



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Monografia de Conclusão de Curso

**ANÁLISE DA ORGANIZAÇÃO DE COLÁGENO NO LIGAMENTO
PERIODONTAL DE INCISIVOS DE RATOS SOB CONDIÇÕES FUNCIONAIS
NORMAL E HIPOFUNCIONAL.**

Aluno(a): Camilla Fraga do Amaral

Orientador: Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes

Ano de Conclusão de Curso: 2010

Assinatura do Orientador

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecária: Elis Regina Alves dos Santos – CRB-8ª. / 8099

Am13a	<p>Amaral, Camilla Fraga do. Análise da organização de colágeno no ligamento periodontal de incisivos de ratos sob condições funcionais normal e hipofuncional / Camilla Fraga do Amaral. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2010. 18f. : il.</p> <p>Orientador: Pedro Duarte Novaes. Monografia (Graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p>1. Histologia. 2. Microscopia de polarização. I. Novaes, Pedro Duarte. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.</p> <p>(eras/fop)</p>
-------	---

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

Camilla Fraga do Amaral

RA: 074796

ANÁLISE DA ORGANIZAÇÃO DE COLÁGENO NO LIGAMENTO
PERIODONTAL DE INCISIVOS DE RATOS SOB CONDIÇÕES FUNCIONAIS
NORMAL E HIPOFUNCIONAL.

Monografia apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, Universidade
Estadual de Campinas, como Trabalho de
Conclusão do Curso de Graduação em
Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes

Piracicaba 2010

Sumário

Resumo	5
• Summary	6
Introdução	7
Objetivo	8
Materiais e Métodos	9
Resultado	12
Discussão	15
Conclusão	16
Referências Bibliográficas	17

RESUMO

O ligamento periodontal é um tecido conjuntivo fibroso que ocupa o espaço entre o dente e o seu alvéolo, ligando o cemento ao osso alveolar por meio de fibras colágenas, e tem a função principal de ancoragem e suporte dos dentes. Devido a um provável papel do ligamento nos movimentos funcionais do dente, o mecanismo de remodelação do colágeno tem sido muito investigado. O constante movimento eruptivo que ocorre nos incisivos de roedores, como os de ratos, é acompanhado por uma intensa atividade de remodelação do ligamento periodontal. Os incisivos de ratos tem sido utilizados como modelo de estudo das alterações na erupção dental e do metabolismo do ligamento periodontal. Os incisivos hipofuncionais apresentam aceleração na erupção dental, alterações na matriz extracelular do ligamento periodontal e diminuição na resistência à extração. Entretanto, não se sabe se essas alterações são derivadas de mudanças na quantidade, distribuição e composição das fibras de Sharpey do ligamento periodontal ou na composição da matriz extracelular e/ou no seu processo de remodelação. As fibras colágenas do ligamento periodontal são dispostas de forma organizada e o grau de sua organização pode ser estudado por meio da medida da birrefringência do tecido por microscopia de polarização. Porém, pouco se sabe sobre a organização de colágeno após períodos de alteração das condições funcionais dos incisivos. Para um maior conhecimento a respeito das alterações que ocorrem no ligamento periodontal após a aceleração da taxa de erupção, este trabalho se propõe a analisar o grau de organização das fibras colágenas no ligamento periodontal de incisivos de ratos quando em condições funcionais normal e hipofuncional nas diferentes regiões do ligamento periodontal. Dez ratos Wistar foram divididos em dois grupos: normofuncional (5 ratos controle) e hipofuncional (5 ratos tiveram os incisivos esquerdo seccionados a cada 2 dias). Após 14 dias de experimento os animais foram sacrificados por meio de perfusão intracardíaca, fixados e descalcificados em EDTA a 10% em tampão fosfato 0,01M pH 7,4, incluídas em paraplast e seccionadas transversalmente para obtenção de cortes com 15 µm de espessura. Para a análise da birrefringência no ligamento periodontal, medidas de birrefringência foram obtidas e analisadas em uma curva de birrefringência para a determinação do meio de embebição ideal. Após a escolha do meio, a lâmina foi montada com o mesmo e após 30 minutos foi feita a mensuração do retardo ótico. A mensuração do retardo ótico foi realizada 10 vezes em 2 cortes de cada animal, em 6 regiões diferentes do ligamento periodontal: região mesial, distal e lingual adjacente ao osso alveolar: região mesial, distal e lingual adjacente ao cemento.

