence of mastication and edentulism on mandibular bone density. *Comput Methods Biomech Biomed Engin.* 2015;18(3):269-81. doi: 10.1080/10255842.2013.792916. Epub 2013 May 20.

Dutra EH, Nanda R, Yadav S. Bone Response of Loaded Periodontal Ligament. *Curr Osteoporos Rep.* 2016 Dec;14(6):280-3. doi: 10.1007/s11914-016-0328-x.

Edens MH, Khaled Y, Napeñas JJ. Intraoral Pain Disorders. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2016 Aug;28(3):275-88. doi: 10.1016/j.coms.2016.03.008.

Foster BL, Ao M, Salmon CR, et al. Osteopontin regulates dentin and alveolar bone development and mineralization. *Bon.* 2017 Dec 3. pii: S8756-3282(17)30444-1. doi:10.1016/j.bone.2017.12.004.

*De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do *International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group*. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

Fujii T, Takaya T, Mimura H, et al. Experimental model of occlusal trauma in mouse periodontal tissues. *J Hard Tissue Biol.* 2014;23(3):377-80. doi: 10.2485/jhtb.23.377.

Gunraj MN. Dental root resorption. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999 Dec;88(6):647-53.

Harokopakis-Hajishengallis E. Physiologic root resorption in primary teeth: molecular and histological events. *J Oral Sci.* 2007 Mar;49(1):1-12.

Hefti AF. Aspects of cell biology of the normal periodontium. *Periodontol 2000.* 1993 Oct;3:64-75.

Ikeda T, Nakano M, Bando E, et al. The effect of light premature occlusal contact on tooth pain threshold in humans. *J Oral Rehabil.* 1998 Aug;25(8):589-95.

Kumar GS, editor. *Orban's Oral Histology and Embriology.* 13. ed. Tamil Nadu: Elsevier; 2013.

Lekszycki T. Functional adaptation of bone as an optimal control problem. *J. Theoret. Appl. Mech.* 2005, 43(3)120–40.

Lins CCSA, Perez FM MR, Lima ADAPA, et al. Importance of Radiographic Interpretation. In: Jain P, editor. *Common Complications in Endodontics.* Springer: Cham; 2018. p. 27-40. doi:10.1007/978-3-319-60997-3_2.

McCulloch CA, Lekic P, McKee MD. Role of physical forces in regulating the form and function of the periodontal ligament. *Periodontol 2000.* 2000 Oct;24:56-72.

Nakatsu S, Yoshinaga Y, Kuramoto A, et al. Occlusal trauma accelerates attachment loss at the onset of experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2014 Jun;49(3):314-22. doi: 10.1111/jre.12109. Epub 2013 Jul 1.

Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA, editores. *Carranza, Periodontia Clínica.* 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

Newman WG. Possible etiologic factors in external root resorption. *Am J Orthod.* 1975 May;67(5):522-39.

Omori M, Sato Y, Kitagawa N, et al. A biomechanical investigation of mandibular molar implants: reproducibility and validity of a finite element analysis model. *Int J Implant Dent.* 2015 Dec;1(1):10. Epub 2015 Apr 28.

Poiate IA, de Vasconcellos AB, de Santana RB, et al. Three-dimensional stress distribution in the human periodontal ligament in masticatory, parafunctional, and trauma loads: finite element analysis. *J Periodontol.* 2009 Nov;80(11):1859-67. doi: 10.1902/jop.2009.090220.

Rudolph DJ, Willes PMG, Sameshima GT. A finite element model of apical force distribution from orthodontic tooth movement. *Angle Orthod.* 2001 Apr;71(2):127-31.

Santos LS, Rossi AC, Freire AR, et al. Finite-element analysis of 3 situations of trauma in the human edentulous mandible. *J Oral Maxillofac Surg.* 2015 Apr;73(4):683-91. doi: 10.1016/j.joms.2014.10.014. Epub 2014 Oct 22.

Shiraishi C, Hara Y, Abe Y, et al. A histopathological study of the role of periodontal ligament tissue in root resorption in the rat. *Arch Oral Biol.* 2001 Feb;46(2):99-107.

Toro-Ibacache V, Fitton LC, Fagan MJ, et al. Validity and sensitivity of a human cranial finite element model: implications for comparative studies of biting performance. *J Anat.* 2016 Jan;228(1):70-84. doi: 10.1111/joa.12384. Epub 2015 Sep 23.

Tronstad L. Root resorption--etiology, terminology and clinical manifestations. *Endod Dent Traumatol.* 1988 Dec;4(6):241-52.

Viecilli RF, Katona TR, Chen J, et al. Three-dimensional mechanical environment of orthodontic tooth movement and root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2008 Jun;133(6):791.e11-26. doi: 10.1016/j.ajodo.2007.11.023.

