



CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS
MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS

ANDREA WHITEHURST ARY LEITÃO

**A INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM CELECOXIBE EM ALTERAÇÕES
INFLAMATÓRIAS DO GÂNGLIO TRIGEMINAL EM RATOS SUBMETIDOS A
MODELO EXPERIMENTAL DE RESTAURAÇÃO DENTÁRIA COM CONTATO
PREMATURO**

FORTALEZA
2020

ANDREA WHITEHURST ARY LEITÃO

A INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM CELECOXIBE EM ALTERAÇÕES
INFLAMATÓRIAS DO GÂNGLIO TRIGEMINAL EM RATOS SUBMETIDOS A
MODELO EXPERIMENTAL DE RESTAURAÇÃO COM CONTATO PREMATURO

Dissertação apresentada no Curso de Mestrado
em Ciências Odontológicas do Centro
Universitário Christus, como parte das
exigências para conclusão do curso.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Bitu Sousa

Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo Goberlânio
Barros Silva

FORTALEZA
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Centro Universitário Christus - Unichristus
Gerada automaticamente pelo Sistema de Elaboração de Ficha Catalográfica do
Centro Universitário Christus - Unichristus, com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L533i

Leitão, Andrea Whitehurst Ary.

A influência do tratamento com celecoxibe em alterações Inflamatórias do gânglio trigeminal em ratos submetidos a modelo experimental de restauração com contato prematuro / Andrea Whitehurst Ary Leitão. - 2020.

34 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Centro Universitário Christus - Unichristus, Mestrado em Ciências Odontológicas, Fortaleza, 2020.

Orientação: Prof. Dr. Fabrício Bitu Sousa.

Coorientação: Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva.

Área de concentração: Clínica odontológica.

1. Gânglio Trigeminal. 2. Ciclo-Oxigenase. 3. Oclusão Dentária. I. Título.

CDD 617.6

ANDREA WHITEHURST ARY LEITÃO
A INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM CELECOXIBE EM ALTERAÇÕES
INFLAMATÓRIAS DO GÂNGLIO TRIGEMINAL EM RATOS SUBMETIDOS A
MODELO EXPERIMENTAL DE RESTAURAÇÃO COM CONTATO PREMATURO

Dissertação apresentada no Curso de Mestrado em Ciências Odontológicas do Centro Universitário Christus, como parte das exigências para conclusão do curso. Área de concentração: Clínica odontológica. Linha de pesquisa: Clínica odontológica e biomateriais. Orientador: Prof. Dr. Fabrício Bitu Sousa
Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo Goberlânio Barros Silva

Aprovado em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr Fabrício Bitu Sousa

Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Profa.Dra. Francisca Taciana Sousa Rodrigues Maia

Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Profa. Dra. Thâmara Manoela Marinho Bezerra

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ao meu amado esposo Petronio Leitão Filho e ao meu filho,
Petronio, por todo amor, incentivo, apoio e compreensão. Nada
disso teria sentido se vocês não existissem na minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela dádiva da vida e por me permitir realizar tantos sonhos nesta existência. Obrigado por me permitir errar, aprender e crescer, por Sua eterna compreensão e tolerância, por Seu infinito amor, pela Sua voz “invisível” que não me permitiu desistir e principalmente por ter me dado uma família tão especial, enfim, obrigado por tudo.

Ao Prof. Dr. Fabrício Bitu, pela orientação, competência, profissionalismo e dedicação tão importantes. Obrigado por acreditar em mim. Tenho certeza que não chegaria neste ponto sem o seu apoio.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Paulo Goberlanio, que foi super importante durante toda a minha caminhada no mestrado. Com sua sabedoria e expertise no assunto, sempre me conduzindo e me ajudando a trilhar o meu caminho na vida acadêmica.

Aos membros da banca examinadora, Profa Dra. Francisca Taciana Sousa Rodrigues Maia e Profa. Dra. Thâmara Manoela Marinho Bezerra, que tão gentilmente aceitaram participar e colaborar com esta dissertação. Ao Prof. Dr. George Taccio de Miranda Candeiro, agradeço pelo apoio no estágio à docência e pela participação na banca da qualificação com considerações importantes que agregaram a dissertação.

Aos Professores do corpo docente do mestrado pela dedicação, competência, apoio e todo conhecimento a compartilhado. Em especial, Prof. Pedro Henrique Acioly Guedes Peixoto Vieira e Prof. Carlos Eduardo, que tive o privilegio de acompanhar e aprender durante no estágio a docência, acompanhando as disciplinas de Clínica Odontológica IV e Pré-clínica III.

À todos os colegas do mestrado, pelos trabalhos e disciplinas realizados juntos e, principalmente, convívio, amizade e apoio demonstrado durante todo o curso. A parceria de todos vocês foram muito importantes.

À FUNCAPE pelo apoio financeiro e oportunidade concedida para a realização deste curso.

À todos os alunos da iniciação científica da patologia que estiveram presentes durante toda a pesquisa, principalmente a Marcela Borges, por ser tão organizada e me ajudar em todas as etapas da pesquisa e a Joyce Ohana de Lima Martins por me ajudar e ensinar o modelo de pesquisa realizado e ter uma contribuição importante na dissertação, posso dizer que aprendi

muito com vocês. Agradeço também a todos os funcionários do biotério e do laboratório de patologia que possibilitaram essa pesquisa acontecer.

Aos meus sogros Petronio e Tereza Esther Leitão, por apoiarem e sempre acreditarem em mim. Em especial a minha sogra, que não mede esforços para cuidar do meu filho sempre que eu precisei para conseguir escrever a dissertação.

À minha mãe, Kelly Whitehurst de Castro, deixo um agradecimento especial, por todas as lições de amor, companheirismo e amizade. Pelo seu apoio constante, me sinto abençoada todos os dias pelas suas palavras e incentivos a trilhar um caminho lindo na vida acadêmica e profissional. Agradeço também, por todos os princípios e valores que aprendi com você, apenas com o teu exemplo, sempre dando o seu melhor em tudo que faz. Ao meu pai, Marcelo Xavier Ary Andrade, por sempre acreditar em mim. Sinto-me orgulhosa e privilegiada por ter pais tão especiais. E à minha irmã querida, Ethel Whitehurst sempre pronta a me apoiar em tudo nesta vida.

Ao meu amado esposo Petronio Leitão Filho, por todo amor, carinho, compreensão e apoio em tantos momentos difíceis desta caminhada. Você é o melhor parceiro que eu poderia ter nessa vida. Sempre me apoia na minha vida profissional e acredita em mim. Obrigado pelo presente de cada dia, pelo seu sorriso e por ser tão amigo.

Ao meu pequeno, Petronio Whitehurst Leitão, por todo amor incondicional que você sempre me dá. Inúmeras foram as vezes que, às 3 ou 4 horas da manhã, após te dar de mamar, eu ia estudar pra finalizar a minha dissertação. Fiz todo o experimento grávida e durante as análises das lâminas e a escrita aconteceram logo após o teu nascimento, posso dizer que você me deu forças para dar o meu melhor. Feliz por você fazer parte da minha vida.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, a minha sincera gratidão.

“Você ganha força, coragem e confiança através de cada experiência em que você realmente para e encara o medo de frente.” Eleanor Roosevelt

RESUMO

As restaurações com contato prematuro podem modificar o padrão de mordida levando ou potencializando alterações neuroinflamatórias na região maxilofacial e diversas enzimas como a cicloxigenase 2 (COX-2) têm sido relatados no desenvolvimento desta condição em modelos experimentais tradicionais com ratos. Assim, esse estudo se propõe a avaliar a influência da COX-2 no desenvolvimento de alterações inflamatórias na ATM de ratas winstar submetidos ao modelo de restauração com contatos prematuros. Um total de 135 ratas winstar (*Rattus norvegicus*) pesando entre 180-220 gramas foram divididos em cinco grupos experimentais: grupo sham (n=15) não submetido ao modelo e tratado com solução salina estéril, grupo controle (n=30) submetido ao modelo de restauração com contato prematuro e tratado com solução salina estéril, e três grupos teste (n=30/cada) submetidos ao modelo de restauração com contato prematuro e tratado com Celecoxibe (Eurofarma®) diluídos em doses de 8, 16 ou 32 mg/kg, todos administrados por gavagem, diariamente até um dia antes da eutanásia que ocorreu após 1, 3 e 7 dias. Os gânglios trigeminiais foram removidos cirurgicamente, submetidos a processamento histológico e análise histomorfométrica (medição da área média do corpo neuronal). Teste de normalidade Shapiro-Wilk e ANOVA/Bonferroni foram utilizados ($P < .05$, GraphPad Prism 5.0). Em relação variação de massa corpórea os grupos submetidos ao modelo de interferência oclusal (salina e celecoxibe (8,16 e 32 mg/kg) no 7º dia mostraram perda de peso significativa em relação ao grupo sham ($p=0,039$). Houve redução significativa da área média dos corpos neuronais no primeiro, terceiro e sétimo dia após a indução do contato prematuro e o tratamento com celecoxibe reverteu esses eventos de forma dose e tempo dependente.

Palavras chave: Gânglio Trigeminal. Ciclo-Oxigenase 2. Oclusão Dentária.