Summary

The periodontal ligament is a fibrous connective tissue that occupies the space between the tooth and its alveolus, connecting the cementum to the alveolar bone by collagen fibers, and has the principal function of anchorage and support the teeth. Due to a probable role of the ligament in functional movements of the tooth, the mechanism of remodeling of collagen has been widely investigated. The constant eruptive movement that occurs in incisors of rodents such as rats, is accompanied by an intense remodeling of the periodontal ligament. The incisors of rats has been used as a model for study of changes in tooth eruption and metabolism of the periodontal ligament. The incisors show hypofunctional acceleration in tooth eruption, changes in the extracellular matrix of periodontal ligament and decreased resistance to extraction. However, it is unclear whether these changes are derived from changes in quantity, distribution and composition of Sharpey fibers of the periodontal ligament or the extracellular matrix and / or in the remodeling process. The collagen fibers of the periodontal ligament are arranged in an organized manner and degree of organization can be studied by measuring the tissue birefringence by polarization microscopy. However, little is known about the organization of collagen after periods of change in functional status of the incisors. For a better understanding of changes occurring in the periodontal ligament after acceleration in the rate of eruption, this study is to analyze the degree of organization of collagen fibers in the periodontal ligament of rat incisors when in normal working order and in different hypofunctional regions of the periodontal ligament. Ten Wistar rats were divided into two groups: normofunctional (5 control rats) and hypofunctional (5 mice had left incisor sectioned every 2 days). After 14 days the animals were sacrificed by intracardiac perfusion, fixed and decalcified in 10% EDTA in 0.01 M phosphate buffer pH 7.4, embedded in Paraplast and sectioned transversely to obtain slices with 15 micrometers. For the analysis of birefringence in the periodontal ligament, birefringence measurements were obtained and analyzed in a curve of birefringence for determining the ideal means of soaking. After the choice of means, the slide was mounted with the same and after 30 minutes was performed to measure the optical retardation. The measurement of optical retardation was performed 10 times in two sections of each animal in six different regions of the periodontal ligament: the medial area, adjacent to the distal and lingual alveolar bone: medial area, adjacent to the lingual and distal cementum.

INTRODUÇÃO

O ligamento periodontal é um tecido conjuntivo fibroso que ocupa o espaço entre o dente e o seu alvéolo, ligando o cemento ao osso alveolar por meio de fibras colágenas, e tem a função principal de ancoragem e suporte dos dentes. Estudos mostram que o metabolismo de proteínas é alto e o turnover das fibras colágenas no ligamento periodontal é muito rápido (Carneiro & De Moraes, 1965; Redlich *et al.*, 2004). Devido a um provável papel do ligamento nos movimentos funcionais do dente, o mecanismo de remodelação do colágeno tem sido muito investigado.

Nos dentes de erupção e crescimento contínuo, como os incisivos de roedores, o ligamento periodontal abrange toda a lingual, mesial e parte da face distal do dente, enquanto toda a face labial e parte da face distal é ocupada pelo periodonto relacionado ao esmalte (Matena, 1972). O constante movimento eruptivo que ocorre nos incisivos a medida que eles se desgastam, é acompanhado por uma intensa atividade de remodelação do ligamento periodontal. Os incisivos de ratos tem sido utilizados como modelo de estudo das alterações na erupção dental (Gerlach *et al.*, 2002; Steigman *et al.*, 1989; Merzel *et al.*, 2000a, 2000b; Salmon, 2004) e do metabolismo do ligamento periodontal (Beertsen & Everts, 1977; Chiba *et al.*, 1981; Kirkham *et al.*, 1993; Salmon, 2008), pois nesses dentes as condições funcionais podem ser facilmente alteradas, permitindo investigar as mudanças bioquímicas, estruturais e do metabolismo de seus tecidos em diferentes estados.

Incisivos desimpedidos ou hipofuncionais são dentes cortados experimentalmente na altura da papila interdental e permanecem fora de oclusão e livre de forças mastigatórias, o que provoca a aceleração da erupção dental (Kirkham *et al.*, 1993; Gerlach *et al.*, 2002; Shimada *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2004) e alterações na matriz extracelular do ligamento periodontal. Estudos bioquímicos têm mostrado que o desimpedimento do incisivo de ratos (condição hipofuncional) aumenta o teor de proteínas não colágenas (Van Den Bos & Tonino, 1984) e de glicosaminoglicanas sulfatadas, que com a contenção da erupção diminuiu drasticamente (Kirkham *et al.*, 1993). Barros (1995) num estudo morfométrico do ligamento, verificou que o desimpedimento parece aumentar o volume relativo de substância amorfa interfibrilar (rica em proteoglicanas). Beertsen & Everts (1977), em incisivos de camundongos desimpedidos em relação a contralaterais impedidos, encontraram também uma diminuição de colágeno extracelular. Outros autores também observaram que incisivos desimpedidos oferecem menor resistência à extração e ao deslocamento quando são utilizadas forças axiais para a movimentação do dente, em comparação aos dentes em condições normofuncionais (Moxham & Berkovitz, 1981; Chiba *et al.*, 1981; Komatsu, 1988). Entretanto, não se sabe se essa alteração na resistência ao movimento pode ser

derivada da alteração da quantidade, distribuição e composição das fibras de Sharpey do ligamento periodontal (Silva & Merzel, 2004) ou por mudanças na composição da matriz extracelular e/ou no seu processo de remodelação.

As fibras colágenas do ligamento periodontal são dispostas de forma organizada e o grau de sua organização pode ser estudado por meio da medida da birrefringência do tecido por microscopia de polarização. O microscópio de polarização traz informações valiosas sobre a estrutura e a organização molecular de células e tecidos, permite a detecção de propriedades anisotrópicas ópticas (birrefringência e dicroísmo) de estruturas biológicas e por meio de medidas espectrais de emissão luminosa, presta-se a diferenciar fibras colágenas pelos seus diferentes graus de hidrofobicidade e polaridade. Porém, poucos estudos utilizando microscopia de polarização em ligamento periodontal foram feitos e pouco se sabe sobre a organização de colágeno após períodos de alteração das condições funcionais dos incisivos.

