

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DO DESENVOLVIMENTO
DO COMPLEXO DENTINO-PULPAR EM PROLE DE
RATAS TRATADAS COM FLUOXETINA DURANTE A
GESTAÇÃO

ISABELA MARIA DE ALBUQUERQUE SANTIAGO

RECIFE

2010

ISABELA MARIA DE ALBUQUERQUE SANTIAGO

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS DO DESENVOLVIMENTO
DO COMPLEXO DENTINO-PULPAR EM PROLE DE
RATAS TRATADAS COM FLUOXETINA DURANTE A
GESTAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Liriane Baratella Evêncio

RECIFE

2010

Santiago, Isabela Maria de Albuquerque

Aspectos morfológicos do desenvolvimento do complexo dentino-pulpar em prole de ratas tratadas com fluoxetina durante a gestação / Isabela Maria de Albuquerque Santiago. – Recife: O Autor, 2010.

86 folhas. il.: fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2010.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Fluoxetina. 2. Serotonina. 3. Germe dental. 4. Complexo dentino-pulpar. 5. Rato wistar. I. Título.

616.314.14
617.634

CDU (2.ed.)
CDD (20.ed.)

UFPE
CCS2010-165



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Patologia

Av. Prof. Moraes Rego s/n - Cidade Universitária - CEP: 50670-901 - Recife - PE
Prédio da Pós-graduação do Centro de Ciências da Saúde (CCS) - térreo
Fone/Fax: (81) 2126.8529
<http://www.pgmapi@ufpe.br> <http://www.pospat.ufpe.br>



DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
PATOLOGIA

Autora: Isabela Maria de Albuquerque Santiago

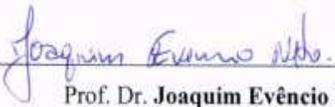
Área de Concentração: Patologia

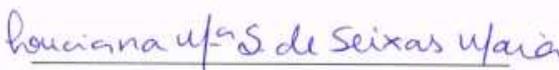
Orientadora: Prof.^a Dra. Liriane Baratella Evêncio

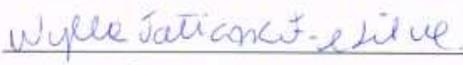
Data: 02 de setembro de 2010.

Título da Dissertação: "ASPECTOS MORFOLÓGICOS DO DESENVOLVIMENTO DO
COMPLEXO DENTINO - PULPAR EM PROLE DE RATAS TRATADAS COM
FLUOXETINA DURANTE A GESTAÇÃO".

Banca Examinadora:


Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto


Prof.^a Dr.^a Luciana Maria Silva de Seixas Maia


Prof.^a Dr.^a Wylla Tatiana Ferreira e Silva

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS -
GRADUAÇÃO**

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

Prof. Dr^a. Adriana Maria da Silva Telles

COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE - COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Dr. Hilton Justino da Silva

RECIFE

2010

DEDICATÓRIA

A Deus, razão da minha existência e esperança de todos os dias, sem Ele nada sou. Ele me fortaleceu nos dias difíceis e me deu fé para continuar na minha jornada.

À toda a minha família pela torcida incondicional pela minha vitória, tanto pessoal quanto profissional.

Gratidões eternas a minha mãe por ter sido o meu espelho e minha companheira em todos os momentos maravilhosos da minha vida. Sem você nada sou. Obrigada!!!

Ao meu querido pai por sempre ter acreditado em meu potencial e nunca ter poupado esforços para garantir meus estudos. Para sempre obrigada!!!

Ao meu amado Ricardo, marido, companheiro, amigo. Meu fiel escudeiro, minha paz interior, meu amor. Obrigada por me aturar. Te amo.....

Aos meus irmãos Romero, Rômulo e Rodolfo, agradeço a compreensão de vocês nos meus momentos mais difíceis e chatos.

Ao meu cunhado Rafael por ter me ajudado na interpretação dos dados estatísticos da minha pesquisa. Saudações alvi-rubras.....

Ao meu cão Ruski, um labrador bem bagunceiro que sempre está feliz e me faz sorrir mesmo nos momentos mais tristes.

AGRADECIMENTOS

A todos os professores do curso de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco que contribuíram na minha formação.

A minha orientadora Professora Doutora Liriane Baratella Evêncio, pela dedicação e paciência para que este projeto saísse do papel e pelo apoio e experiência prestados no decorrer da preparação deste trabalho.