ABSTRACT

Restorations with premature contact can modify the bite pattern leading or enhancing neuroinflammatory changes in the maxillofacial region and several enzymes such as cyclooxygenase 2 (COX-2) have been reported in the development of this condition in traditional experimental models with rats. So, this study aims to evaluate the influence of COX-2 on the development of inflammatory changes in TMJ of wistar mice submitted to restoration model with premature contacts. A total of 135 wistar female rats (*Rattus norvegicus*) weighing 180-220 were divided into five experimental groups: sham group (n=15) not subjected to the model and treated with sterile saline, control group (n=30) subjected to the premature contact restoration model and treated with sterile saline, and three test groups (n=30 / each) submitted to the premature contact restoration model and treated with celecoxib 8, 16 or 32 mg/kg, all by gavage, one hour before Restorations to the day of euthanasia that will occur after 1, 3, and 7 days. The trigeminal ganglia were surgically removed, subjected to histological processing and histomorphometric analysis (measurement of the average neuronal body area). Normality test Shapiro-Wilk and ANOVA / Bonferroni tests were used ($P < .05$, GraphPad Prism 5.0). About body mass variation The groups submitted to the occlusal interference model (saline and celecoxib (8.16 and 32 mg / kg)) on the 7th day showed significant weight loss in relation to the sham group ($p = 0.039$). There was a significant reduction in the mean area of neuronal bodies on the first, third and seventh day after induction of premature contact and celecoxib treatment reversed these events in a dose and time dependent manner.

Keywords: Trigeminal Nerve. Cyclooxygenase 2. Dental Occlusion.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivo específicos	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Animais, grupos e doses	15
3.2 Cálculo amostral	16
3.3 Protocolo experimental	16
3.4 Confeção de laminas histológicas e análise histomorfométrica do ganglio do nervo trigemeo	18
3.5 Análise estatística	19
4 RESULTADOS	20
5 DISCUSSÃO	25
6 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30
ANEXOS	34

INTRODUÇÃO

A dor orofacial é frequentemente relatada após oclusão inadequada ou patológica clinicamente. Procedimentos dentários, como restaurações de resina, tratamentos protéticos e procedimentos cirúrgicos, podem criar uma desarmonia na oclusão dentária. Alterações na estabilidade oclusal, causam alterações na distribuição das cargas oclusais, refletindo diretamente a dinâmica funcional das articulações temporomandibular, além disso a sobrecarga oclusal pode induzir alterações degenerativas do periodontal, dor e fadiga dos músculos orofaciais e levar a desordens temporomandibulares. Essas condições podem desenvolver condições dolorosas no sistema estomatognático (ABDALLA *et al* 2018; SUN *et al* 2016).

Caracterizada por distúrbios de humor significativos e deficiências neuronais, a dor orofacial é uma das condições de dor mais prevalentes e debilitantes que surgem nas estruturas orais e faciais. A região orofacial é uma das regiões mais inervadas do corpo, tornando difícil gerenciar a dor associada ao sistema trigeminal, como enxaqueca, dor de cabeça, distúrbio da articulação temporomandibular e neuralgia do trigêmeo (KOOSHKI *et al* 2018).

O nervo trigêmeo, que é o quinto nervo craniano, fornece a principal inervação sensorial da face e da boca. Muitas fibras aferentes primárias trigeminais terminam nos tecidos orofaciais como terminações nervosas livres e funcionam como nociceptores. Vários mediadores químicos estão envolvidos na ativação das terminações nociceptivas (por exemplo, prostaglandinas) como resultado de sua liberação após o dano ou inflamação do tecido inervado. Alguns eventos relacionados à inflamação nos tecidos podem produzir alterações intracelulares nos neurônios e células gliais satélites em todas as três divisões do gânglio trigêmeo e, portanto, possivelmente contribuir para mecanismos periféricos subjacentes à disseminação da dor orofacial (SESSLE, 2011).

Uma grande parte da população sofre de disfunção dos músculos e articulações da temporomandibular, sendo as mulheres mais afetadas que os homens numa proporção de 4:1. Em um estudo recente, os autores concluíram que as dores orofaciais tem um impacto negativo na qualidade de vida do paciente, prejudicando as atividades do trabalho (59,09%), da escola (59,09%), o sono (68,18%) e o apetite/ alimentação (63,64%) nos sujeitos pesquisados (MANFREDI, SILVA, VENDITE 2001; OLIVEIRA *et al* 2003; ZANETTINI, ZANETTINI 1999).

Dor e inflamação, apresentam conceitos diferentes, apesar de estreitamente relacionados. A Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) descreve a dor como

uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada a um dano real ou potencial dos tecidos, sendo considerada uma experiência subjetiva de percepção multidimensional, variando tanto na qualidade quanto na intensidade. A inflamação é caracterizada como uma resposta complexa de tecidos vascularizados à injúria celular, onde ocorre uma série de eventos celulares para o controle das infecções, podendo causar dano tecidual. Uma complexa cascata de eventos celulares e bioquímicos, que incluem liberação de mediadores, migração celular, extravasamento de fluídos, ativação enzimática, sensibilização e ativação de receptores, lise tecidual e de reparo acontecem como meio de tentativa de controle e reparo (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008; LOPES; CAMPOS; NASCIMENTO; 2011).

Evidências recentes sugerem que citocinas e quimiocinas são liberadas, não apenas das células imunes, mas também dos neurônios, no local da lesão. Elas participam da atração de mais células imunes ao local da lesão, induzindo a liberação de mediadores inflamatórios. Interações complexas ocorrem entre vários tipos celulares e neurônios aferentes primários no local da lesão, que acabam resultando em mudanças a longo prazo na excitabilidade desses neurônios. Além disso, mediadores inflamatórios são produzidos no processo inflamatório por células do endotélio vascular, pelos leucócitos, por plaquetas circulantes e por células do sistema nervoso periférico. As prostaglandinas são um dos principais mediadores inflamatórios responsáveis por alterações em regiões orofaciais, ela tem sido identificada como potencialmente hiperalgésicos atuando diretamente no nociceptor, promovendo uma redução no limiar de sensibilidade (SILVA *et al* 2020; HOSSAIN *et al* 2017; LOPES; CAMPO; NASCIMENTO 2011).

A ciclooxigenase (COX) é uma enzima que converte o ácido araquidônico em prostaglandinas, entre os metabólitos da COX, a prostaglandina E2 (PGE2) é considerada um dos principais mediadores inflamatórios já conhecidos e a inibição de sua produção pode compreender uma das maneiras mais eficazes para o tratamento da inflamação. Para suprimir essa cascata de sinalização, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) podem ser usados para inibir as enzimas COX e, assim, impedir a produção de prostaglandinas e suprimir as dores orofaciais. Estudos mostram a presença da ciclooxigenase-2 (COX-2) em gânglios do nervo trigêmeo, além disso, foi demonstrado que a superexpressão da COX-2 pode induzir hipersensibilidade e excitabilidade dos terminais sensoriais dos nociceptores (KOOSHKI *et al* 2018; OUANOUNOU; GOLDBER; HASS, 2017; SU *et al* 2014; GAO; DUAN 2010).

A descoberta da COX-2 no início dos anos 90, proporcionou uma oportunidade de suprimir a formação de prostaglandinas de maneira mais direcionada, projetando inibidores com maior afinidade para COX-2 do que para COX-1, os coxibs. A hipótese era a de que as

prostaglandinas inflamatórias são derivadas principalmente da COX-2, enquanto as prostaglandinas formadas pela COX-1 têm geralmente papéis homeostáticos, incluindo a proteção do aparelho gastrointestinal. Assim, esperava-se que os inibidores seletivos da COX-2 causassem menos efeitos colaterais gastrointestinais, atribuídos à inibição da COX-1 (FRIES; GROSSER 2005).

No sistema nervoso periférico, a dor inflamatória pode depender dos fenômenos que ocorrem dentro dos gânglios sensoriais. A transmissão não-sináptica ocorre por mensageiros químicos difusíveis liberados, como citocinas em corpos neuronais cercados por um tipo distinto de células gliais, denominadas células gliais satélite. Esses recursos, exclusivos do sistema nervoso periférico, permitem a ocorrência de comunicação bidirecional através do axônio para a periferia e centro, transmissão química devido à substâncias neuroinflamatórias e interação neurônio-glia levando à excitação cruzada (AFROZ *et al* 2019).

Em modelos animais, estudos mostraram que há um aumento da atividade das células gliais satélites e um aumento no nível de citocinas durante uma condição de dor. A liberação de citocinas a partir das células gliais ativadas pode ser responsável pela persistência da dor. Outros estudos mostraram que a inflamação trigeminal desencadeia a ativação das células gliais satélites, levando à liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e TNF- α , aumentando a atividade dos nociceptores. Todo esse fenômeno ocorre dentro do gânglio trigêmeo, contribuindo para a inflamação neurogênica e a sensação de dor orofacial (SILVA *et al* 2020; ZHANG; BI; GAN 2018; REN; DUBNER 2008; GUO *et al* 2007; RAGHAVENDRA, TANGA, DELEO 2004).