Komatsu *et al* (1998), em um estudo com microscopia de polarização, sugere que diferenças regionais nas propriedades bioquímicas do ligamento periodontal depende do estágio de desenvolvimento das fibras colágenas que podem ser relacionadas ao arranjo, diâmetro e densidade dos feixes de fibras inseridos no osso alveolar e no cimento. Em 2002, Komatsu e colaboradores mostraram diferenças no grau de organização molecular e no alinhamento das fibras colágenas em diferentes regiões do ligamento periodontal e conforme a idade dos animais. Outros estudos (Komatsu & Viidik, 1996; Komatsu *et al*, 2001) mostraram que variações no grau de birrefringência ocorrem de acordo com o grau de força aplicada sobre as fibras colágenas, com aumento do brilho e da área birrefringente de fibras colágenas em paralelo com a força aplicada. Esses resultados sugerem que alterações nas condições funcionais, ou seja, das forças mastigatórias que agem sobre os dentes, podem alterar o nível de organização das fibras colágenas no ligamento periodontal.

OBJETIVO

Para um maior conhecimento a respeito das alterações que ocorrem no ligamento periodontal após mudanças nas forças que agem sobre os dentes e a aceleração da taxa de erupção, este trabalho se propôs a analisar o grau de organização das fibras colágenas no ligamento periodontal de incisivos de ratos quando em condições funcionais normal e hipofuncional e comparar as diferentes regiões do ligamento periodontal.

MATERIAL E MÉTODOS

Modelo experimental

Dez ratos Wistar, pesando em média 350g, foram mantidos em gaiolas no Biotério do Departamento de Morfologia da FOP-UNICAMP, em condições controladas de luz (12 horas no claro e 12 horas no escuro) e temperatura (25-30° C), e alimentados com água e ração *ad libitum*. Os animais foram divididos em dois grupos de 5 ratos de acordo com as condições funcionais a que os incisivos inferiores foram submetidos:

1) Incisivos normofuncionais – condições funcionais normais;

2) Incisivos hipofuncionais (Figura 1) – após anestesia, os incisivos inferiores esquerdos foram seccionados a cada 2 dias na altura da papila interdental com uma broca diamantada montada em alta rotação, e permanecendo fora de oclusão, são considerados em condição hipofuncional. Nessas condições os incisivos têm a erupção acelerada, mas ficam livres de forças mastigatórias.

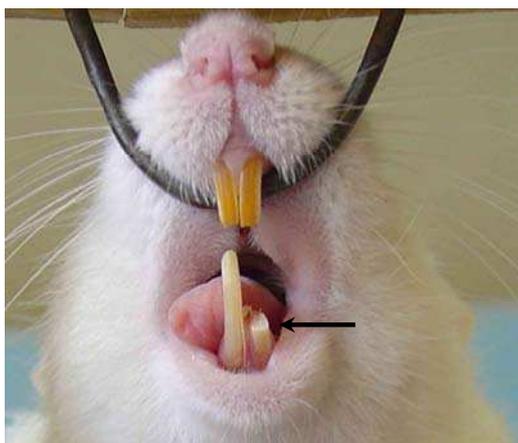


Figura 1 – Incisivo inferior esquerdo seccionado na altura da papila interdental a cada 2 dias, permanece fora de oclusão e é considerado hipofuncional (seta).

Coleta e processamento das amostras

Após 14 dias de experimento os animais foram sacrificados por meio de perfusão intracardíaca (Figura 2A) com uma solução fixadora de 4% paraformaldeído, 0,5% glutaraldéido e 0,2% ácido pícrico em tampão fosfato 0,1M pH 7,4. As hemimandíbulas foram dissecadas, armazenadas na mesma solução fixadora a 4°C por pelo menos 48 horas. As amostras para estudo foram delimitadas da região da crista alveolar até a região imediatamente anterior ao 1° molar inferior, onde as hemimandíbulas foram cortadas transversalmente (Figura 2B).

Após a fixação as hemimandíbulas foram lavadas em tampão PBS, descalcificadas com EDTA a 10% em tampão fosfato 0,01M pH 7,4, incluídas em paraplast e seccionadas transversalmente para obtenção de cortes com 15 µm de espessura.

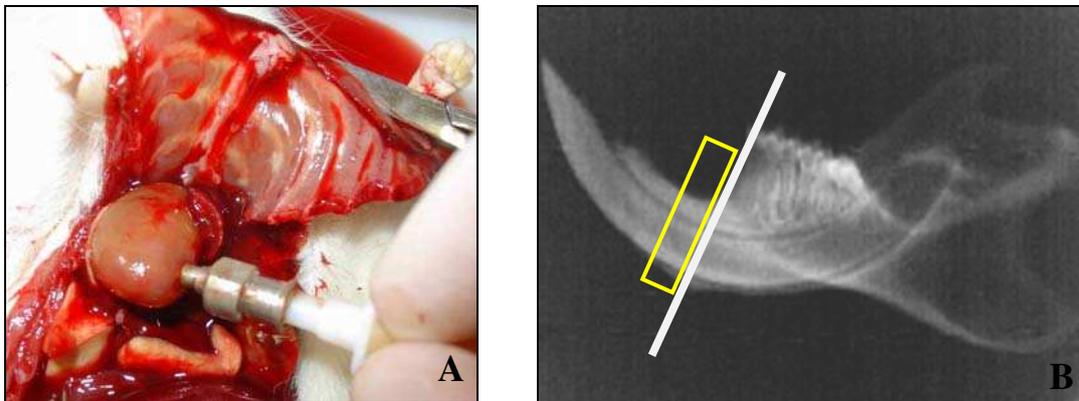


Figura 2 - A) Perfusão intracardíaca por injeção da solução fixadora no ventrículo esquerdo. B) Radiografia de hemimandíbula de rato. A reta em branco indica a região de corte transversal da hemimandíbula. O retângulo amarelo representa a região que será seccionada para estudo.