Ao Professor Doutor Joaquim Evêncio Neto, professor adjunto do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE, pela disponibilidade de tempo e paciência durante a análise das lâminas.

A todos os funcionários do Biotério de Cirurgia Experimental pelos cuidados para com os animais e pela ajuda durante a manipulação dos mesmos. Obrigada.

A técnica em histologia Silvânia Tavares Paz por ter confeccionado as minhas inúmeras preparações histológicas (900 preparações – Ufa!!!!!!!!!!), sempre de bom humor e dedicação. Muito obrigada!!!!

A mestrandia, Lenilce Fabrícia Barros Alves Coelho, pela colaboração e dedicação. Muito obrigada disponibilidade durante a fase da pesquisa e coleta dos dados. Foi muito gratificante ter você como companheira profissional durante essa etapa fundamental em minha vida acadêmica.

Aos acadêmicos do curso de Odontologia, Luciana Silva Regueira, Priscylla Gonçalves Correia, Robério José Barbosa de Alcântara. Muito obrigada pelos momentos bons, alegres e gratificantes que tivemos juntos. Saudades eternas das fofocas e cruzadinhas.....

Aos meus colegas do mestrado: Alessandra Cavalcante, André Sá oliveira, Carla Soares, Carlos Weber, Fernando Neves, Horácio Fittipaldi Jr., Iraneide dos Santos, Jaqueline Barros, Juliana Baltar, João Luís Vilaça, Luanna Moita, Marcela Raquel, Mariana Costa, Thiago Assis, Tiago França.

Por fim, a todas as pessoas que direta ou indiretamente tenham contribuído para que eu possa ter chegado até aqui. Um muito obrigada a todos vocês!

RESUMO

Estudos prévios avaliaram a presença de serotonina no interior do epitélio e mesênquima de germes dentários. Assim, objetivamos avaliar se o uso da fluoxetina (um inibidor de recaptação de serotonina) foi capaz de interferir na dentinogênese destes germes. Para tal, foram utilizadas 12 ratas prenhes da linhagem Wistar, divididas em três grupos: grupo controle (C), grupo tratado com fluoxetina na dose de 10mg/kg de peso animal (FL) e grupo tratado com fluoxetina na dose de 20 mg/Kg de peso animal (FX). Foram administrados solução fisiológica a 0,9% ou cloridrato de fluoxetina a esses animais do 1º ao 21º dia de gestação, por via subcutânea. Posteriormente, cada grupo foi dividido em 2 subgrupos, de acordo com a idade do desenvolvimento do germe dentário a ser estudado (1 e 5 dias de vida). Os animais foram anestesiados, suas mandíbulas removidas e o maxilar superior com os germes dentários direito e esquerdo foi seccionado tangentemente a face mesial do primeiro molar. As peças foram fixadas em formol tamponado a 10%, processadas convencionalmente para microscopia de rotina e incluídos em parafina histológica. Secções de 4 µm foram coradas com HE e fotomicrografadas. Uma análise morfológica e quantitativa dos odontoblastos, dentina e pré-dentina revelou tendências a pequenas diferenças estruturais nos grupos tratados, com maior incidência nos animais com 1 dia de vida, alterações consideradas estatisticamente não significantes. Estes dados sugerem que nas doses e condições estudadas e quando aplicadas durante a gestação, a fluoxetina não alterou o desenvolvimento da dentina coronária.

PALAVRAS-CHAVE: Fluoxetina, Serotonina, Germe Dental, Complexo Dentino-Pulpar, Rato Wistar

ABSTRACT

Previous studies evaluated the presence of serotonin within the epithelium and mesenchyme of tooth germs. Thus, we aimed to evaluate whether the use of fluoxetine (a serotonin reuptake inhibitor) was able to interfere in dentinogenesis these germs. To this end, we used 12 pregnant rats Wistar were divided into three groups: control group (C), group treated with fluoxetine at a dose of 10mg/kg body weight (FL) and the group treated with fluoxetine at a dose of 20 mg / kg body weight (FX). Were administered 0.9% saline or fluoxetine hydrochloride these animals from the 1st to 21th day of gestation, subcutaneously. Thereafter, each group was divided into two subgroups according to age of development of tooth germ to be studied (1 and 5 days of life). The animals were anesthetized, their jaws removed and the upper jaw to the right and left tooth germs was sectioned tangential to the mesial surface of first molar. The specimens were fixed in 10% buffered formalin, conventionally processed for routine microscopy and embedded in paraffin histology. 4µm sections were stained with HE and photomicrographed. A morphological and quantitative analysis of odontoblasts, dentin and pre-dentin revealed trends toward small structural differences in the groups treated with the highest incidence in the animals with 1 day of life changes not considered statistically significant. These data suggest that the doses studied and conditions and when applied during pregnancy, fluoxetine not change the development of coronary dentin.