O propósito desse trabalho é investigar por meio de modelo animal os efeitos da oclusão traumática no gânglio trigeminal, a avaliação da presença de COX2 no processo inflamatório gerado e o efeito da utilização de fármacos bloqueadores seletivos de COX2 nos gânglios trigeminiais. Com os resultados obtidos espera-se melhor compreender os efeitos dos AINES seletivos para COX2 no tratamento da dor não fisiológica gerada por contatos prematuros.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Avaliar a influência do tratamento com celecoxibe nas alterações microscópicas dos gânglios trigeminiais de ratos submetidos a modelo experimental de restauração com contato prematuro

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a influência do bloqueio da COX-2 por meio de tratamento com celecoxibe na variação de massa corpórea de ratos submetidos a modelo de restauração com contato prematuro.

- Avaliar a influência do bloqueio da COX-2 por meio de tratamento com celecoxibe através de histomorfometria as alterações microscópicas dos gânglios de ratos submetidos a modelo de restauração com contato prematuro

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais, grupos e doses

O protocolo experimental teve aprovação pela Comissão Ética no Uso de Animais do Centro Universitário Christus (Unichristus, Fortaleza, Ceará, Brasil) e foi consistente com as diretrizes éticas da Associação Internacional do Estudo da Dor (Protocolo 036/18) (Anexo I). Ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) fêmeas foram utilizados nessa pesquisa. Os animais (180-200g) foram mantidos com água e ração *ad libitum*, em ciclo claro-escuro de 12h, temperatura de 20-25°C e pesados diariamente. Os animais foram aleatoriamente (comando “Aleatório”, Microsoft Excel, 2010, Microsoft Corporation®) divididos em cinco grupos:

- Grupo Sham (n=5): grupo controle não submetido ao modelo experimental e tratado com solução salina 0,1ml/kg
- Grupo controle (n=10): grupo submetido ao modelo de restauração com contato prematuro tratado com solução salina 0,1ml/kg
- Grupo teste 1 (n=10): grupo submetido ao modelo de restauração com contato prematuro tratado com celecoxibe 8 mg/kg
- Grupo teste 2 (n=10): grupo submetido ao modelo de restauração com contato prematuro tratado com celecoxibe 16 mg/kg
- Grupo teste 3 (n=10): grupo submetido ao modelo de restauração com contato prematuro tratado com celecoxibe 32 mg/kg

Tabela 1: Distribuição do animais por grupos.

Grupos	Eutanásia		
	1 dia	3 dias	7 dias
SHAM	5	5	5
SALINA*	10	10	10
CEL 8 mg/kg*	10	10	10
CEL 16 mg/kg*	10	10	10
CEL 32 mg/kg*	10	10	10

*Presença de contato prematuro.

3.2 Cálculo amostral

Baseado no estudo de Ahn *et al.* (2007) que após tratamento com NS-398, um fármaco experimental inibidor seletivo de COX-2 (FUTAKI *et al.*, 1994), observou redução significativa na duração média do tempo de coçada em ratos submetidos a modelo de inflamação aguda por formalina em ATM (123 ± 53 segundos para 55 ± 43) (\pm desvio-padrão), estima-se necessário, com uma confiança de 95%, 10 animais por grupo de estudo a fim de obter uma amostra com 90% de poder de rejeitar a hipótese de nulidade deste trabalho. Para o grupo Sham, será utilizado apenas metade dessa amostra ($n=5$), tendo em vista a ausência de variação que possa ocorrer nesse grupo.

3.3. Protocolo experimental

Os métodos utilizados para produzir interferência oclusal foram adaptados do protocolo de Cao *et al* (2009). O dispositivo de interferência oclusal foi confeccionado previamente de resina composta (Z350 3M®) em incremento único, realizado manualmente de forma padrão com medidas de $100 \times 20 \times 1,3$ mm (Comprimento x largura x espessura). Após fotopolimerização de 40 segundos (Poly, Wireless, Kavo®), as bordas dos dispositivos foram ajustadas com lixa de unha para os mesmos não machucarem a mucosa oral dos animais, além disso foi realizada medição da espessura de todos os dispositivos para padronizar a intensidade da interferência oclusal. A espessura dos dispositivos foi medida com paquímetro digital de precisão de 0,05mm (Lorben®) e não diferiu significativamente ($0,89 \pm 0,013$ para o grupo salina, $0,88 \pm 0,013$ para os grupos de concentração 8mg/kg, $0,88 \pm 0,012$ para os grupos de concentração 16mg/kg e $0,87 \pm 0,014$ para os grupos de concentração de 32mg/kg, [$p=0,890$]) As restaurações foram fixadas sobre os molares superiores esquerdos, utilizando um sistema adesivo convencional de dois passos para resina composta (3M, universal) para os grupos de interferência oclusal.

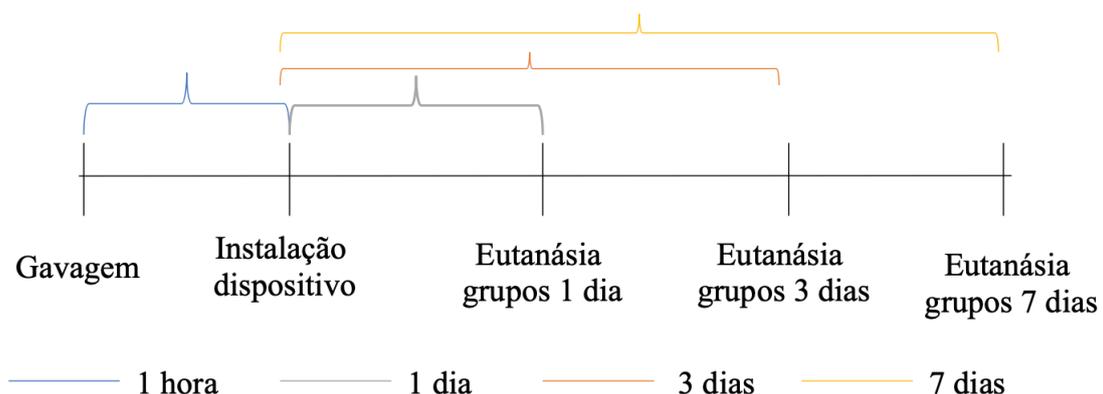


Figura 1: Sequência adotada no protocolo experimental.

O grupo teste foi submetido uma hora antes do procedimento à gavagem de Celecoxibe, demonstrado na figura 2, nas concentrações sugeridas, sendo a concentração base estimada no estudo de Guo *et al* (2009) e as demais construídas por meio de curva dose-resposta com doses duas vezes superior e inferior (8, 16 e 32 mg/kg). Os comprimidos de celecoxibe (Eurofarma®) foram dissolvidos em solução salina estéril em volume de 0,1ml/kg. Os grupos Sham e controle foram submetidos a gavagem do mesmo volume equivalente de soro fisiológico. As administrações continuaram diariamente até o desfecho de cada protocolo.

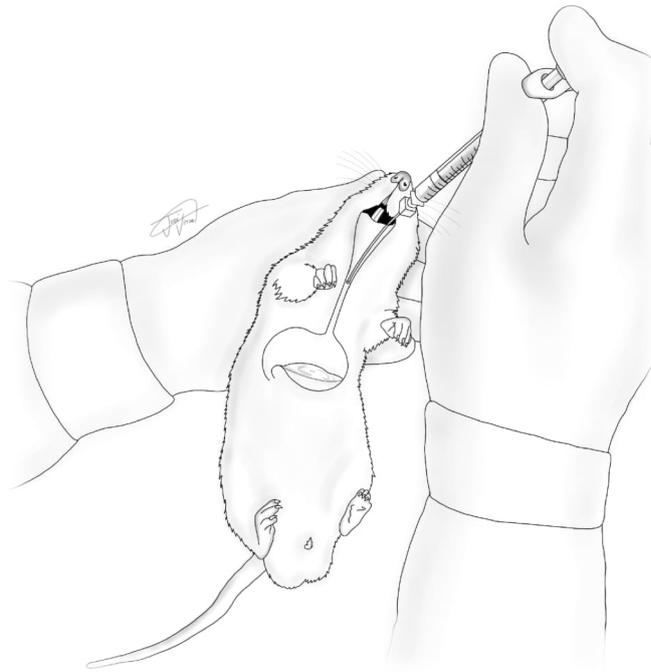


Figura 2: Modelo de administração dos fármacos por meio de gavagem.

Após anestesia dos animais com xilazina (20mg/kg) e quentamina (80mg/kg), os animais foram posicionados na posição de decúbito dorsal e a boca foi mantida aberta com um abridor de boca feito de clipe de metal (número 8/0, ACC®). O ácido fosfórico 37% (DFL®) foi aplicado sobre a superfície oclusal do molares superiores esquerdos durante 40 segundos e após lavagem da superfície com gaze embebida em água destilada para retirar o excesso de material e a *smear layer*, a superfície foi seca com uma nova gaze e realizou-se a aplicação do sistema adesivo (universal, 3M®) sobre toda a superfície dos dentes condicionados com microbrushs individuais e estéreis. Após aplicação do adesivo o mesmo foi fotopolimerizado durante 20 segundos com fotopolimerizador convencional (Kavo®). Uma fina camada de resina flow (Oppalis Flow, FGM®) foi aplicada sobre a superfície condicionada e o dispositivo

previamente confeccionado foi acomodado e pressionado na região. A figura 3 demonstra o dispositivo instalado. Após a fotopolimerização de 40 segundos, foi realizada a checagem da estabilidade do dispositivo e os animais foram alojados em caixas de polipropileno e acompanhados até o retorno da anestesia.

