



**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

Victor Hugo Torso

***AVALIAÇÃO DA ORIENTAÇÃO TRABECULAR DO
CÔNDILO DA MANDÍBULA EM RATOS ADULTOS COM
SOBRECARGA OCLUSAL***

Piracicaba
2017

Victor Hugo Torso

**AVALIAÇÃO DA ORIENTAÇÃO TRABECULAR DO
CÔNDILO DA MANDÍBULA EM RATOS ADULTOS COM
SOBRECARGA OCLUSAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Cirurgião Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Bevilacqua Prado

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO PELO ALUNO VICTOR HUGO TORSO E ORIENTADO PELO PROF. DR. FELIPPE BEVILACQUA PRADO.

Piracicaba
2017

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CNPq, 123261/2015-5

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

T638a Torso, Victor Hugo, 1994-
Avaliação da orientação trabecular do côndilo da mandíbula em ratos adultos com sobrecarga oclusal / Victor Hugo Torso. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2017.

Orientador: Felipe Bevilacqua Prado.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Côndilo mandibular. 2. Osso e ossos. 3. Microtomografia por raio-X. I. Prado, Felipe Bevilacqua, 1980-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações adicionais, complementares

Palavras-chave em inglês:

Mandibular condyle

Bone and bones

X-ray microtomography

Titulação: Cirurgião-Dentista

Data de entrega do trabalho definitivo: 02-10-2017

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais Altair e Ivanil; ao meu estimado irmão André Luiz, por todo amor envolvido e por não medirem esforços para que eu chegasse até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me permitido que chegasse até aqui com saúde. A minha família, por tudo. A Maria Julia, por me entender, apoiar e se fazer sempre presente. Aos meus amigos da República Karkavara, com os quais tive a honra de dividir um teto em momentos de alegrias e tristezas.

Agradeço também a Faculdade de Odontologia de Piracicaba que, com sua excelência em ensino, abriu inúmeras portas para meu aprendizado. Ao meu orientador prof^o Dr. Felipe Bevilacqua Prado, a prof^a Dra. Ana Cláudia Rossi e ao Dr. Alexandre Rodrigues Freire, por todo empenho e por todas as oportunidades que me deram, por me ajudarem a realizar este trabalho.

Enfim, agradeço a todos aqueles que, direta e indiretamente, contribuíram para que o meu caminho fosse trilhado até aqui.

“Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai bem acompanhado, com certeza vai mais longe”.

-Clarice Lispector.

RESUMO

Alterações das forças oclusais resultam em mudanças na morfologia de estruturas mandibulares relacionadas com a mastigação. O presente trabalho objetiva avaliar a orientação trabecular do côndilo da mandíbula em ratos adultos com sobrecarga oclusal. Serão utilizados 25 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*), linhagem Wistar, com 2 meses de idade. Ao completarem 2 meses de idade, será realizada a aplicação unilateral (lado direito) de resina composta fotopolimerizável nos molares superiores em 20 ratos, simulando uma condição de contato prematuro posterior. Em seguida, estes animais serão distribuídos em 4 subgrupos (n=5) de acordo com o período de sacrifício: 7, 14, 21, e 28 dias pós aplicação da resina. No grupo controle, será mantida a dentição sem alteração oclusal (sem aplicação da resina) nos ratos constituindo o grupo controle. A partir da idade inicial (2 meses), estes animais serão sacrificados com 7 dias. As cabeças de todos os ratos serão submetidas à microtomografia computadorizada em um microtomógrafo SkyScan 1174. Após a reconstrução tridimensional de ambos os lados de cada mandíbula, a avaliação da orientação trabecular no côndilo da mandíbula serão realizadas no software CT-Analyzer. Os dados de volume obtidos, serão submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn (post hoc). O nível de significância adotado será de 5% ($\alpha=0,05$). Espera-se que a remodelação óssea ocasionada na orientação trabecular do côndilo da mandíbula frente às alterações biomecânicas provocadas por simulação na sobrecarga oclusal dos molares, sejam melhor compreendidas.

Palavras-chave: Côndilo manibular. Osso e ossos. Microtomografia por raio-X.