KEY-WORDS: Fluoxetine, Serotonin, Dental Germ, Dentin - Pulp Complex, Rat Wistar

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA

Figura 1. Fluxograma da seleção dos estudos

28

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 1. Fluxograma dos grupos de estudo: foram utilizadas 12 ratas prenhes, distribuídas em três grupos. Cada grupo foi subdividido em 2 subgrupos de acordo com a idade do desenvolvimento do germe dental a ser analisado, totalizando 6 subgrupos. 43

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO ORIGINAL

- Figura 1.** Fotomicrografia de parte do germe dentário de primeiro molar superior de rato com 1 dia de vida. Observa-se em 1A (subgrupo C1), grupamento de odontoblastos (O) na região do equivalente da futura cúspide dental e início de produção de matriz de dentina (MD). Em 1B (subgrupo FL1) e 1C (subgrupo FX1), observa-se área de dentinogênese (*) na região de terço médio da coroa. Em 1D (subgrupo C1), observar que região da alça cervical ainda não está ocorrendo deposição de matriz de dentina (MD). CS, camada sub-odontoblástica. PD, papila dentária. OE, órgão do esmalte. PA, pré-ameloblastos. V, vasos sanguíneos. CE, células ectomesenquimais em diferenciação. EI, epitélio interno do órgão do esmalte. EE, epitélio externo do órgão do esmalte. RE, retículo estrelado. Coloração HE. 73
- Figura 2.** Em 2A observa-se a avaliação do efeito da fluoxetina sobre a espessura (em mm) da Matriz de Dentina depositada na região de futura cúspide dentária e no terço médio da coroa. 2B demonstra a avaliação do efeito da fluoxetina sobre o comprimento (em mm) da camada de odontoblastos na região de futura cúspide dentária e no terço médio da coroa. Animais com 1 dia de vida, comparando os subgrupos C1, FL1 e FX1. Foi utilizado o Teste Anova Único Fator, seguido pelo Teste de Tuckey, com $p < 0,05$. 74
- Figura 3.** Fotomicrografia de parte do germe dentário de primeiro molar superior de rato com 5 dias de vida. Em 3A (subgrupo FX5), observa-se no terço cuspídico maior espessura da camada de dentina. Em 3B (subgrupo C5) e 3C (subgrupo FL5), notar que os odontoblastos apresentam um aspecto primástico mais baixo na região de terço médio. Em 3D (subgrupo FL5) observar que na região de alça cervical já apresenta dentina da pré-dentina. OE, órgão do esmalte. A, ameloblastos. E, esmalte. D, dentina. PD, pré-dentina. O, odontoblastos. CS, camada sub-odontoblástica. P, papila dentária. V, vasos sanguíneos. Coloração HE. 75
- Figura 4.** Em 4A e 4B observa-se a avaliação do efeito da fluoxetina sobre a espessura (em mm) da Pré-dentina e Dentina depositadas na região de futura cúspide dentária, no terço médio e no terço cervical da coroa. 4C mostra a avaliação do efeito da fluoxetina sobre o comprimento (em mm) da camada de odontoblastos na região de futura cúspide dentária, no terço médio e no terço cervical da coroa animais com 5 dias de vida, comparando os subgrupos C5, FL5 e FX5. Foi utilizado o Teste Anova Único Fator, seguido pelo Teste de Tuckey, com $p < 0,05$. 76

LISTA DE TABELAS

ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA

Tabela 1. Artigos incluídos na revisão sistemática, por ordem cronológica, com seus principais objetivos, alterações celulares e teciduais, bem como os resultados encontrados. 29

Tabela 2. Agentes farmacológicos e técnicas utilizadas para avaliar as alterações celulares e teciduais dos tecidos mineralizados. 30