Os animais foram eutanasiados por sobredose de xilazina (20mg/kg) e quentamina (80mg/kg) após 1, 3 e 7 dias da indução do contato prematuro para excisão cirúrgica dos gânglios do nervo trigêmeo para processamento histológico.

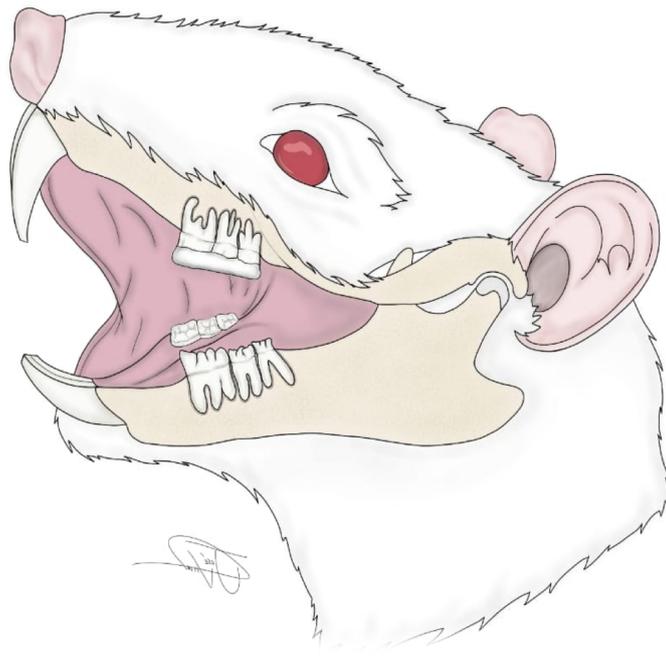


Figura 3: Desenho esquemático da interferência dentária oclusal do modelo experimental em ratos.

3.4 Confeção de lâminas histológicas e análise histomorfométrica do gânglio do nervo do trigêmeo

Após fixação, os gânglios do nervo trigêmeo esquerdo e direito foram desidratados usando uma série alcoólica graduada, diafanizados com xilol e impregnados com parafina. As amostras foram colocadas em moldes à temperatura ambiente e cortadas em seções de 3 μm de espessura, coradas com hematoxilina e eosina (HE). Cinco microcampos (400x) de cada lâmina foram fotografados com uma câmera fotográfica (U-TV0.63XC, Olympus®) acoplada em um microscópio óptico (BX43, Olympus®) com o software Olympus Soft Imaginig LCMicro (Olympus®) e exportados para o ImageJ ® para análise histomorfométrica. A figura 4 demonstra um exemplo de como é feita análise da área do corpo neural e os corpos neurais

avaliados na lamina em questão. Um pesquisador treinado mediu manualmente a área de cada corpo celular (ICHIKAWA; JACOBOWITZ; SUGIMOTO, 1993). A média das áreas dos corpos celulares foi a unidade amostral.

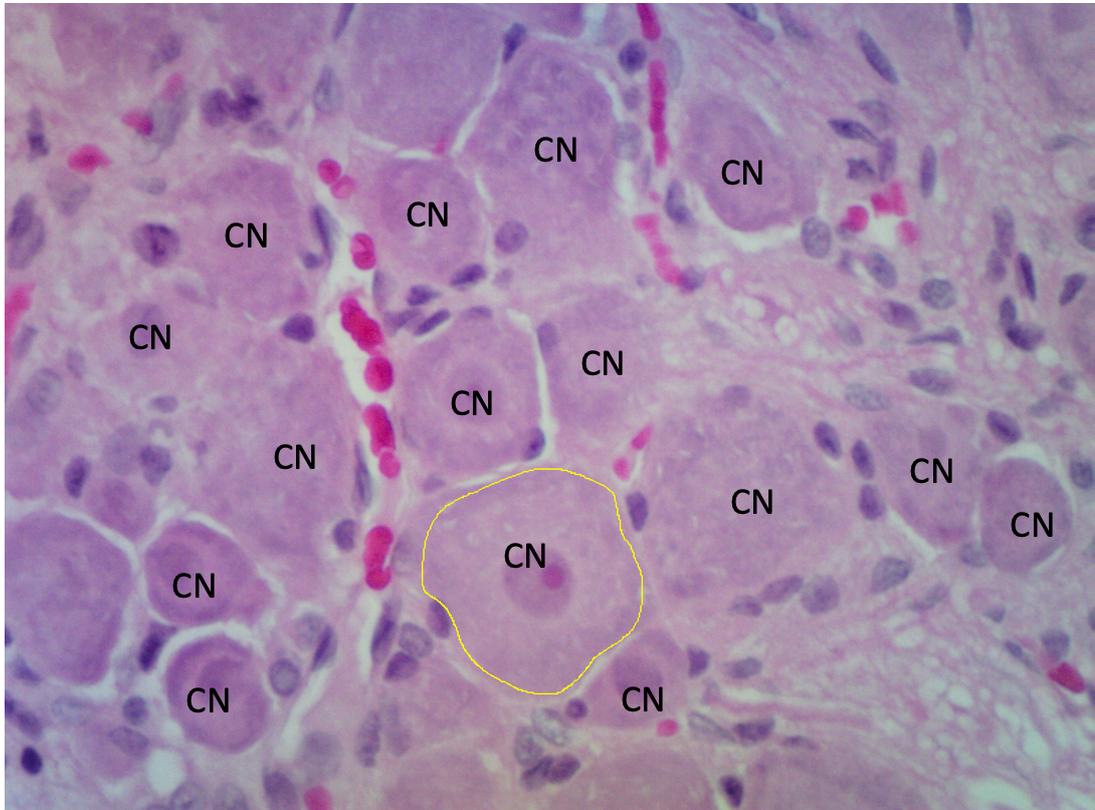


Figura 4: Demonstração de medição de corpo neural utilizando o software ImajeJ ®. (CN) representa os corpos neurais avaliados no campo da lâmina histológica. Os corpos neurais que não estão completos na fotografia não foram medidos.

3.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, expressas em forma de média \pm erro padrão da média e comparados por meio do teste ANOVA/Bonferroni (dados paramétricos). Todas as análises foram realizadas utilizando o software estatístico GraphPad Prism 5.0®, considerando uma confiança de 95% ($p < 0.05$).

4. RESULTADOS

Na análise da espessura dos dispositivos de interferência oclusal não houve diferença estatística significativa da espessura dos dispositivos entre os grupos salina e os demais grupos tratados com celecoxibe oral (8, 16 e 32 mg/kg) ($p=0,899$).

Tabela 2: Análise da espessura dos dispositivos de interferência oclusal entre os grupos de animais e tratados com diferentes doses de celecoxibe.

	Grupos				p-Valor
	Sal	CEL8	CEL 16	CEL32	
Tamanho do dispositivo (mm)	0,893±0,013	0,889±0,013	0,889±0,012	0,879±0,014	0,899

* $p<0,05$ versus Sham; ANOVA-1-way/Bonferroni (Média±EPM). Sal 0,1ml/kg; CEL 8 = 8mg/kg; CEL 16 = 16 mg/kg; CEL 32 = 32 mg/kg.

Com relação variação de massa corpórea entre os grupos sham, salina e tratados com celecoxibe (8,16 e 32 mg/kg) no 1º e 3º dia não apresentaram diferença estatística significativa referente a perda ou ganho de massa corpórea do animal. Os grupos submetidos ao modelo de interferência oclusal (salina e celecoxibe (8,16 e 32 mg/kg)) no 7º dia mostraram perda de peso significativa em relação ao grupo sham ($p=0,039$).

Tabela 3: Variação de massa corpórea em animais submetidos a modelo de interferência oclusal e tratados com diferentes doses de celecoxibe.

	Tempo (Dias)			p-Valor
	D1	D3	D7	
Variação de massa (%)				
Sham	100,21±0,68	101,88±0,49	112,84±1,19	0,039
Sal	98,15±1,81	98,98±1,98	102,64±2,81*	
CEL 8	100,01±0,24	100,67±1,57	98,90±1,02*	
CEL 16	100,28±0,78	106,07±0,71	98,37±0,43*	
CEL 32	100,05±0,36	99,19±0,74	97,08±1,35*	

* $p<0,05$ versus Sham; ANOVA-2-way/Bonferroni (Média±EPM). Sham = 0,1ml/kg; Sal 0,1ml/kg; CEL 8 = 8mg/kg; CEL 16 = 16 mg/kg; CEL 32 = 32 mg/kg.

A análise histomorfométrica dos gânglios dos animais mostrou após 1 dia redução significativa da área média dos corpos neuronais do grupo Sham para o grupo salina no lado contralateral ($p=0,037$), mas não no lado ipsilateral ($p=0,470$). O tratamento com celecoxibe 8 e 16 mg/kg não reverteu significativamente esse processo, mas o tratamento com celecoxibe 32 mg/kg reverteu completamente essa alteração no lado contralateral, quando a área dos corpos neuronais desses grupos mostrou-se significativamente superior aos corpos neuronais dos animais do grupo salina (Figura 5).