ABSTRACT

Aim: was assess the 3D trabecular bone parameters in mandibular condyle of adult rats with dental posterior occlusal change. **Methods:** We evaluated 4 groups of animals (n = 5) according to 7, 14, 21, and 28 days after application of the resin (unilateral application, in right side, with 1 mm of thickness in oclusal surface of upper molars). The control group presented the teeth without occlusal change. After euthanasia, we performed the micro-CT scan of the mandibular condyles of the rats. We performed the analysis of 3D trabecular bone parameters in CT-Analyzer software. For statistical analysis, the Kruskal-Wallis and Dunn (post hoc) tests were performed, considering $\alpha=0.05$. **Results:** we verified that trabecular thickness had decreased on the 7th day, decreasing until day 21, and on the 28th day, the results did not show statistically significant differences (Kruskal-Wallis test, $p < 0.05$) with the control. The number of trabeculae increased in 7 and 14 days, decreasing to levels similar to the control on day 21 and increasing in 28 days. The trabecular separation decreased on the 7th day compared to the control and tended to remain less than the control in the following periods. **Conclusions:** The 3D trabecular bone parameters showed numerous trabeculae and less space, but thinner, indicating loss of bone mass.

Keywords: Mandibular condyle. Bone and bones. X-ray microtomography

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DE LITERATURA	10
3	PROPOSIÇÃO	11
4	MATERIAIS E MÉTODOS	12
	4.1 Amostra	12
	4.2 Desenho experimental	13
	4.2.1 Indução da condição de sobrecarga oclusal	
	4.2.2 Eutanásia e remoção da cabeça	13
	4.3 Escaneamento e processamento das imagens	13
	4.4 Análise da orientação trabecular do côndilo da mandíbula	14
	4.5 Análise dos resultados	14
5	RESULTADOS	15
6	DISCUSSÃO	17
7	CONCLUSÃO	19
	REFERÊNCIAS	20
	ANEXO 1 - CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA	22

1 INTRODUÇÃO

Mudanças nas forças oclusais dentais resultam em alterações na morfologia das estruturas mandibulares relacionadas com a mastigação, incluindo a articulação temporomandibular. Os estudos comparativos e experimentais têm relatado a relação entre a orientação do osso trabecular e as cargas mecânicas (Mavropoulos et al., 2004). A microarquitetura óssea se organiza de modo a suportar as tensões mecânicas geradas pelas atividades normais. Essa relação estrutura/função e a manutenção da homeostase mineral conduzem ao processo de formação e reabsorção do tecido ósseo, que perdura por toda a vida do indivíduo, denominado remodelação óssea. A remodelação óssea é um processo contínuo, que possibilita a substituição de osso envelhecido e danificado por tecido novo. A remodelação ocorre simultaneamente em vários locais do esqueleto e é caracterizada por fase inicial de reabsorção óssea, realizada pelos osteoclastos, seguida de formação de osso novo pelos osteoblastos, adicionando tecido ósseo ou removendo osso redundante de acordo com as exigências das cargas (Manolagas, 1995).

A mastigação envolve movimentos que são realizados por um conjunto de estruturas anatômicas que inclui os dentes, a articulação temporomandibular (ATM), e os músculos da mastigação. Alterações mecânicas referentes aos corretos movimentos mandibulares durante a mastigação, seja por contatos prematuros ou pelas sobrecargas ocorridas pela ausência dos dentes resultam em alterações na distribuição das tensões para o côndilo da mandíbula e, conseqüentemente, alterações nas deformações nos tecidos articulares (Huja et al., 2008). Especificamente, a tensão mecânica é reconhecida como um fator importante que afeta o metabolismo do osso e alterações na estimulação mecânica, como resultado dos contatos prematuros, podem gerar mudanças no tecido ósseo (LeBlanc et al., 2007). Com a utilização do micro tomógrafo, foi possível a construção de modelos computacionais para avaliação dos parâmetros mecânicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Estudos (Mavropoulos et al., 2005; Patullo et al., 2009) têm utilizado diferentes métodos resultando em alterações na intensidade das tensões nos tecidos articulares, especialmente no côndilo da mandíbula. Uma vez que as forças aplicadas aos dentes são dissipadas parcialmente na ATM, modelos que utilizam uma modificação na consistência da dieta nutricional têm sido frequentemente empregados para que se consiga diminuição de carga sobre a ATM *in vivo*. Estes estudos têm provado que animais alimentados com dieta mole são caracterizados por redução na densidade do osso trabecular subcondral). Mavropoulos et al. (2004) e Kunii et al. (2008), Zhou e Xiang (2013) aplicaram alterações oclusais utilizando dispositivos, e Shimomoto et al. (2007) e Wada et al. (2008) por extração de dentes.