LISTA DE TABELAS

ARTIGO ORIGINAL

Tabela 1. Avaliação do efeito do cloridrato de fluoxetina sobre tecidos dos germes dentários dos animais de 1 dia de vida, comparando os subgrupos C1 (animais do grupo controle com 1 dia de vida), FL1 (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 10 mg/Kg de peso animal com 1 dia de vida) e FX1 (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 20 mg/Kg de peso animal com 1 dia de vida). Foi utilizado o Teste Anova Único Fator, seguido pelo Teste de Tuckey, com $p < 0,05$. 71

Tabela 2. Avaliação do efeito do cloridrato de fluoxetina sobre tecidos dos germes dentários dos animais de 5 dias de vida, comparando os subgrupos C5 (animais do grupo controle com 5 dias de vida), FL5 (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 10 mg/Kg de peso animal com 5 dias e vida) e FX5 (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 20 mg/Kg de peso animal com 5 dias de vida). Foi utilizado o Teste Anova Único Fator, seguido pelo Teste de Tuckey, com $p < 0,05$. 72

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA

SNC - Sistema Nervoso Central	25
5-HT – Serotonina	25
ISRSs – Inibidores seletivos da recaptação de serotonina	25
BBO - Biblioteca Brasileira de Odontologia	27
LILACS – Literatura Latino-Americana	27
SCIELO – Scientific Electronic Library on Line	27
PUBMED/MEDLINE - Medical Literature Analysis and Retrieval System Online	27
TC - Tomografia Computadorizada	30
PCR - Reação de polimerase em cadeia	30

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ARTIGO ORIGINAL

SNC - Sistema Nervoso Central	50
5-HT – Serotonina	50
FDA - Food and Drug Administration	51
ISRSs - Inibidores seletivos da recaptação de serotonina	51
CBEA/CCB – UFPE - Comitê de Bioética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco	53
HE - Hematoxilina e Eosina	54
ATI - Placa de captura de imagem	55

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO	19
2. REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1 Artigo de revisão sistemática	22
3. OBJETIVOS	39
3.1 Objetivos gerais	39
3.2 Objetivos específicos	39
4. MÉTODOS	40
4.1 Localização do estudo	40
4.2 Tipo de estudo	40
4.3 Considerações éticas	40
4.4 Fatores de estudo	41
4.5 Animais	41
4.5.1 Grupos de estudo	42
4.5.2 Tratamento farmacológico dos animais	43
4.6 Microscopia de luz	44
4.7 Coleta de dados	45
4.8 Estudo morfológico e histométrico	45
4.9 Análise estatística	46
5. RESULTADOS	47

5.1 Artigo original	47
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
ANEXO 1 - Parecer do Comitê de Bioética em Experimentação Animal	77
ANEXO 2 – Normas da revista do artigo de revisão sistemática	78
ANEXO 3 – Comprovante de submissão do artigo de revisão sistemática	82
ANEXO 4 – Normas da revista do artigo original	83
ANEXO 5 – Comprovante de submissão do artigo original	87

1 APRESENTAÇÃO

A odontogênese é a consequência de um complexo de interações entre dois tecidos, o epitélio oral primitivo e o ectomesênquima, sendo dividida em diferentes fases: fase de botão, capuz, campânula, coroa e raiz. A união destas fases dará origem ao elemento dental e as suas estruturas circunvizinhas (TEN CATE, 1998).

A dentina constitui o tecido mineralizado que forma a maior parte do elemento dental, sendo composta de 70% de cristais de hidroxiapatita, 20% de fibras colágenas e 10% de água. É menos mineralizada do que o esmalte e mais mineralizada do que o osso e o cimento. Como o esmalte é translúcido, é a dentina branco-amarelada a responsável pela cor do dente, que varia de acordo com o grau de mineralização, idade, pigmentos endógenos e exógenos (KATCHBURIAN, ARANA-CHAVEZ, 2004).