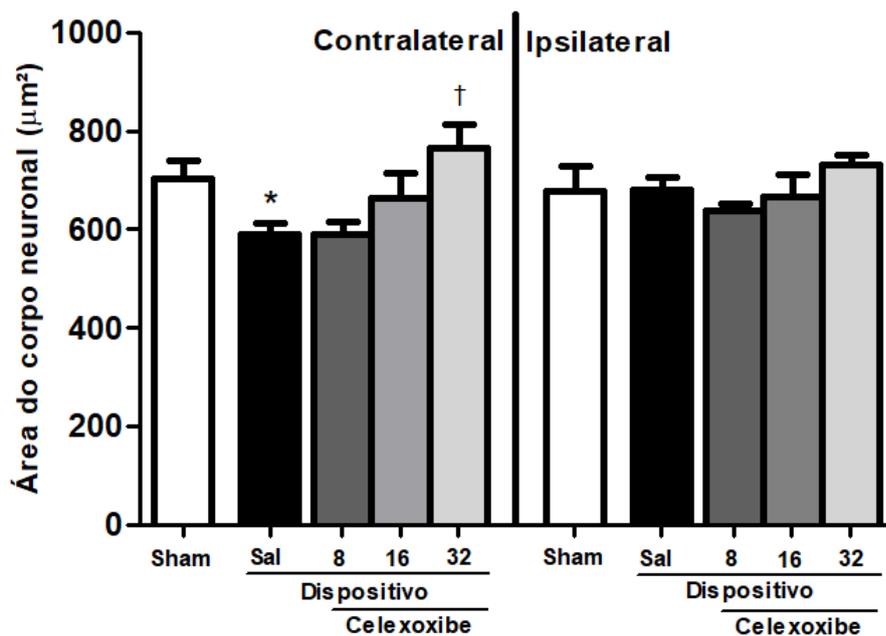


Figura 5: Média da área dos corpos neuronais dos animais submetidos a modelo de contato prematuro e tratados com diferentes doses de celecoxibe oral (8, 16 e 32 mg/kg) após um dia da indução do modelo.

* $p < 0,05$ versus Sham; † $p < 0,05$ versus salina (média \pm EPM) (ANOVA/Bonferroni).

A análise histomorfométrica dos gânglios dos animais mostrou após 3 dias redução significativa da área média dos corpos neuronais do grupo Sham para o grupo salina no lado contralateral ($p=0,036$), mas não no lado ipsilateral ($p=0,985$). O tratamento com celecoxibe 8 e 16 mg/kg não reverteu significativamente esse processo, mas o tratamento com celecoxibe 32 mg/kg reverteu completamente essa alteração no lado contralateral, quando a área dos corpos neuronais desses grupos mostrou-se significativamente superior aos corpos neuronais dos animais do grupo salina (Figura 6).

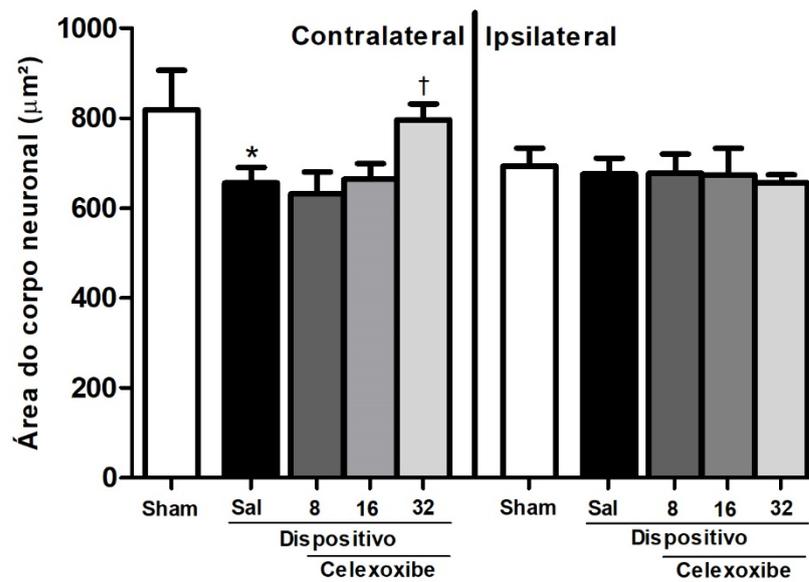


Figura 6: Média da área dos corpos neuronais dos animais submetidos a modelo de contato prematuro e tratados com diferentes doses de celecoxibe oral (8, 16 e 32 mg/kg) após três dias da indução do modelo.

* $p < 0,05$ versus Sham; † $p < 0,05$ versus salina (média \pm EPM) (ANOVA/Bonferroni).

A análise histomorfométrica dos gânglios dos animais mostrou após 7 dias redução significativa da área média dos corpos neuronais do grupo Sham para o grupo salina tanto no lado contralateral ($p < 0,001$) como do lado ipsilateral ($p = 0,038$). O tratamento com celecoxibe 8 mg/kg não reverteu significativamente esse processo, mas o tratamento com celecoxibe 16 e 32 mg/kg reverteu completamente essa alteração no lado contralateral e completamente do lado ipsilateral, quando a área dos corpos neuronais desses grupos mostrou-se significativamente superior aos corpos neuronais dos animais do grupo salina (Figura 7).

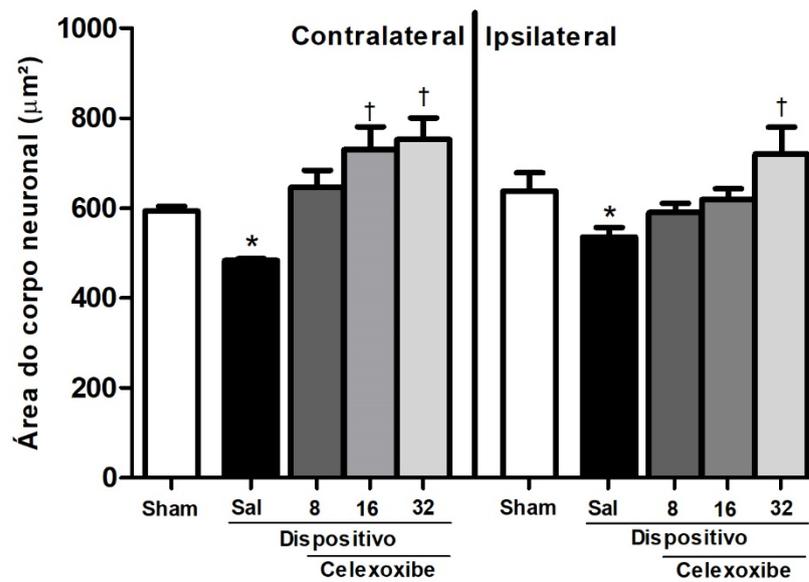


Figura 7: Média da área dos corpos neuronais dos animais submetidos a modelo de contato prematuro e tratados com diferentes doses de celecoxibe oral (8, 16 e 32 mg/kg) após sete dias da indução do modelo.

* $p < 0,05$ versus Sham; † $p < 0,05$ versus salina (média \pm EPM) (ANOVA/Bonferroni).

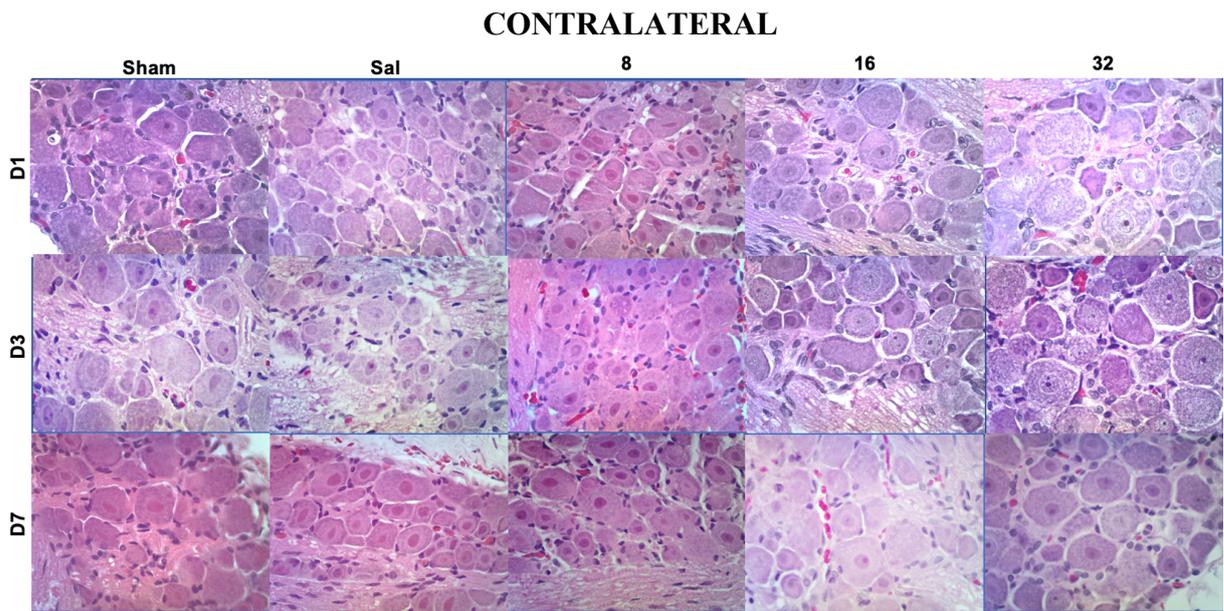


Figura 8 Painel demonstrativo de cada grupo das lâminas analisadas representando cada grupo do lado contralateral.