Outro fator importante que envolve alterações na morfologia da ATM é a mudança de posicionamento do côndilo mandibular. Kuroda et al., (2011) utilizou o deslocamento posterior do côndilo como modelo experimental através de um guia nos incisivos em ratos, produzindo uma diminuição significativa na quantidade de osso trabecular na região anterior do côndilo, avaliada por micro tomografia (micro-CT) e análise histológica.

No adulto, o côndilo da mandíbula é composto por osso esponjoso, coberto por uma delgada camada de osso compacto revestido por uma espessa camada de tecido conjuntivo fibroso. As trabéculas ósseas se orientam de modo a alcançar um ângulo reto com a camada de cobertura, aumentando, assim, a resistência do côndilo. O tecido ósseo tem dois componentes básicos: células e matriz orgânica, sobre a qual se depositam os componentes inorgânicos. Para se adaptar a novas situações fisiológicas ou patológicas, como por exemplo, sobrecargas ocorridas pela ausência de dentes ou contatos prematuros, o osso está em constante remodelação, por meio de reabsorção e deposição de matriz óssea (Jiao et al., 2010).

Estudos comparativos e experimentais têm documentado a relação entre a orientação trabecular e as cargas mecânicas. Muitos desses estudos compararam a orientação trabecular entre espécies, principalmente em primatas, com diferentes morfologias ósseas (MacLatchy e Müller, 2002; Ryan e van Rietbergen, 2005).

A avaliação por computacionais em estudos morfológicos foi possível devido à utilização de micro-CT para construção dos modelos computacionais de animais como os ratos (Koizumi et al., 2010).

3 PROPOSIÇÃO

Alterações das forças oclusais resultam em mudanças na morfologia de estruturas mandibulares relacionadas com a mastigação. A hipótese deste estudo é que o osso trabecular no côndilo da mandíbula de ratos ajusta a sua orientação em resposta a uma mudança biológica como a sobrecarga oclusal na região molar de ratos.

Objetivo geral: avaliar a orientação trabecular do côndilo da mandíbula em ratos adultos com sobrecarga oclusal.

Objetivos específicos:

- avaliar, em períodos distintos e progressivos, a orientação trabecular do côndilo da mandíbula em ratos adultos com sobrecarga oclusal.
- avaliar, em períodos distintos e progressivos, os efeitos da sobrecarga oclusal na região molar de ratos, por meio da avaliação da orientação trabecular em microCT, e relacionar estes resultados com a remodelação óssea.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostra

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Instituto de Biologia (IB) da UNICAMP, sob protocolo número: 3451-1 (Anexo 1).

Foram utilizados 45 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*), linhagem Wistar, com 2 meses de idade (200-250g), provenientes do CEMIB-UNICAMP. Foram mantidos em gaiolas coletivas (quatro animais/caixa), com temperatura em $22 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo de luz controlado (12/12 h) e acesso livre à água e ração. A distribuição dos ratos foi realizada aleatoriamente em grupos distintos para os experimentos:

- *Grupo 1 (n=36)*: ao completarem 2 meses de idade, foi realizada a aplicação unilateral (lado direito) de resina composta fotopolimerizável (Fill Magic – Vigodent) nos molares superiores (técnica adaptada de Mavropoulos et al., 2004) em 36 ratos, simulando uma condição de contato prematuro posterior. Em seguida, estes animais foram distribuídos em 4 subgrupos (n=9) de acordo com o período de eutanásia: 7, 14, 21, e 28 dias pós aplicação da resina.

- *Grupo 2 (n=9)*: ao completarem 2 meses de idade, foi mantida a dentição sem alteração oclusal (sem aplicação da resina) nos ratos constituindo o grupo controle. A partir da idade inicial (2 meses), estes animais foram eutanasiados com 28 dias. Com 5 diferentes grupos, *testpower* 0.9, *alfa* 0.05, desvio padrão dos residuais 0.1 e diferença mínima detectável de 0.2, o número mínimo é 9 (nove) animais por grupo (45 no total) (programa GraphPad Prism 6, Inc.).