A dentina delimita uma cavidade que contém a polpa dental e formam uma verdadeira unidade biológica conhecida como complexo dentino-pulpar por apresentarem componentes semelhantes nos aspectos estruturais, embrionários e funcionais. Sua elasticidade é importante para amortecer os impactos mastigatórios, evitando, assim, fraturas no elemento dental, apresenta uma boa permeabilidade, pois em sua estrutura encontramos os túbulos dentinários que permitem a penetração relativamente fácil de agentes externos, como os microorganismos e suas toxinas, o que pode desencadear alterações na sua forma e composição. Pode ser dividida em: dentina primária, secundária e terciária ou reacional (KATCHBURIAN, ARANA-CHAVEZ, 2004).

Sendo assim, qualquer perturbação de ordem sistêmica, mesmo que de curta duração, durante as fases de desenvolvimento embrionário, poderá deixar seqüelas

permanentes nos dentes. Os tecidos do dente humano, assim como os tecidos de outros órgãos do corpo, são vulneráveis à privação nutricional, a alguns medicamentos, a algumas infecções, a alterações metabólicas, a anomalias hereditárias e anormalidades neurológicas (CAVALLI, BARALDI, CUNHA, 2006).

Pelo impacto negativo sobre a gestação e o conceito, a depressão e a ansiedade na gravidez tendem a ser tratadas com psicofármacos. A gravidez não protege a mulher desses transtornos nem de possíveis recaídas. Não é raro acontecer de um clínico se deparar com uma paciente com história de depressão, em uso de antidepressivo quando recebe o exame positivo de gravidez. Os antidepressivos têm sido utilizados há décadas, principalmente os antidepressivos tricíclicos e a fluoxetina, que é uma droga inibidora seletiva da recaptção da serotonina. Sabe-se que várias drogas são capazes de atravessar a barreira placentária e muitas delas possuem efeitos teratogênicos sobre o feto, o que pode provocar alterações e desordens no desenvolvimento embrionário, principalmente nos três primeiros meses de vida intra-uterina, devido à velocidade com que ocorrem a multiplicação e diferenciação celular, o que dá margem para que o fármaco promova malformações (CAMPIGOTTO *et al.*, 2008).

Baseado nas evidências de que o sistema serotoninérgico está associado ao desenvolvimento de diferentes tecidos, mediando interações epitélio-mesenquimais importantes, justificou-se a realização desta pesquisa com o propósito de avaliar a influência da fluoxetina no desenvolvimento e crescimento do complexo dentino – pulpar.

Para isto os objetivos deste estudo foram: revisar na literatura científica artigos que relatassem os possíveis efeitos da utilização do cloridrato de fluoxetina sobre o desenvolvimento de tecidos mineralizados. Além disso, avaliar a influência da

fluoxetina no desenvolvimento e crescimento do complexo dentino-pulpar em primeiros molares superiores de ratos durante a odontogênese, utilizando para isto análises morfológicas e histométricas dos elementos dentais.

O presente estudo foi realizado no Biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental, no Departamento de Histologia e Embriologia e no Laboratório de Histotécnica do Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco.

Este trabalho foi desmembrado em dois artigos científicos. O primeiro intitulado: Efeitos da utilização do cloridrato de fluoxetina sobre o desenvolvimento de tecidos mineralizados: revisão sistemática, que foi submetido como uma revisão de literatura ao periódico Revista de Psiquiatria Clínica. Neste artigo foi realizado um levantamento em base de dados de publicações relacionadas aos efeitos entre a fluoxetina e o desenvolvimento dos tecidos mineralizados.

O segundo manuscrito intitulado: Aspectos morfológicos da dentinogênese em neonatos com 1 e 5 dias de vida de ratas tratadas com fluoxetina durante a gestação foi submetido como artigo original ao periódico Journal of Morphology. Neste artigo foram investigadas as possíveis alterações morfológicas e quantitativas no complexo dentino-pulpar de molares superiores de ratos cujas mães foram tratadas com cloridrato de fluoxetina durante a gestação.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Artigo de revisão sistemática

Título: Efeitos da utilização do cloridrato de fluoxetina sobre o desenvolvimento de tecidos mineralizados: revisão sistemática

Isabela Maria de Albuquerque Santiago

Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Patologia pela Universidade Federal de Pernambuco

Lenilce Fabrícia Barros Alves Coelho

Mestranda em Odontologia pela Universidade Federal de Pernambuco

Luciana Silva Regueira

Acadêmica do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco

Priscylla Gonçalves Correia

Acadêmica do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco

Robério José Barbosa de Alcântara

Acadêmico do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco

Joaquim Evêncio Neto

Professor Adjunto do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco

Liriane Baratella Evêncio

Professora Adjunto do Departamento de Histologia e Embriologia da Universidade Federal de Pernambuco