Análise da birrefringência das fibras colágenas em incisivos inferiores de ratos normais e hipofuncionais

Os cortes transversais de 15µm de espessura foram desparafinizados, hidratados e analisados em microscopia de luz polarizada. Inicialmente, determinou-se o meio de embebição mais adequado para o estudo da birrefringência das fibras colágenas do ligamento periodontal. Foram utilizados 5 meios de embebição diferentes: 1) água destilada; 2) glicerina 80%; 3) glicerina 100%; 4) Entellan[®]; 5) bálsamo do Canadá. As medidas de birrefringência obtidas foram analisadas em uma curva de birrefringência para a determinação do meio de embebição ideal.

Após a escolha do meio, a lâmina foi montada com o mesmo e após 30 minutos foi feita a mensuração do retardo ótico. Para as medidas, um microscópio Leica DM LP (Leica Microsystems) equipado com filtros polarizadores, compensador de Brace-Köeler (Wild Leitz, Wetzlar, Germany) e luz policromática foram utilizados. As medidas do retardo óptico são o valor relativo entre o maior e o menor brilho de birrefringência no tecido, determinado em nanômetros (nm) (Figura 3). A mensuração do retardo ótico foi realizada 10 vezes em 2 cortes de cada animal, em 6 regiões diferentes do ligamento periodontal: região mesial, distal e lingual adjacente ao osso alveolar; região mesial, distal e lingual adjacente ao cimento (Figura 4B).

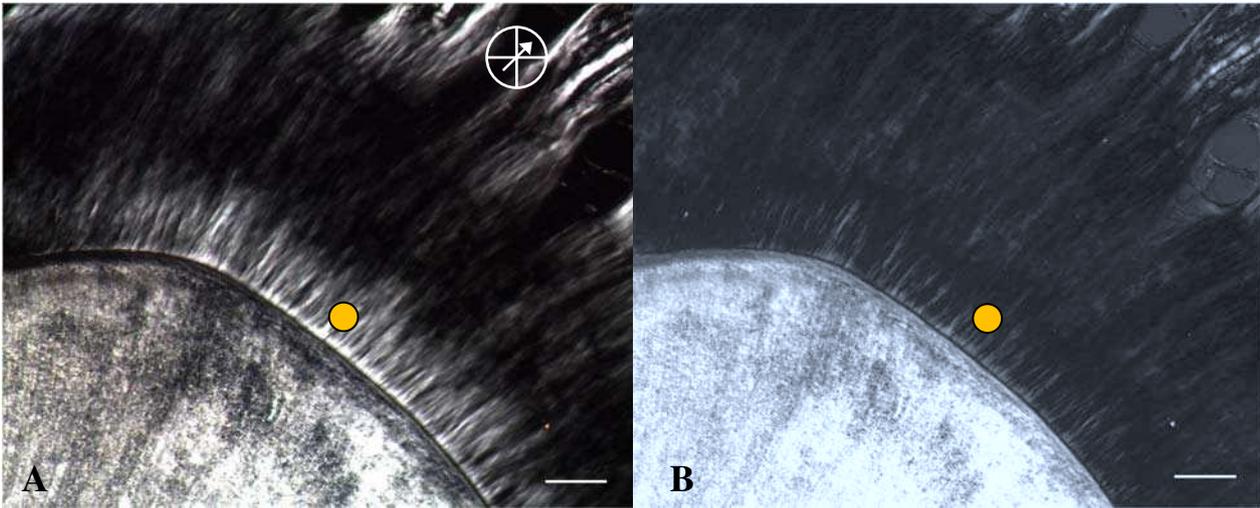


Figura 3 – Imagens de um corte histológico não corado, montado em água, observado sob luz polarizada na birrefringência máxima (A) e mínima (B) da região lingual do ligamento periodontal do incisivo de rato normofuncional. O círculo amarelo representa o ponto de medição do retardo óptico. Em A, os filtros analisador e polarizador estão representados pelas barras crossadas. A seta na posição 45° com o polarizador e o analisador indicam a posição de máxima birrefringência. Barra=50 µm.