Viecilli RF, Kar-Kuri MH, Varriale J, et al. Effects of initial stresses and time on orthodontic external root resorption. *J Dent Res*. 2013 Apr;92(4):346-51. doi: 10.1177/0022034513480794. Epub 2013 Feb 26.

Walker CG, Ito Y, Dangaria S, et al. RANKL, osteopontin, and osteoclast homeostasis in a hyperocclusion mouse model. *Eur J Oral Sci*. 2008 Aug;116(4):312-8. doi: 10.1111/j.1600-0722.2008.00545.x.

Yamamoto T, Hasegawa T, Yamamoto T, Hongo H, Amizuka N. Histology of human cementum: Its structure, function, and development. *Jpn Dent Sci Rev*. 2016 Aug;52(3):63-74. doi: 10.1016/j.jdsr.2016.04.002. Epub 2016 Apr 27.

Yusof VZ, Ghazali MN. Multiple external root resorption. *J Am Dent Assoc*. 1989 Apr;118(4), 453-5.

ANEXOS

ANEXO 1 - Comprovante de submissão

Journal of Applied Oral Science

Home Author
Author Dashboard

Submitted Manuscripts

- Start New Submission
- Legacy Instructions
- 5 Most Recent E-mails

Submitted Manuscripts

STATUS	ID	TITLE	CREATED	SUBMITTED
ADM: Ferraz, Valéria • Awaiting Admin Processing	JACS-2018-0104	Mechanobiological analysis of rat root tissue with occlusal trauma View Submission Cover Letter	21-Feb-2018	22-Feb-2018
ADM: Ferraz, Valéria • Awaiting Admin Processing	JACS-2018-0100	Evaluation of periodontal ligament mechanobiological of rats with occlusal trauma View Submission Cover Letter	21-Feb-2018	21-Feb-2018

SCHOLARONE™

Clarivate Analytics | © ScholarOne, Inc. 2018. All Rights Reserved
ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.
ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,767 and #7,253,655

Clarivate Analytics

ANEXO 2 - Certificação do Comitê de Ética



UNICAMP



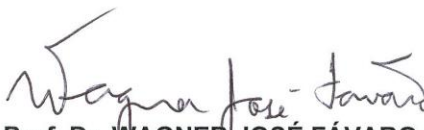
CEUA/UNICAMP

INFORMAÇÃO

A Comissão de Ética no Uso de Animais da UNICAMP - CEUA/UNICAMP - esclarece que não há necessidade de submeter para análise desta Comissão o projeto ANÁLISE DE ELEMENTOS FINITOS E ANÁLISES HISTOLÓGICAS NO OSSO ALVEOLAR E LIGAMENTO PERIODONTAL EM RATOS ADULTOS SUBMETIDOS A CONDIÇÃO DE CONTATO PREMATURA, de responsabilidade do Prof. Dr. Felipe Bevilacqua Prado e dos executores Gilberto Paiva de Carvalho e Rodrigo Ivo Matoso.

Justifica-se por se tratar do uso de imagens microtomográficas provenientes do protocolo CEUA 3661-1 - REMODELAÇÃO ÓSSEA E ANÁLISE BIOMECÂNICA DO OSSO ALVEOLAR MAXILAR EM RATOS COM SOBRECARGA MASTIGATÓRIA, não havendo manipulação *in vivo* De animais para desenvolvimento do projeto.

Campinas, 23 de outubro de 2017.


Prof. Dr. WAGNER JOSÉ FÁVARO
Presidente da CEUA/UNICAMP

ANEXO 2 - Certificação do Comitê de Ética (continuação)



CEUA/Unicamp

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "**REMODELAÇÃO ÓSSEA E ANÁLISE BIOMECÂNICA DO OSSO ALVEOLAR MAXILAR EM RATOS COM SOBRECARGA MASTIGATÓRIA**", protocolo nº 3661-1, sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Felipe Bevilacqua Prado / Alexandre Rodrigues Freire**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem) para fins de pesquisa científica ou ensino, encontra-se de acordo com os preceitos da **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais e do **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**, e com as normas editadas pelo **Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal - CONCEA**, e foi aprovado pela **Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP**, em 09 de fevereiro de 2015.

Vigência do projeto: 01/2015 - 03/2015

Espécie/Linhagem: Rato heterogênico Wistar

No. de animais: 25

Peso/Idade: 200g / 02 meses

Sexo: machos

Origem: CEMIB/UNICAMP

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização prévia junto ao **IBAMA**, **SISBIO** ou **CIBio**.

Campinas, 02 de setembro de 2015.

2ª. VIA

Prof. Dra. Liana Maria Cardoso Verinaud
Presidente

Fátima Alonso
Secretária Executiva