Endereço para correspondência:

Prof. Liriane Baratella Evêncio

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Recife PE 50670-901

Fone/Fax: + 81 21268515

www.ufpe.br/liriane@uol.com.br

Este artigo está formatado de acordo com as normas da Revista de Psiquiatria Clínica

RESUMO

Objetivo: O Cloridrato de Fluoxetina é o antidepressivo mais utilizado na prática clínica em todo o mundo, capaz de inibir de forma potente e seletiva a recaptção de serotonina. Uma vez que os inibidores seletivos da recaptção de serotonina são fármacos amplamente prescritos, faz-se relevante estudar o comportamento dessa droga sobre os tecidos mineralizados. O objetivo desta revisão sistemática foi verificar se houve correlação entre tratamento farmacológico com a utilização da fluoxetina sobre o desenvolvimento desses tecidos. **Metodologia:** Foi realizado um levantamento bibliográfico nas bases de dados BBO, LILACS, SciELO, PUBMED/MEDLINE e ISI WEB OF KNOWLEDGE utilizando os descritores: Fluoxetina e Osso (Fluoxetine and Bone) e Fluoxetina e Elemento Dental (Fluoxetine and Tooth). **Resultados:** Foram encontrados 64 trabalhos citados, mas apenas 24 associavam a fluoxetina com tecidos mineralizados, destes apenas 9 artigos tinham relevância para esta revisão. **Conclusão:** Através do presente estudo foi verificado que o cloridrato de fluoxetina pode ser capaz de promover alterações no desenvolvimento dos tecidos mineralizados, por afetar as células responsáveis pela formação e manutenção destes órgãos.

PALAVRAS-CHAVE: Fluoxetina, Serotonina, Osso, Dente, Desenvolvimento

ABSTRACT

Objective: The fluoxetine hydrochloride is the most widely prescribed antidepressant in clinical practice worldwide. It is a drug able to inhibit in a potent and selective reuptake of serotonin. Since the SSRIs antidepressants are the most employees, it is important to study the behavior of this drug on mineralized tissues. The objective of this systematic review was to determine if there was correlation between pharmacological treatments with the use of fluoxetine on the development of these tissues. **Methods:** Therefore, there was a bibliography on databases BBO, LILACS, SciELO, PUBMED / MEDLINE, and ISI WEB OF KNOWLEDGE using the descriptors: Fluoxetine and Bone and fluoxetine and Element Dental. **Results:** Were found 64 studies cited, but only 24 involved the fluoxetine with mineralized tissues, only 9 of these articles had relevance for this review. **Conclusion:** Through this review it was found that fluoxetine hydrochloride may be able to promote changes in the development of mineralized tissues by affecting the cells responsible for formation and maintenance of these organs.

KEY-WORDS: Fluoxetine, Serotonin, Bone, Tooth, Development

INTRODUÇÃO

A neurotransmissão serotoninérgica tem sido implicada na morfogênese de uma variedade de tecidos do organismo e sua regulação tem sido objeto de interesse e investigação nestes últimos anos¹⁻¹⁰. Estudos anatômicos e *in vitro* demonstraram que o crescimento e desenvolvimento dos diversos tecidos do organismo, dentre eles os tecidos mineralizados é influenciado pelo Sistema Nervoso Central (SNC) e seus neurotransmissores¹¹⁻¹⁸.

A serotonina (5-HT) faz parte do grupo de neurotransmissores que regulam importantes vias do metabolismo ósseo, por apresentar receptores nas células ósseas, como os receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{2A}, e 5-HT_{2B}. Esses receptores serotoninérgicos são expressos em uma linhagem de células osteocíticas e em osteoblastos. A função destes receptores nos osteoblastos e nos osteócitos é desconhecida, mas sabe-se que estão associados à formação e remodelação óssea. Quando existe uma interrupção ou alteração na função destes receptores, há uma redução crucial no crescimento ósseo, pois há uma inibição da diferenciação dos osteoblastos¹¹⁻¹⁸.