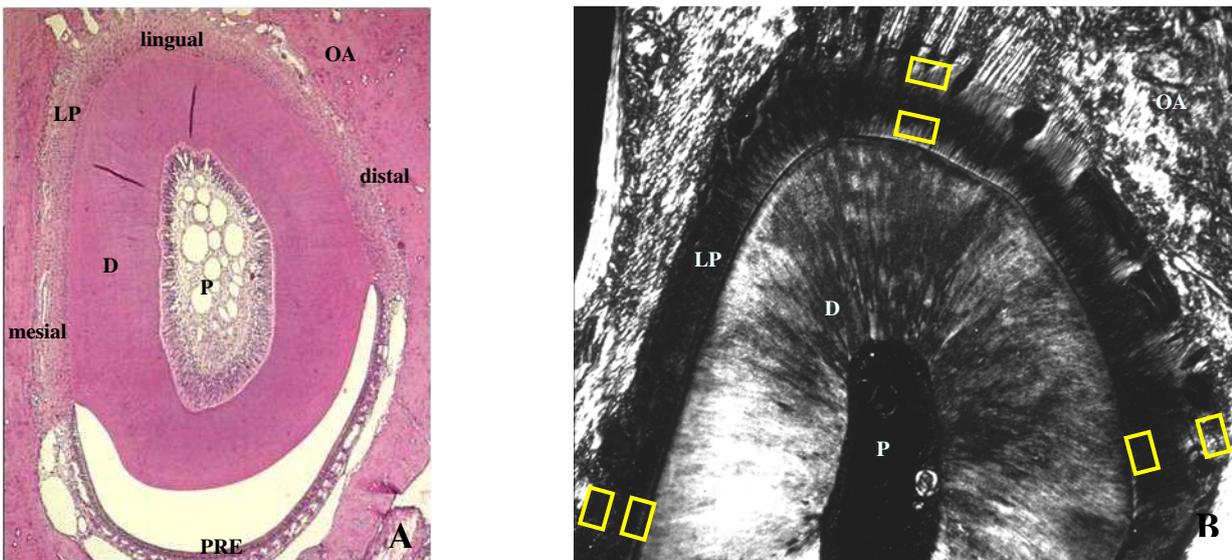


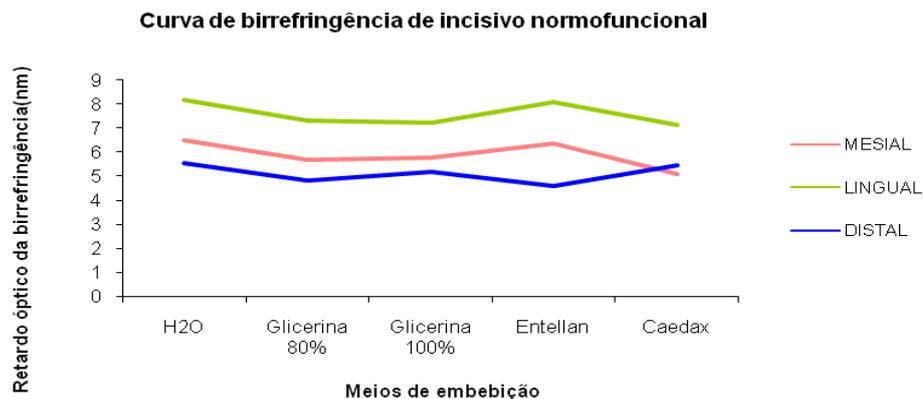
Figura 4 – A) Corte histológico transversal de mandíbula de rato corado com HE observado em microscopia de campo claro. B) Corte histológico transversal de mandíbula de rato observado em microscópio de luz polarizada. Os retângulos delimitam as regiões do ligamento periodontal selecionadas para análise. D-dentina; LP-ligamento periodontal; P-polpa; OA-osso alveolar; PRE-periodonto relacionado ao esmalte.

Análise estatística

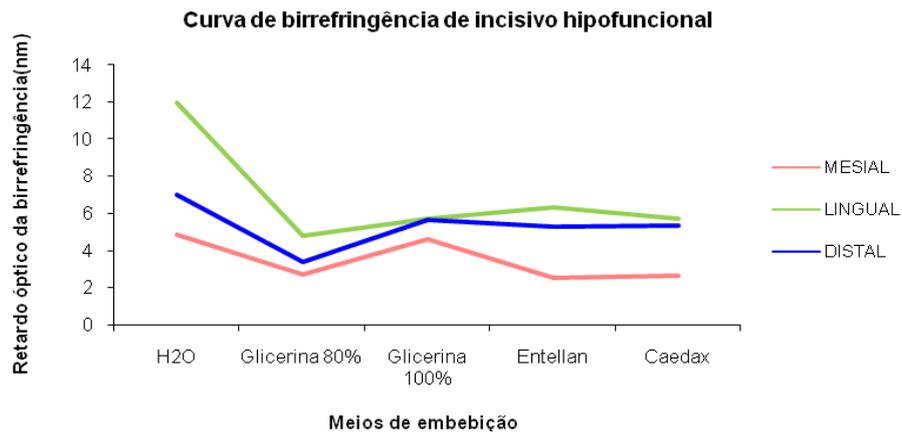
Os resultados foram obtidos comparando-se as médias das medidas do retardo óptico dos grupos normofuncional (controle) e hipofuncional nas diferentes regiões analisadas. Para a determinação de diferenças entre os grupos foi utilizado o Teste *t* e os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

A análise dos dados do retardo óptico nas regiões estudadas para a construção da curva de birrefringência mostrou que a água, utilizada como meio de embebição, apresentou maior birrefringência no ligamento periodontal quando comparada aos demais meios utilizados, e por este motivo, foi adotada para análise do retardo óptico neste tecido (Figura 5).