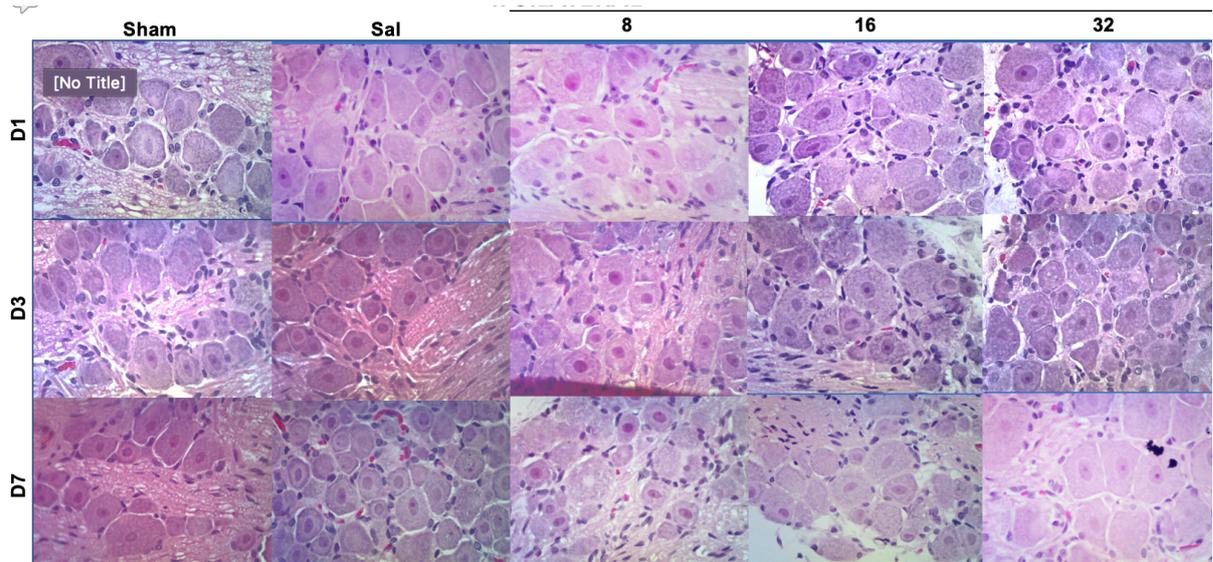
IPSILATERAL

Figura 9: Painel demonstrativo de cada grupo das lâminas analisadas representando cada grupo do lado ipsilateral.

5. DISCUSSÃO

A interferência oclusal realizada no estudo inibiu as demais superfícies oclusivas de alcançar contatos estáveis e harmoniosos com o objetivo de criar um processo inflamatório em região orofacial, sendo analisado se haveria alterações em região do gânglio do nervo trigêmeo, possibilitando avaliar alterações microscópicas do gânglio trigeminal, o principal da região afetada (QI *et al* 2016)

Estudos realizados com interferência oclusal mostraram que o trauma oclusal pode causar uma variedade de efeitos biológicos destrutivos no sistema estomatognático, especificamente no tecido pulpar, peridontal, osso alveolar, músculo mastigatório, articulação temporomandibular (ATM) e no sistema nervoso central. (LIU; JIANG; WAN 2013)

O estudo realizado por Qi *et al* (2016), utilizou coroas metálicas com espessura de 0,6mm em primeiros molares inferiores direito e observou alterações inflamatórias em região de articulação temporomandibular. O estudo realizado por Silva *et al* (2020), as interferências foram fixadas sobre o primeiro molar superior esquerdo utilizando um dispositivo com material adesivo de resina composta com espessura média de 1,24mm, onde o modelo experimental mostrou que a interferência oclusal pode causar inflamação trigeminal levando a alterações comportamentais sugestivas de desconforto.

A dor orofacial é frequentemente relatada após uma oclusão inadequada ou patológica, o que tem sido classicamente demonstrado em estudos clínicos nos quais observou-se que a interferência oclusal iatrogênica é frequente e pode ser uma causa direta na dor muscular mastigatória (ČIMIĆ *et al* 2016). Essa dor é relatada dentro de 3 dias após a produção de um ponto oclusal intercuspídeo unilateral rígido, e os sintomas permaneceram por pelo menos 6 dias (LI *et al* 2008). No estudo realizado por Cao *et al.* (2009) em animais, mesmo após a remoção da interferência oclusal, a hiperalgesia persistiu, podendo ser detectada por até três semanas após a retirada do dispositivo.

Vários estudos usando abordagens diferentes sugerem que a interferência oclusal está envolvida na dor orofacial e que os gânglios do nervo trigêmeo estão envolvidos. (QI *et al* 2016; QIUFEI; LI; XU, 2013) Apesar da relação entre interferência oclusal e dor orofacial permanecerem controversa, os estudos realizados em animais e humanos sugerem que essa relação existe. (QIUFEI; LI; XU, 2013). Alguns estudos anteriores identificaram a oclusão como um importante fator de risco para dor orofacial (ČIMIĆ *et al* 2016; DE BOEVER; CARLSSON; KLINEBERG, 2000; EGERMARK *et al.* 2000; EKBERG; VALLON; NILNER, 2003;) enquanto outros estudos não corroboram esses achados. (GLAROS; GLASS; MC LAUGHLIN, 1994; LE RESCHE; TRUELOVE; DWORKIN, 1993)

Os grupos submetidos ao modelo de interferência oclusal no protocolo de 7 dias, tanto os grupos que tiveram administração de Celecoxibe como o grupo que recebeu apenas salina, mostraram perda de peso significativa em relação ao grupo sham do mesmo protocolo, onde a perda pode estar relacionado à presença do dispositivo oclusal, tendo em vista que entre os grupos que receberam Celecoxibe e o grupo salina não houve diferença significativa. No estudo realizado por Cao *et al* (2009) os animais foram pesados por 2 semanas e no estudo realizado por Silva *et al* (2020), nos grupos de 7 dias não foi encontrado perda de peso significativa após a adição de uma interferência oclusal nos dois estudos.

A transmissão da dor inflamatória orofacial depende da ativação de células trigêminais neuronais e não neuronais. Os corpos neurais do gânglio do trigêmeo são cercados por células gliais satélites (CGSs), que são ativados por mediadores inflamatórios, contribuindo para a facilitação da dor. As CGSs são responsáveis por permitir uma extensa troca de produtos químicos entre os dois tipos celulares (HANINI *et al* 2005).

No estudo realizado por Liu *et al* (2018), a inflamação gerada pela exposição pulpar foi realizada no primeiro molar superior de ratos. O estudo mostrou que a lesão e inflamação dentária induziram a ativação das CGSs no gânglio trigeminal, indicando que a ativação das CGSs podem estar relacionadas com os mecanismos periféricos da dor após lesão dentária e inflamação. Além disso, teve como resultado que os neurônios rodeados pelas CGSs e marcados com a proteína do ácido fibrillar glial (GFAP) eram principalmente de tamanho pequeno e médio, indicando que o tamanho dos corpos neurais tem influência na presença de inflamação e possível sintoma doloroso.

Encontramos que a inflamação provocada pela interferência oclusal levou a uma diminuição da área dos corpos neurais, quando observamos o grupo salina de 1, 3 e 7 dias quando comparado ao grupo sham. No estudo de Qi *et al* (2016), interferência oclusal com altura de 1mm em ratos, mostrou que houve mudança nos corpos neurais no dia 3 após a colocação da interferência oclusal. Além disso, indicou que a hiperalgesia induzida pela interferência oclusal apresentou neurônios de pequeno porte nos gânglios trigeminais, onde os mesmos podem participar no desenvolvimento da hiperalgesia. O estudo realizado por Sun *et al* (2016) em animais, observou alterações no gânglio trigeminal no dia 1 após a interferência oclusal, sugerindo a ativação dos neurônios trigeminais rapidamente. No presente estudo, é possível observar alterações em todos os grupos após a interferência oclusal, onde alterações significativas são encontradas a partir do primeiro dia após a interferência oclusal gerada, no grupo salina.

Após a análise histomorfométrica no estudo, pode-se avaliar a possível atuação da COX-2 no quadro inflamatório em região do gânglio trigeminal. Os grupos que receberam o tratamento com Celecoxibe, os corpos neurais apresentaram uma maior área, indicando possivelmente a atuação do fármaco nas concentrações 32mg/kg no tratamento de 1 e 3 dias e 16 e 32mg/kg no tratamento de 7 dias, onde as áreas dos corpos neurais foram equivalentes ao grupo que não recebeu a interferência oclusal, grupo sham. O estudo de Chopra *et al* (2000) mostram que neurônios sensoriais contêm enzimas COX-1 e COX-2, que convertem os ácidos araquidônicos em prostaglandinas pró-inflamatórias, onde esses mediadores inflamatórios participam da comunicação entre neurônios.

A não ativação da síntese de COX-2 inibidas pelo fármaco administrado antes do protocolo experimental para contato prematuro, foi importante para avaliar a via inflamatória desencadeada no gânglio trigeminal após a interferência. O estudo realizado por Silva *et al* (2020) administrou o fármaco Inflixmab (Remicade®) 30 min antes da instalação do dispositivo oclusal, o estudo investigou o papel do TNF- α no desconforto orofacial em um modelo de interferência dentária oclusal em ratos. Além disso, o estudo Guo *et al* (2009), no qual foi o modelo para dosagem do fármaco Celecoxibe do presente estudo, realizou administração do mesmo, 1 hora antes do procedimento.