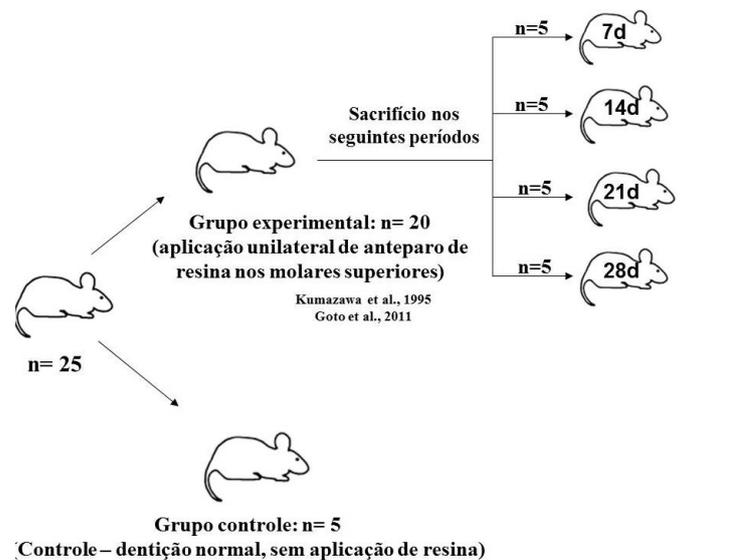


Figura 1 - Esquema dos grupos de ratos utilizados neste projeto e respectivos períodos experimentais.

4.2 *Desenho experimental*

4.2.1 *Indução da condição de sobrecarga oclusal*

O procedimento foi realizado sob anestesia geral utilizando solução de quetamina (40-87 mg/kg) e relaxante muscular xilasina (5-13 mg/kg), por via intraperitoneal. Uma vez verificada a sedação e os sinais de anestesia, o animal foi posicionado sobre uma placa semelhante à descrita por Doku et al. (1966). A indução da condição de sobrecarga oclusal foi realizada pela aplicação unilateral (lado direito) de resina composta fotopolimerizável (Fill Magic – Vigodent) nos molares superiores (técnica adaptada de Kumasawa et al., 1995) com espessura de 1 mm no primeiro, segundo e terceiro molares.

4.2.2 *Eutanásia e remoção da cabeça*

A morte dos animais foi realizada nos períodos propostos anteriormente (7, 14, 21, e 28 dias pós-aplicação da resina) para o grupo experimental e 28 dias após a idade inicial (de 2 meses) para o grupo controle por dose excessiva de anestésico. A cabeça foi desarticulada do corpo e dissecada para retirada em bloco e fixada em solução de formol a 10% e tampão fosfato 0,1M (pH 7,4), durante 24h a 4°C.

4.3 *Escaneamento e processamento das imagens*

As peças foram escaneadas em um microtomógrafo SkyScan 1174 (SkyScan, Leuven, Bélgica) com pico de voltagem de 50 kV, amperagem de 800 mA. O microtomógrafo pertence ao Centro de Microscopia e Imagens da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP. Foi realizado um escaneamento de cada mandíbula. A espessura dos cortes (tamanho dos pixels) foi de 6 µm. Após o escaneamento, estas imagens foram exportadas para o software NRecon Reconstruction (SkyScan, Leuven, Bélgica), no qual foram reconstruídas tridimensionalmente em cortes axiais apresentando os coeficientes de atenuação de raios-x com valores relativos à estrutura óssea (Figura 1). Para obtenção dos valores corretos dos coeficientes de atenuação foi realizada calibração baseada nos valores referentes ao meio aquoso (solução de formol a 10% e tampão fosfato 0,1M (pH 7,4) (Jiao et al., 2010), o qual foi escaneado.



Figura 2 - Exemplo de escaneamento do côndilo da mandíbula do rato pertencente ao grupo 28 dias. Imagem em corte coronal visualizada no software CT-Analyzer (SkyScan, Leuven, Bélgica).