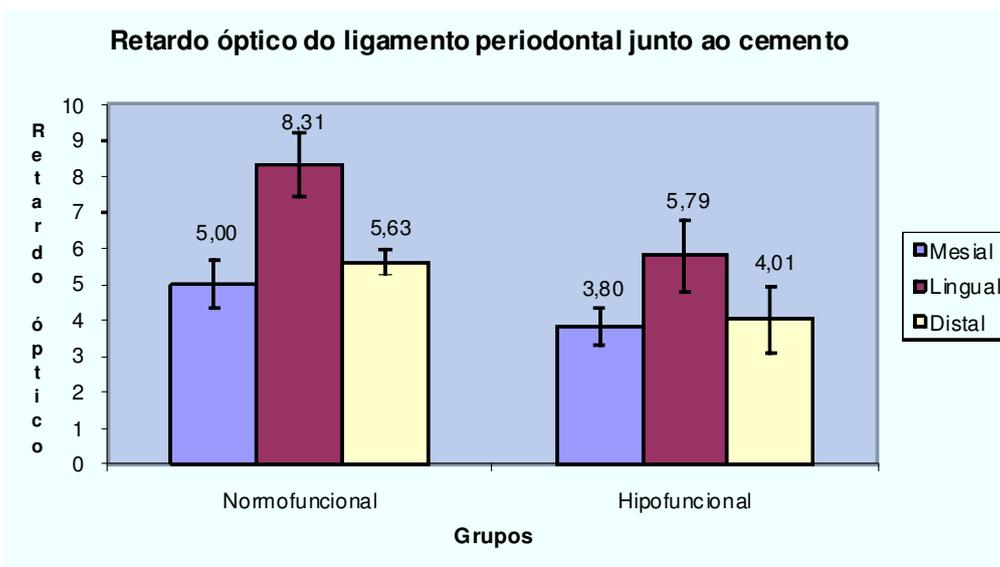
A



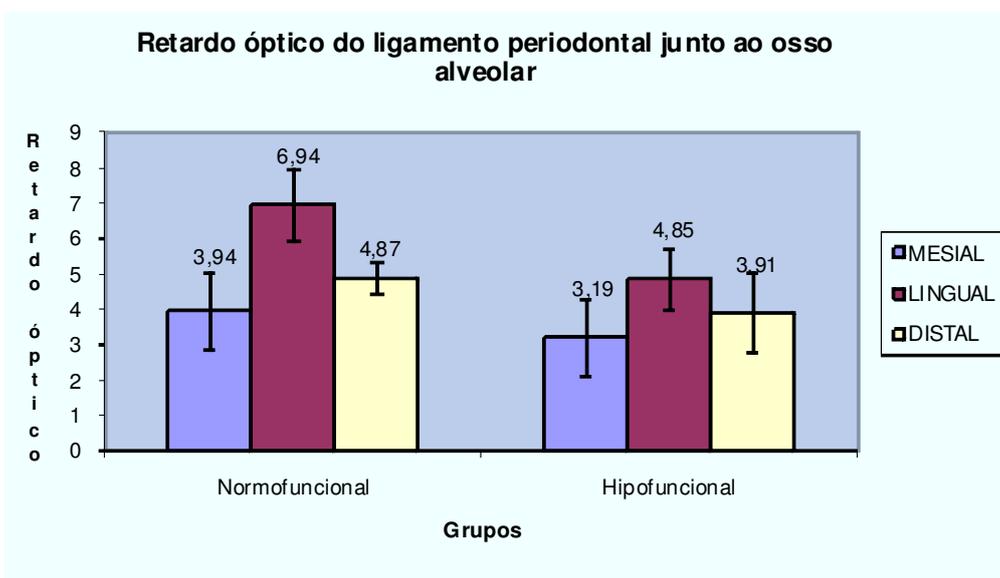
B

Figura 5 – Gráficos das curvas de birrefringência de 1 corte histológico de cada grupo representando, respectivamente, incisivo normofuncional (A) e incisivo hipofuncional (B). O retardo óptico (nm) como uma função do índice de refração (n) dos seguintes meios de embebição: água (n = 1.333), glicerina 80% (n = 1.435), glicerina 100% (n = 1.461), Entellan® (n = 1.495), Caedax® (n = 1.56).

A análise comparativa das medidas do retardo óptico mostrou uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na birrefringência do ligamento periodontal entre os grupos estudados (Figura 6). Os incisivos hipofuncionais apresentaram menor birrefringência no ligamento periodontal em todas as regiões estudadas, quando comparados aos incisivos normofuncionais. Em ambos os grupos foi observada uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre as regiões no ligamento periodontal junto ao cimento e ao osso alveolar, onde o grau de birrefringência foi maior próximo ao cimento. A região lingual apresentou maior grau de birrefringência nos grupos estudados, enquanto a região mesial apresentou o menor grau de organização das fibras do ligamento periodontal.



A



B

Figura 6 – Gráficos da média e desvio padrão do retardo óptico do ligamento periodontal de incisivos normofuncional e hipofuncional nas regiões mesial, lingual e distal próximo ao cimento em A, e próximo ao osso alveolar em B.