A sensibilização central do trigêmeo pode ser causada pela estimulação nociva dos músculos da mandíbula, da ATM e dos tecidos dentários (LIU; JIANG; WANG 2013). Cao *et al* (2009), sugere que os mecanismos centrais de dor, além da lesão periférica do tecido muscular, estão envolvidos na interferência oclusal. O que está de acordo com o estudo realizado, que nos mostra o envolvimento da interferência oclusal, com a possível inflamação gerada nos gânglios trigeminiais, onde a oclusão traumática pode ter efeitos na sensibilização e condução de neurônios sensoriais primários.

Os estudos realizados por Gao e Duan (2010) observou-se aumento da COX-2 no subnúcleo trigêmeo caudal de ratos após a dor do movimento dentário. O trabalho realizado por Yang *et al* (2009), realizou um estudo em ratos, onde realizou a compressão do nervo trigêmeo. O estudo encontrou que a administração intracisternal de NS-398, um inibidor seletivo de COX-2, inibiu significativamente a dor mecânica produzida pela compressão do trigêmeo, sugerindo que a COX-2 desempenha um papel importante no processamento nociceptivo após a compressão do gânglio trigêmeo.

Embora se saiba que a COX-2 é expressa constitutivamente em alguns tecidos, na maioria dos tecidos é expressa como a forma induzível. O estudo realizado por Quinn *et al* (2000) encontrou a expressão da COX no tecido e líquido sinovial. Tanto a COX-1 quanto a

COX-2 mostraram maior expressão no revestimento sinovial e no líquido das ATMs com desarranjo interno em relação as ATMs saudáveis, além disso, o estudo viu a importância da análise da presença de COX-2 na inflamação desencadeada pela alteração oclusal para ver possíveis tratamentos farmacológicos no área clínica odontológica.

No estudo realizado por Filippini *et al* (2018), avaliou o envolvimento de CGSs nos gânglios trigeminais em dor inflamatória dentária em ratos por meio de exposição dentária. O aumento da ativação de células satélites no nervo trigêmeo foi observado no lado ipsilateral, não tendo alteração nas células gliais satélites do lado contralateral. O que nos mostra nesse caso, que a inflamação gerada no presente estudo, provavelmente não teve envolvimento com inflamação dentária pulpar, já que alterações observadas em histomorfometria ocorreram no lado contralateral nos grupos de 1 e 3 dias e nos dois lados nos grupos de 7 dias. No estudo realizado por Sun *et al* (2016) sugere hiperalgesia mecânica e alteração na musculatura facial contralateral e ipsilateral após interferência oclusal. A desorganização da oclusão resulta em alterações no tecido muscular que incluem aumentos no lactato, ATP, fosfato, creatinina, quinase, diminuição do pH e infiltração de neutrófilos (CLARKSON, SAVERS 1999; DEBOLD, DAVE, FITTS 2004) Alterações nessas substâncias podem ativar diretamente nociceptores e aumentar a liberação de citocinas e prostaglandinas (OZAKTAV *et al* 2002).

6. CONCLUSÃO

A instalação do dispositivo de contato prematuro oclusal levou a alterações histomorfométricas significativa do gânglio trigeminal e o tratamento com celecoxibe reverteu parcialmente essas alterações, sugerindo importante papel da via da ciclooxigenase no processo de hipernocicepção em regiões inervadas por ramos do gânglio trigeminal. São necessários estudos comportamentais para verificar a influência dessas alterações em padrões clínicos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. *Imunologia Celular e Molecular*. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- ABDALLA H.B.; CLEMENTE-NAPIMOGA J.T.; BONFANTE R.; HASHIZUME C.A.; ZANELLI WS; MACEDO C.G.; NAPIMOGA M.H.; SILVA W.A.B.; SILVA FA. Clin Metallic Crown-Induced Occlusal Trauma as a Protocol to Evaluate Inflammatory Response in Temporomandibular Joint and Periodontal Tissues of Rats. **Oral Investig**. V. 23, p.1905-1912, 2019
- AFROZ S.; ARAKAKI R.; IWASA T.; OSHIMA M.; HOSOKI M.; INOUE M; BABA O; OKAYAMA Y; MATSUKA YCGRP. Induces Differential Regulation of Cytokines from Satellite Glial Cells in Trigeminal Ganglia and Orofacial Nociception. *Int. J. Mol. Sci*. V. 20, p.711, 2019.
- AHN D.K.; CHOI H.S.; YEO S.P.; WOO Y.W.; LEE M.K.; YANG G.Y.; JEON H.J.; PARK J.S.; MOKHA S.S.; Blockade of central cyclooxygenase (COX) pathways enhances the cannabinoid-induced antinociceptive effects on inflammatory temporomandibular joint (TMJ) nociception. **Pain.**; v.132, n. 1-2 p. 23-32. 2007
- BRIZENO L. A. C.; ASSREUY A. M. S.; ALVES, A. P. N. N.; SOUSA, F. B.; DE B. SILVA, P. G.; DE SOUSA S. C. O. M.; MOTA, M. R. L. Delayed healing of oral mucosa in a diabetic rat model: Implication of TNF- α , IL-1 β and FGF-2. **Life Sciences** v. 155, p. 36–47. 2016
- CAO Y.; XIE QF; LI K.; LIGHT A.R.; FU K.Y. Experimentalocclusalin- terference induces long-term masticatory muscle hyperalgesia in rats. **Pain**; v. 144, p. 287–293, 2009.
- CHOPRA B.; GIBLETT S.; LITTLE J.G.; DONALDSON L.F.; TATE S.; EVANS R.J.; GRUBB B.D. Cyclooxygenase-1 is a marker for a subpopulation of putative nociceptive neurons in rat dorsal root ganglia, **Eur. J. Neurosci**. V.12, p. 911 – 920, 2000.
- ČIMIĆ S.; ŽAJA M.; KRALJEVIĆ S.; ŠIMUNKOVIĆ M.; KOPIĆ A. Influence of Occlusal Interference on the Mandibular Condylar Position. **Acta Stomatol Croat**. V.50, p.116-121, 2016.
- CLARKSON P.M.; SAYERS S.P. Etiology of exercise-induced muscle damage. **Can J Appl Physiol**; v. 24, p. 234–248. 1999
- DE BOEVER J.A.; CARLSSON G.E.; KLINEBERG I.J.; Need for occlusal therapy and prosthodontic treatment in the management of temporomandibular disorders. Part II: Tooth loss and prosthodontic treatment. **J Oral Rehabil**; v.27, p. 647–659. 2000

- DEBOLD E.P.; DAVE H.; FITTS R.H.; Fiber type and temperature dependence of inorganic phosphate: implications for fatigue. **Am J Physiol Cell Physiol**; v.287, n.C, p. 673–81. 2004
- EGERMARK I.; BLOMQUIST J.E.; CROMVIK U.; ISAKSSON S. Temporomandibular dysfunction in patients treated with orthodontics in combination with orthognathic surgery. **Eur J Orthod**; v. 22, p. 537–544. 2000
- EKBERG E.; VALLON D.; NILNER M. The efficacy of appliance therapy in patients with temporomandibular disorders of mainly myogenous origin. A randomized, controlled, short-term trial. **J Orofac Pain**; v.17, p. 133–139. 2003
- ERNBERG M. The role of molecular pain biomarkers in temporomandibular joint internal derangement. **J. Oral Rehabil.** v. 44, p. 481–491. 2017.
- FILIPPINI H.F.; SCALZILLI P.A.; COSTA K.M.; FREITAS R.D.S., CAMPOS M.M. Activation of trigeminal ganglion satellite glial cells in CFA-induced tooth pulp pain in rats. **PLoS One** v.13, p.11, 2018.
- FRIES S.; GROSSER T. The Cardiovascular Pharmacology of COX-2 Inhibition. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program.** p.445-51, 2005.
- GAO Y.; DUAN Y.Z.; Increased COX2 in the trigeminal nucleus caudalis is involved in orofacial pain induced by experimental tooth movement. **Anat Rec (Hoboken).** v. 293, n. 3, p. 485-491. 2010
- GLAROS A.G.; GLASS E.G.; MCLAUGHLIN L. Knowledge and beliefs of dentists regarding temporomandibular disorders and chronic pain. **J Orofac Pain** v. 8, p. 216–222. 1994
- GUO J.Y.; LI C.Y.; RUAN Y.P.; SUN M.; QI X.L.; ZHAO B.S.; LUO F. Chronic treatment with celecoxib reverses chronic unpredictable stress-induced depressive-like behavior via reducing cyclooxygenase-2 expression in rat brain. **Eur J Pharmacol.** V.10, n. 612, p. 54-60, 2009.
- GUO W.; WANG H.; WATANABE M.; SHIMIZU K.; ZOU S.; LAGRAIZE S.C.; WEI F.; DUBNER R.; REN K. Glial-cytokine-neuronal interactions underlying the mechanisms of persistent pain. **J Neurosci.** v.27; p.6006-18, 2007.
- HANANI M. Satellite glial cells in sensory ganglia: from form to function. **M. Brain Research Reviews**; v. 48, p. 457–476, 2005.
- HOSSAIN M.Z.; UNNO S.; ANDO H.; MASUDA Y.; KITAGAWA J. Neuron–Glia Crosstalk and Neuropathic Pain: Involvement in the Modulation of Motor Activity in the Orofacial Region. **Int. J. Mol. Sci.** V. 18, p. 2051, 2017.
- ICHIKAWA H.; JACOBOWITZ D. M.; SUGIMOTO T. Calretinin-immunoreactive neurons in the trigeminal and dorsal root ganglion of the rat. **Brain Research**, v. 617, n. 1, p 96–102. 1993