4.4 *Análise da orientação trabecular do côndilo da mandíbula*

Após a reconstrução tridimensional do côndilo da mandíbula direito, as medidas para a avaliação da orientação trabecular foram realizadas no software CT-Analyzer (SkyScan, Leuven, Bélgica). Esta avaliação da orientação trabecular no côndilo direito de cada mandíbula foi realizada de acordo com os parâmetros estruturais estabelecidos por Barak et al. (2011).

4.5 *Análise dos resultados*

Os dados de volume obtidos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn (post hoc). O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha=0,05$). A análise foi realizada no software GraphPad Prism 6, Inc.

5 RESULTADOS

As diferenças foram analisadas pelo teste de Dunn como consta no Materiais e Métodos (item 3.5). A Tabela 1 mostra a média (\pm desvio padrão) e a mediana (desvio interquartílico) das variáveis em função dos períodos observados.

Tabela 1 - Valores de Média (\pm desvio padrão) e de mediana (desvio interquartílico) das variáveis em função dos períodos avaliados

	CONTROLE	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS	28 DIAS
ESPESSURA TRABECULAR (mm)	0.2 (\pm 0.017) [0.2 - 0]	0.12 (\pm 0.007) [0.12 - 0.01]	0.15 (\pm 0.015) [0.14 - 0.01]	0.18 (\pm 0.018) [0.18 - 0.01]	0.19 (\pm 0.011) [0.19 - 0.01]
NÚMERO DE TRABÉCULAS (1/mm)	0.415 (\pm 0.189) [0.39 - 0.023]	0.616 (\pm 0.093) [0.61 - 0.064]	0.765 (\pm 0.236) [0.84 - 0.16]	0.426 (\pm 0.098) [0.43 - 0.094]	0.827 (\pm 0.088) [0.85 - 0.083]
SEPARAÇÃO TRABECULAR (mm)	0.879 (\pm 0.046) [0.89 - 0.023]	0.85 (\pm 0.015) [0.85 - 0.01]	0.83 (\pm 0.07) [0.83 - 0.057]	0.864 (\pm 0.023) [0.86 - 0.025]	0.752 (\pm 0.02) [0.75 - 0.012]

As figuras 2 e 3 mostram os resultados referentes à Tabela 1. Foi possível observar que a espessura trabecular diminuiu já no 7º dia, decrescendo até o 21º dia, sendo que no 28º dia, os valores não exibiram diferenças estatisticamente significantes (teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$ com o controle). O número de trabéculas aumentou no 7º e 14º dias, diminuindo para níveis similares ao controle no 21º dia e aumentando no 28º dia. A separação trabecular diminuiu no 7º dia em relação ao controle e apresentou tendência de se manter menor que o controle nos períodos seguintes.