DISCUSSÃO

Os incisivos de ratos tem sido utilizados como modelo de estudo das alterações na erupção dental (Gerlach *et al*, 2002; Steigman *et al*, 1989; Merzel *et al*, 2000a, 2000b; Salmon, 2004) e do metabolismo do ligamento periodontal (Beertsen & Everts, 1977; Chiba *et al*, 1981; Kirkham *et al*, 1993; Salmon, 2008), pois nesses dentes as condições funcionais podem ser facilmente alteradas, permitindo investigar as mudanças bioquímicas, estruturais e do metabolismo de seus tecidos em diferentes estados, justificativa pela qual foram escolhidos incisivos de ratos para a observação do grau de organização das fibras colágenas.

Incisivos desimpedidos ou hipofuncionais são dentes cortados experimentalmente na altura da papila interdental e permanecem fora de oclusão e livre de forças mastigatórias, o que provoca a aceleração da erupção dental (Kirkham *et al*, 1993; Gerlach *et al*, 2002; Shimada *et al*, 2003; Silva *et al*, 2004) e alterações na matriz extracelular do ligamento periodontal. Devido a um provável papel do ligamento nos movimentos funcionais do dente, o mecanismo de remodelação do colágeno tem sido muito investigado. O constante movimento eruptivo que ocorre nos incisivos de roedores, como os de ratos, é acompanhado por uma intensa atividade de remodelação do ligamento periodontal. Os incisivos hipofuncionais apresentam aceleração na erupção dental, alterações na matriz extracelular do ligamento periodontal e diminuição na resistência à extração. Com este estudo, pôde-se constatar que em incisivos hipofuncionais há uma maior desorganização das fibras colágenas, tanto próximas ao cimento quanto próximas ao osso alveolar. Provavelmente, esta desorganização diminui a resistência que o ligamento periodontal oferece à força de erupção, consequentemente aumentando a velocidade da erupção e facilitando a extração do dente.

Komatsu e colaboradores (2002), mostraram diferenças no grau de organização molecular e no alinhamento das fibras colágenas em diferentes regiões do ligamento periodontal de animais de várias idades. Segundo Komatsu a região lingual possui uma maior organização das fibras colágenas em relação as outras regiões do ligamento periodontal, o que corrobora com os resultados encontrados no presente estudo, onde a região lingual dos dentes normofuncionais e hipofuncionais apresentou o maior grau de birrefringência.

A justificativa para tal evento, dá-se pela hipótese de que aquele ligamento periodontal tenha que estar realizando apenas parte de sua função de ancoragem, devido à necessidade daquele incisivo de se desenvolver e entrar em oclusão. Somente após o recebimento de cargas mastigatórias, é que o incisivo irá apresentar uma maior organização em seu ligamento periodontal.

Estudos bioquímicos têm mostrado que o desimpedimento do incisivo de ratos (condição hipofuncional) aumenta o teor de proteínas não colágenas (Van Den Bos & Tonino, 1984) e de glicosaminoglicanas sulfatadas. Barros (1995) num estudo morfométrico do ligamento, verificou que o desimpedimento (hipofunção) parece aumentar o volume relativo de substância amorfa interfibrilar (rica em proteoglicanas). Beertsen & Everts (1977), em incisivos de camundongos desimpedidos em relação a contralaterais impedidos, encontraram também uma diminuição de colágeno extracelular. Outros autores também observaram que incisivos desimpedidos oferecem menor resistência à extração e ao deslocamento quando são utilizadas forças axiais para a movimentação do dente, em comparação aos dentes em condições normofuncionais (Moxham & Berkovitz, 1981; Chiba *et al*, 1981; Komatsu, 1988). O recente estudo mostrou que o grau de organização das fibras colágenas é menor em condições hipofuncionais pois a taxa de erupção do dente está muito alta, fazendo com que o ligamento periodontal não tenha tempo o suficiente para se organizar.

As fibras colágenas só irão se organizar quando receberem forças, como por exemplo o caso de forças mastigatórias quando o dente referido entrar em oclusão. Outros estudos (Komatsu & Viidik, 1996; Komatsu *et al*, 2001) mostraram que variações no grau de birrefringência ocorrem de acordo com o grau de força aplicada sobre as fibras colágenas, com aumento do brilho e da área birrefringente de fibras colágenas em paralelo com a força aplicada.

Este estudo contribuiu para o entendimento do metabolismo do ligamento periodontal do incisivo de rato, e abre caminhos para futuros estudos sobre o papel de outros componentes da matriz extracelular como proteínas não colágenas e metaloproteínases, que podem estar relacionadas com a desorganização das fibras colágenas neste tecido.

CONCLUSÕES

1. O ligamento periodontal de incisivos de ratos apresenta uma variação no grau de organização do colágeno nas diferentes regiões, sendo maior na região junto ao cemento e na região lingual.

2. A alteração funcional dos incisivos pela remoção das forças mastigatórias ou desimpedimento da erupção dental provoca uma desorganização das fibras colágenas do ligamento periodontal.

METAS ATINGIDAS

De acordo com os objetivos do trabalho e o cronograma proposto, o projeto foi desenvolvido dentro do prazo estabelecido e todas as metas foram atingidas. Os resultados obtidos nos parecem relevantes dentro do tema e oferecem dados importantes para futuros projetos em nosso laboratório. O projeto é original e seus resultados serão brevemente submetidos à publicação.