- KAWASHIMA M.; OGURA N.; AKUTSU M.; ITO K.; KONDOH T. The anti-inflammatory effect of cyclooxygenase inhibitors in fibroblast-like synoviocytes from the human temporomandibular joint results from the suppression of PGE2 production. **J. Oral Pathol. Med.** V. 42, p. 499–506. 2013.
- KELLESARIAN S.V.; AL-KHERAIF A.A.; VOHRA F.; GHANEM A.; MALMSTROM H.; ROMANOS G.E.; JAVED F. Cytokine profile in the synovial fluid of patients with temporomandibular joint disorders: A systematic review. **Cytokine.** V. 77, p. 98–106, 2016.
- KERINS C.A.; SPEARS R.; BELLINGER L.L.; HUTCHINS B. The prospective use of COX-2 inhibitors for the treatment of temporomandibular joint inflammatory disorders. **Int J Immunopathol Pharmacol.**; v. 16, p 1-9. 2003
- KOOSHKI R.; ABBASNEJAD M.; ESMAEILI MAHANI S.; RAOOF M.; MOEINI AGHTAEI M.M.; DABIRI S. Orexin-A inhibits capsaicin-induced changes in cyclooxygenase-2 and brain-derived neurotrophic factor expression in trigeminal nucleus caudalis of rats. **Korean J Pain.** V. 31, n. 3, p. 174-182. 2018
- LE RESCHE L.; TRUELOVE E.L.; DWORKIN S.F. Temporomandibular disorders: A survey of dentists' knowledge and beliefs. **J Am Dent Assoc** v. 124, n. 90–94, p. 97–106. 1993
- LI J.; JIANG T.; FENG H.; WANG K.; ZHANG Z.; ISHIKAWA T. The electromyographic activity of masseter and anterior temporalis during orofacial symptoms induced by experimental occlusal highspot. **J Oral Rehabil.** V. 35, p. 79–87. 2008
- LIU H.; JIANG H.; WANG Y. The biological effects of occlusal trauma on the stomatognathic system – a focus on animal studies. **J Oral Rehabil** v. 40, p.130-138, 2013.
- LIU H. et al. Activation of satellite glial cells in trigeminal ganglion following dental injury and inflammation. **J Mol Histol**, v. 49, p. 257-263, 2018
- LOPES P.R.R.; CAMPOS P.S.F.; NASCIMENTO R.J.M.; Dor e inflamação nas disfunções temporomandibulares: revisão de literatura dos últimos quatro anos.; **R. Ci. med. biol.**, Salvador, v.10, n.3, p.317-325, 2011.
- MANFREDI A.P.S.; SILVA A.A.; VENDITE L.L. Avaliação da sensibilidade do questionário de triagem para dor orofacial e desordens temporomandibulares recomendado pela Academia Americana de Dor Orofacial. **Rev Bras Otorrinolaringol.** V. 67, n. 6, p. 763-768. 2001
- OLIVEIRA A.S.; BERMUDEZ C.C.; SOUZA R.A.; SOUZA C.M.F. DIAS E.M.; CASTRO C.E.S.; BERZIN F. Impacto da dor na vida de portadores de disfunção temporomandibular. **J Appl Oral Sci.**; v. 11, n. 2, p. 138-143. 2003
- OUANOUNOU A.; GOLDBERG M.; HAAS D.A. Pharmacotherapy in Temporomandibular Disorders: A Review. **J. Can. Dent. Assoc.**, v. 83. 2017.

- OZAKTAY A.C.; CAVANAUGH J.M.; ASIK I.; DELEO J.A.; WEINSTEIN J.N. Dorsal root sensitivity to interleukin-1 beta, interleukin-6 and tumor necrosis factor in rats. **Eur Spine J**, v. 11, p. 467–475. 2002;
- QI D.; YANG Y.; JI P.; KONG J.; WU Q.; SI H. Upregulation of the Purinergic Receptor Subtype P2X3 in the Trigeminal Ganglion Is Involved in Orofacial Pain Induced by Occlusal Interference in Rats. **J Oral Facial Pain Headache**. v. 30, n. 1, p. 51-60, 2016
- QIUFEI X.; LI X.; XU X. The difficult relationship between occlusal interferences and temporomandibular disorder: insights from animal and human experimental studies. **J Oral Rehabil**. v. 40, n. 4, p. 279-95. 2013
- QUINN J.H.; KENT J.H.; MOISE A.; LUKIW W.J.; Cyclooxygenase-2 in synovial tissue and fluid of dysfunctional temporomandibular joints with internal derangement. **J Oral Maxillofac. Surg.**, v. 58, p. 1229– 1233. 2000
- RAGHAVENDRA V.; TANGA F.Y.; DELEO J.A. Complete Freund's adjuvant-induced peripheral inflammation evokes glial activation and proinflammatory cytokine expression in the CNS. **Eur J Neurosci**. v.20, p. 467-73, 2004.
- REN K.; DUBNER R. Neuron-glia crosstalk gets serious: role in pain hypersensitivity. **Curr Opin Anaesthesiol**. V.21, p. 570-579 2008.
- SESSLE, B.J. Peripheral and central mechanisms of orofacial inflammatory pain. **Int Rev Neurobiol.**, v. 97, p. 179 -206. 2011.
- SILVA P.G.B.; MARTINS J.O.L.; PRAXEDES NETO R.A.L.; LEMOS J.V.M.; MACHADO L.C.; CARLOS A.C.A.M.; ALVES A.P.N.N.; LIMA R.A. Tumor Necrosis Factor Alpha Mediates Orofacial Discomfort in an Occlusal Dental Interference Model in Rats: The Role of Trigeminal Ganglion Inflammation. **J Oral Pathol Med**. V. 49, n.2, p.169-176, 2020.
- SU S.C.; TANIMOTO K.; TANNE Y.; KUNIMATSU R.; HIROSE N.; MITSUYOSHI T.; OKAMOTO Y.; TANNE K. Celecoxib exerts protective effects on extracellular matrix metabolism of mandibular condylar chondrocytes under excessive mechanical stress. **Osteoarthritis Cartilage.**, v. 22, p. 845-851. 2014;
- SUN S.; QI D.; YANG Y.; JI P.; KONG J.; WU Q. Association of occlusal interference-induced masseter muscle hyperalgesia and P2X3 receptors in the trigeminal subnucleus caudalis and midbrain periaqueductal gray. **NeuroReport**, V. 27, p.277-283, 2016.
- ZANETTINI I.; ZANETTINI U.M. Disfunções temporomandibulares: estudo retrospectivo de 150 pacientes. **Rev Cient AMECS.**, v. 8, n. 1, p. 9-15. 1999
- ZHANG P.; BI R.; GAN Y. Glial interleukin-1 β upregulates neuronal sodium channel 1.7 in trigeminal ganglion contributing to temporomandibular joint inflammatory hypernociception in rats. **Journal of Neuroinflammation.**, v.15, p. 117. 2018

Anexo I – Parecer da Comissão Ética no Uso de Animais

CEUA INSTITUTO PARA DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO LTDA IPADE
CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS

Unichristus
 Centro Universitário Christus

Of. No. 036/18

Protocolo da CEUA: 036/18

Pesquisador Responsável: Prof. FABRÍCIO BITU SOUSA

Título do Projeto: PAPEL DA CICLOOXIGENASE 2 NAS ALTERAÇÕES DO OSSO ALVEOLAR E DA ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR DE RATOS SUBMETIDOS A MODELO EXPERIMENTAL DE RESTAURAÇÃO COM CONTATO PREMATURO.

Levamos ao conhecimento de V. Sa que a Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA – IPADE considerou **APROVADO** o projeto supracitado na reunião do dia 31 (trinta e um) de outubro de 2018.

Descrição do animal utilizado:

Espécie:	Rattus norvegicus	Número Amostral:	180
----------	-------------------	------------------	-----

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE ao término do estudo, período máximo 31/10/2019.

Fortaleza, 31 de outubro de 2018.



Olga Vale Oliveira Machado
 Coordenadora

CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE

Campus Benfica
 Rua Princesa Isabel, 1920
 60015-061 - Fortaleza-CE
 Fone: 85.3214.8770 | 3214.8771

Campus Dionísio Torres
 Rua Isaías Bezerra, 630
 60135-960 - Fortaleza-CE
 Fone: 85.3257.2020 | Fax: 85.3277.1762

Campus D. Luis
 Av. Dom Luis, 911
 60160-290 - Fortaleza-CE
 Fone: 85.3457.5300 | Fax: 85.3457.5374

Campus Parque Ecológico
 Rua João Adolfo Gurgel, 183
 60192-345 - Fortaleza-CE
 Fone: 85.3265.8100 | Fax: 85.3265.8110