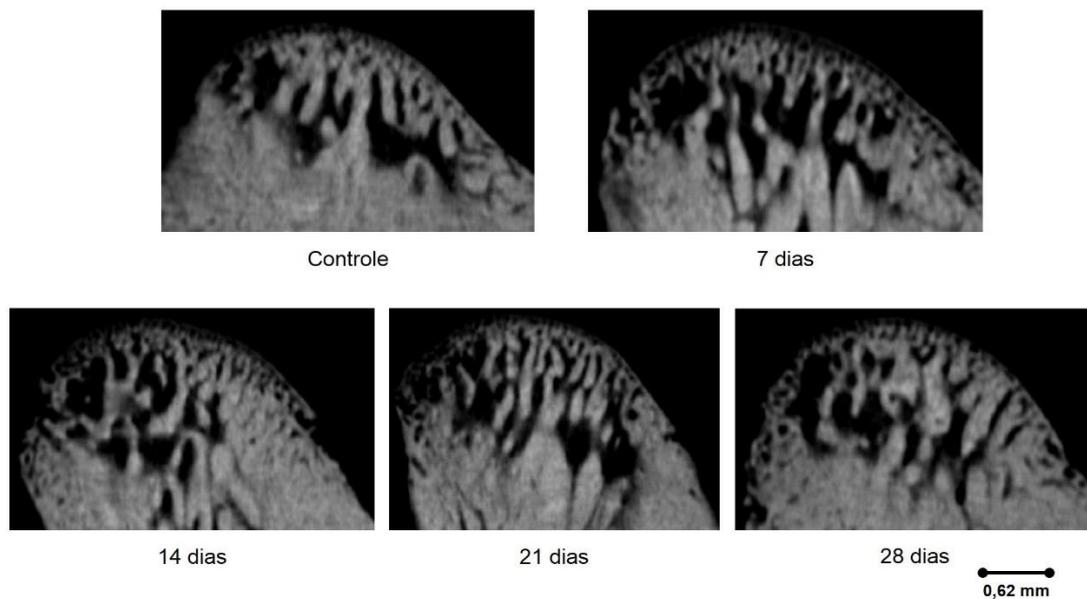


Figura 3- Escaneamentos do côndilo da mandíbula com espessura dos cortes de 6.6 μ m para análise 3D. Exemplo de escaneamento em cada período avaliado: controle, 7, 14, 21 e 28 dias.

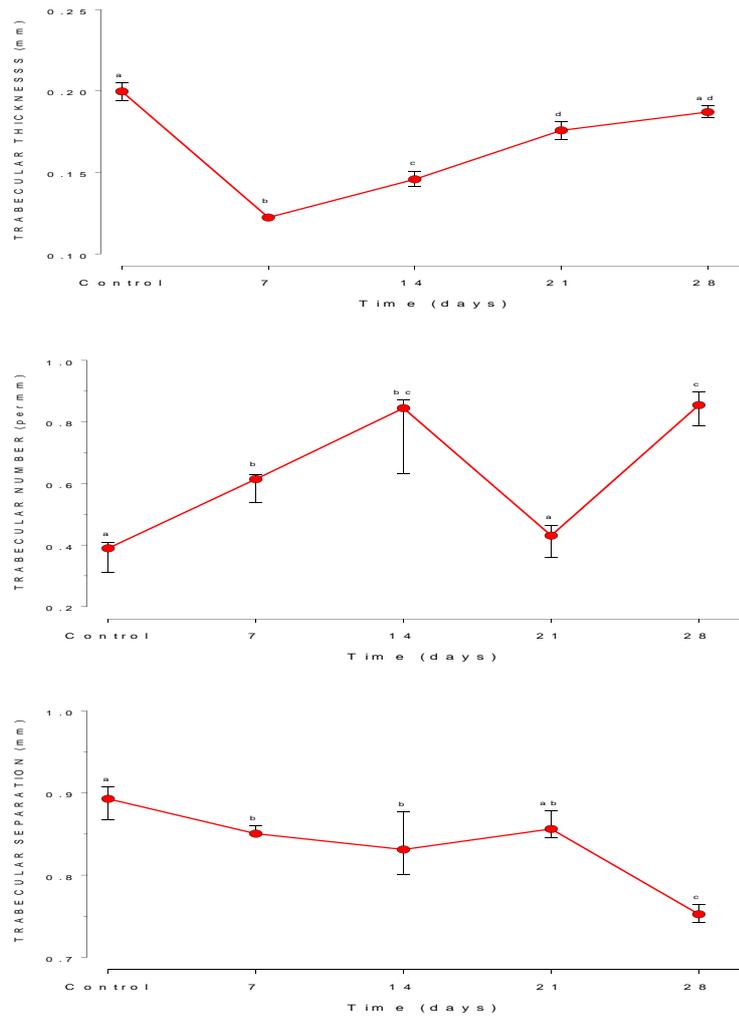


Figura 4 -Os gráficos mostram os parâmetros trabeculares avaliados em função do tempo (período de eutanásia) (teste de Kruskal-Wallis, $p < 0.05$). Trabecular thickness (= espessura trabecular); trabecular number (= número de trabéculas); trabecular separation (= separação trabecular).

Nossos achados mostraram que, em ratos com a alteração oclusal induzida, as trabéculas ósseas se mostraram numerosas e com menos espaços, porém mais delgadas, indicando perda de massa óssea.