REFERÊNCIAS

- Barros SP. Estudo morfométrico ultraestrutural da matriz extracelular do ligamento periodontal do incisivo inferior de ratos, em diferentes regiões e zonas, nas condições de erupção impedida, desimpedida e retardada pela vimblastina. [tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP, 1995.
- Beertsen W, Everts, V. The site of remodelling of collagen in the periodontal ligament of the mouse incisor. *Anat Rec.* 1977; 189(3): 479-97.
- Carneiro J, De Moraes FF. Radioautographic visualization of collagen metabolism in periodontal tissues of the mouse. *Archs Oral Biol.* 1965; 10(6):833-48.
- Chiba M, Ohshima S, Kuroda T, Ohkawa S. Effects of repeated shortenings and of artificial restraint on the rat tensile strength of the periodontium of the rat mandibular incisor. *Arch Oral Biol.* 1981; 26: 135-41.
- Gerlach RF, Toledo DB, Fonseca RB, Novaes PD, Line SR, Merzel J. Alveolar bone remodelling pattern of the rat incisor under different functional conditions as shown by minocycline administration. *Arch Oral Biol.* 2002 Mar; 47(3): 203-9.
- Kirkham J, Robinson C, Phull JK, Shore RC, Moxham BJ, Berkovitz BK. The effect of rate of eruption on periodontal ligament glycosylaminoglycan content and enamel formation in the rat incisor. *Cell Tissue Res.* 1993 Nov; 274(2): 413-9.
- Komatsu K, Chiba M. Synchronous recording of load-deformation behaviour and polarized light-microscopic images of the rabbit incisor periodontal ligament during tensile loading. *Arch Oral Biol.* 2001 Oct;46(10):929-37.
- Komatsu K, Kanazashi M, Arai T, Chiba M.. Effects of hydrocortisone and beta-aminopropionitrile on stress-strain and stress-relaxation behaviors, and birefringent retardation of collagen fibers in the rat incisor periodontal ligament. *Connect Tissue Res.* 2002;43(4):581-8.
- Komatsu K, Viidik A. Changes in the fibre arrangement of the rat incisor periodontal ligament in relation to various loading levels in vitro. *Arch Oral Biol.* 1996 Feb;41(2):147-59.
- [Komatsu K, Yamazaki Y, Yamaguchi S, Chiba M.](#) Comparison of biomechanical properties of the incisor periodontal ligament among different species. *Anat Rec.* 1998 Apr;250(4):408-17.
- [Komatsu K.](#) In vitro mechanics of the periodontal ligament in impeded and unimpeded rat mandibular incisors. *Arch Oral Biol.* 1988;33(11):783-91.
- Matena V. The periodontium of the enamel aspect of the rat incisor. *J Periodontol.* 1972; 43(5):311-5.

- Merzel J, Novaes PD, Furlan S. A histological study of root-resected and root-transsected rat incisors when erupting ceases, shortly before they are exfoliated from the socket. *Arch Oral Biol.* 2000a; 45(4):315-22.
- Merzel J, Novaes PD, Furlan S. The effects of local trauma to the enamel-related periodontal tissues in the eruption of the rat incisor. *Arch Oral Biol.* 2000b; 45(4): 323-33.
- Moxham BJ, Berkovitz BKB. A quantitative assesment of the effects of axially directed extrusive loads on displacement of the impeded and unimpeded rabbit mandibular incisor. *Arch Oral Biol.* 1981; 26(3):209-15.
- Redlich M, Roos H, Reichenberg E, Zaks B, Grosskop A, Bar Kana I, Pitaru S, Palmon A. The effect of centrifugal force on mRNA levels of collagenase, collagen type-I, tissue inhibitors of metalloproteinases and β -actin in cultured human periodontal ligament fibroblasts. *J Periodont Res.* 2004; 39(1):27-32.
- Salmon CR. Expressão de colágeno tipo I, MMP-2, MMP-8, MMP-14 e TIMPS no ligamento periodontal de incisivos de ratos em condições funcionais normal e alteradas [tese]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2008.
- Salmon CR. Remodelação óssea do peridonto de incisivo de rato em erupção normal e alterada: estudo com marcadores fluorescente [dissertação]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2004.
- Shimada A, Shibata T, Komatsu K, Chiba M. The effects of intrusive loading on axial movements of impeded and unimpeded rat incisors: estimation of eruptive force. *Arch Oral Biol.* 2003 May; 48(5): 345-51.
- Silva MA, Merzel J. Alveolar bone Sharpey fiber of the rat incisor in normal and altered functional conditions examined by scanning electron microscopy. *Anat Rec.* 2004; 279(2): 792-7.
- Steigman S, Michaeli Y, Yitzhaki M, Weinreb M. A three-dimensional evaluation of the effects of functional occlusal forces on the morphology of dental and periodontal tissues of the rat incisor. *J Dent Res.* 1989 Aug; 68(8): 1269-74.
- van den Bos, Tonino GJM. Composition and metabolism of the extracelular matrix in the periodontal ligament of impeded and unimpeded rat incisors. *Arch Oral Biol.* 1984;29(11):893-7