A 5-HT também exerce um papel estimulador sobre o desenvolvimento do germe dental desempenhando ações que são capazes de induzir a formação do órgão do esmalte e da papila dentária originando os estágios de campânula e coroa. Esses fenômenos constituem etapas de cito e histodiferenciação que ocorre durante a odontogênese e que dará origem ao elemento dental^{19,20}.

O aumento do consumo dos inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRSs) em todo o mundo^{21,22} tem permitido observar um importante comprometimento

da histofisiologia óssea mediante o uso desses medicamentos. Portanto, é possível que exposições a níveis significativos de antidepressivos apresentem alterações no desenvolvimento do sistema serotoninérgico, entretanto esta evidência não está bem estabelecida, sendo importante um número maior de estudos nesta área¹¹⁻²⁰.

O objetivo desta revisão sistemática foi verificar se houve correlação entre tratamento farmacológico com a utilização da fluoxetina sobre o desenvolvimento dos tecidos mineralizados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esse estudo realizou uma revisão sistemática de artigos publicados em revistas da literatura médica atual, utilizando as bases de dados: Biblioteca Brasileira de Odontologia (BBO), Literatura Latino-Americana (LILACS), Scientific Electronic Library on Line (SciELO), Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (PUBMED/MEDLINE) e ISI WEB OF KNOWLEDGE, onde foram aplicados os seguintes descritores na busca: Fluoxetina e Osso (Fluoxetine and Bone) e Fluoxetina e Elemento Dental (Fluoxetine and Tooth). A amostra foi de conveniência incluindo todos os estudos encontrados com a estratégia de busca e que preencheram os critérios de inclusão.

Foram incluídos artigos originais, realizados em ratos da linhagem Wistar, Sprague-Dawley e Long Evans, que utilizaram alguma técnica para avaliar a influência da fluoxetina no desenvolvimento de tecidos mineralizados, como ossos longos, mandíbula e elementos dentais. Foram excluídos estudos que envolvessem outros animais da família de roedores (camundongos), pesquisas realizadas em humanos, estudos duplicados, de revisão, resumos de congressos e estudos que avaliassem conjuntamente o efeito da fluoxetina nos ossos com outra alteração em questão.

Dos trabalhos selecionados para inclusão, foram feitas análises da qualidade metodológica e dos resultados obtidos. Os dados extraídos dos artigos selecionados foram o(s) autor(es) e ano de publicação, o objetivo da pesquisa, as alterações celulares que ocorrem nos tecidos mineralizados teciduais, as técnicas utilizadas para avaliar estas alterações e os resultados dos estudos.

RESULTADOS

Dos 64 artigos identificados nas diversas bases de dados, foram eleitos 24 para serem analisados minuciosamente e somente 10 foram incluídos (Figura 1).