6 DISCUSSÃO

O côndilo da mandíbula se articula com o osso temporal para formar a ATM, a qual é constantemente sujeita às forças funcionais da oclusão (Kosugi et al., 2014). A micro-CT é um método preciso para avaliar a arquitetura tridimensional de variáveis do osso trabecular do côndilo da mandíbula (Mulder et al., 2005; Mulder et al., 2006). Recentemente, a micro-CT tem sido aplicada em estudos para quantificar o tecido ósseo cortical e trabecular em diversas situações experimentais (Cooper et al. 2003; Martín-Badosa et al., 2003; Bousson et al., 2004; Matsumoto et al., 2006). No presente estudo, o osso trabecular (subcondral) do côndilo da mandíbula de ratos foi quantificado usando micro-CT. A partir de um modelo experimental em ratos Wistar, no qual uma condição de sobrecarga mastigatória foi reproduzida (incremento de resina na superfície oclusal dos molares de ratos e, conseqüente, alteração na mastigação), nós quantificamos o osso trabecular do côndilo da mandíbula de acordo com parâmetros mecânicos específicos para este tecido. O osso trabecular foi selecionado para análise, pois é considerado um tecido com alta taxa de turnover e responde mais rapidamente às cargas mecânicas do que o osso cortical (Beaupré et al. 1990). Provavelmente, devido à maior superfície óssea disponível no osso trabecular em relação ao cortical tanto para atividade osteoblástica quanto osteoclástica. (Renders et al., 2007). A diminuição da função mastigatória tem sido relatada quando existe a perda do dentes ou alguma alteração oclusal, principalmente dos dentes posteriores (Boretti et al., 1995). Esta redução está associada à função dos músculos da mastigação (Newton et al., 1993) e uma redução da força de mordida (Helkimo et al., 1977), o que implica em uma redução das forças atuando para o côndilo da mandíbula. Como o osso reage frente a um ambiente mecânico (Turner, 1998; Huiskes, 2000), é provável que a morfologia do côndilo da mandíbula se altere. Nossos achados mostraram que frente à sobrecarga mastigatória ocasionada pelo incremento de resina na região dos dentes posteriores (molares), a espessura das trabéculas ósseas do côndilo da mandíbula diminuiu no 7º dia, decrescendo até o 21º dia, em relação ao grupo controle. Os valores encontrados para a espessura trabecular foram consistentes com os reportados por Skedros et al. 9 (1997) e Lai et al. (2005). Estes autores relataram que, em geral, quanto maior o valor da carga mecânica aplicada sobre o osso trabecular, maior a taxa de remodelação óssea, e então, menor a espessura das trabéculas ósseas. Nossos resultados mostraram que o número de trabéculas aumentou nos 7º e 14º dias, diminuindo para níveis similares ao controle no 21º dia e aumentando no 28º dia. Assim, a remodelação do osso trabecular foi associada com mais trabéculas adelgaçadas e não com uma diminuição do número de trabéculas, pelo menos, até o período das duas semanas iniciais de alteração oclusal. Além disso, as fenestrações dentro do osso tornam-se menores, sem diluição das placas ósseas, devido ao fato de nossos achados mostrarem que separação trabecular diminuiu no 7º dia em relação ao controle e apresentou tendência de se manter menor que o controle nos períodos seguintes. Esta relação entre número e separação das trabéculas mostra que são parâmetros inversamente proporcionais, ou seja, com a o aumento do número de trabéculas, os espaços entre as mesmas reduz. Os estudos que abordam a relação entre a estrutura óssea trabecular tridimensional e

biomecânica do côndilo da mandíbula geralmente apontam a importância, em humanos, para aplicações na clínica odontológica. Giesen et al. (2003) e Giesen et al. (2004) mostraram que apesar da aparente normalidade do trabeculado ósseo da côndilo da mandíbula de humanos com alterações oclusais, a presença dos espaços trabeculares foram reduzidos, indicando que cargas mecânicas alteradas da mastigação apresentam um significativo efeito na estrutura e conseqüentemente na espessura das trabéculas.

7 CONCLUSÃO

Nestes estudos e nos nossos achados, em ratos com uma alteração oclusal comum na clínica odontológica, apesar da sugestividade, as trabéculas ósseas se mostraram numerosas e com menos espaços, porém mais delgadas, indicando perda de massa óssea.

REFERÊNCIAS

Barak MM, Lieberman DE, Hublin JJ. A Wolff in sheep's clothing: trabecular bone adaptation in response to changes in joint loading orientation. *Bone*. 2011 Dec;49(6):1141-51. doi: 10.1016/j.bone.2011.08.020.

Doku HC, Shklar G, Bugbee B. The effect of epsilon aminocaproic acid on the healing of extraction wounds in hamsters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1966. Nov;22(5):569-77.

Huja SS, Rummel AM, Beck FM. Changes in mechanical properties of bone within the mandibular condyle with age. *J Morphol*. 2008 Feb;269(2):138-43

Jiao K, Dai J, Wang MQ, Niu LN, Yu SB, Liu XD. Age- and sex-related changes of mandibular condylar cartilage and subchondral bone: a histomorphometric and micro-CT study in rats. *Arch Oral Biol*. 2010 Feb;55(2):155-63.

Koizumi Y, Ishii T, Nishii Y, Nojima K, Sueishi K. Influence of experimental hemi-occlusion on mandibular morphology and internal structure in growing rabbit. *Orthodontic waves*, 2010, 69: 58-65.

Kunii R, Yamaguchi M, Aoki Y, Watanabe A, Kasai K. Effects of experimental occlusal hypofunction, and its recovery, on mandibular bone mineral density in rats. *Eur J Orthod*. 2008 Feb;30(1):52-6.

Kuroda Y, Yonemitsu I, Hosomichi J, Watari I, Takei M, Ishida Y, Ono T. Intermittent posterior displacement of the rat mandible in the growth period affects the condylar cancellous bone. *Angle Orthod*. 2011 Nov;81(6):975-82. doi:10.2319/122810-749.1.

LeBlanc AD, Spector ER, Evans HJ, Sibonga JD. Skeletal responses to space flight and the bed rest analog: a review. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2007 Jan-Mar;7(1):33-47. Review.

MacLatchy L, Müller R. A comparison of the femoral head and neck trabecular architecture of Galago and Perodicticus using micro-computed tomography (microCT). *J Hum Evol*. 2002 Jul;43(1):89-105.

Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med*. 1995 Feb 2;332(5):305-11. Review.

Mavropoulos A, Ammann P, Bresin A, Kiliaridis S. Masticatory demands induce region-specific changes in mandibular bone density in growing rats. *Angle Orthod.* 2005 Jul;75(4):625-30.

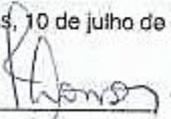
Mavropoulos A, Kiliaridis S, Bresin A, Ammann P. Effect of different masticatory functional and mechanical demands on the structural adaptation of the mandibular alveolar bone in young growing rats. *Bone.* 2004 Jul;35(1):191-7.

Ryan TM, van Rietbergen B. Mechanical significance of femoral head trabecular bone structure in Loris and Galago evaluated using micromechanical finite element models. *Am J Phys Anthropol.* 2005 Jan;126(1):82-96.

Shimomoto Y, Chung CJ, Iwasaki-Hayashi Y, Muramoto T, Soma K. Effects of occlusal stimuli on alveolar/jaw bone formation. *J Dent Res.* 2007 Jan;86(1):47-51.

Wada H, Hosomichi J, Shimomoto Y, Soma K. Influence of occlusal hypofunction on the elastic property and bone formation of rat alveolar bone. *Orthod Waves.* 2008, 67:9-14.

ANEXO 1 - CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA

 UNICAMP	 CEUA/Unicamp
Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/Unicamp	
CERTIFICADO	
<p> Certificamos que o projeto "<u>AVALIAÇÃO DA ORIENTAÇÃO TRABECULAR DO CÔNDILO DA MANDÍBULA EM RATOS ADULTOS COM SOBRECARGA OCLUSAL</u>" (protocolo nº <u>3451-1</u>), sob a responsabilidade de <u>Prof. Dr. Felipe Bevilacqua Prado / Victor Hugo Torso</u>, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e com a legislação vigente, LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, e o DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009. </p> <p> A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização prévia junto ao IBAMA, SISBIO ou CIBio. </p> <p> O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP - em <u>10 de julho de 2014</u>. </p>	
 <hr style="width: 100%;"/> Prof. Dr. Alexandre Leite Rodrigues de Oliveira Presidente	Campinas, 10 de julho de 2014.  <hr style="width: 100%;"/> Fátima Alonso Secretária Executiva