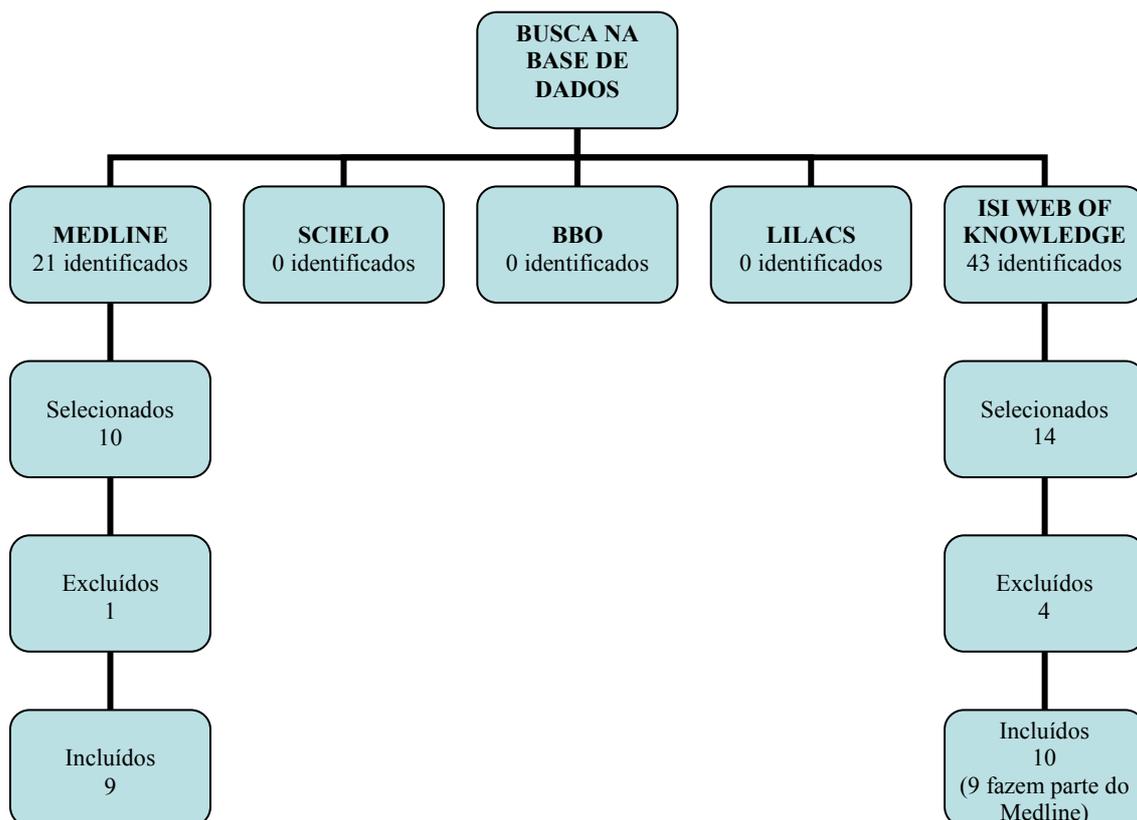


Figura 1. Fluxograma da seleção dos estudos

Dos artigos incluídos todos tiveram como finalidade analisar as alterações celulares e teciduais que ocorrem nos tecidos mineralizados, quando da utilização dos ISRSs (Tabela 1).

Tabela 1. Artigos incluídos na revisão sistemática, por ordem cronológica, com seus principais objetivos, alterações celulares e teciduais, bem como os resultados encontrados.

Artigos	Objetivo	Alterações celulares e teciduais	Resultados
Moiseiwitsch e Lauder, 1996¹⁹	Investigar os efeitos da 5-HT na formação do elemento dental e a influencia da fluoxetina neste desenvolvimento	A 5-HT está envolvida no desenvolvimento do germe dental e na formação do epitélio mandibular	A fluoxetina pode interferir no desenvolvimento do germe dental nas etapas de cito e histo-diferenciação
Moiseiwitsch et al., 1998²⁰	Demonstrar que a 5-HT desempenha um papel importante no desenvolvimento craniofacial	A fluoxetina está envolvida no desenvolvimento do germe dental. O órgão do esmalte e o osso alveolar são vistos, mas o mesênquima dental pode não estar presente	A fluoxetina pode interferir no desenvolvimento do germe dental e da mandíbula, especialmente na dentinogênese e na condrogênese
Blizotes et al., 2001¹¹	Investigar a expressão e a função dos receptores serotoninérgicos nas células ósseas	A 5-HT e seus receptores estão envolvidos na morfogênese craniofacial e na regulação da interação epitélio-mesenquimal	Os receptores da 5-HT podem ser observados nos eventos iniciais da diferenciação dos odontoblastos e a utilização dos ISRSs não alterou a estrutura e integridade óssea
Battaglino et al., 2004¹²	Analisar a influência da fluoxetina sobre os osteoclastos derivados da medula óssea	A fluoxetina pode inibir a diferenciação dos osteoclastos derivadas de células da medula óssea	A fluoxetina pode ser capaz de reduzir a diferenciação dos osteoclastos, mas não influencia na sua ativação, entretanto este agente pode interferir na massa óssea
Blizotes et al., 2006¹³	Demonstrar que os receptores de 5-HT são expressos em uma linhagem de osteócitos	Redução da cortical óssea e da massa do osso trabecular. A fluoxetina pode ser capaz de inibir o crescimento normal dos ossos de rato	A 5-HT e seus respectivos receptores desempenham papel importante na diferenciação dos osteoblastos e osteócitos e, interferências nestas moléculas reduzem a massa óssea
Gustafsson et al., 2006¹⁴	Estudar os possíveis mecanismos pelos quais a serotonina e a fluoxetina podem afetar as funções das células ósseas	A fluoxetina estimula a proliferação das células mesenquimais indiferenciadas e murinas pré-osteoblastos	Tratamentos com fluoxetina podem afetar o número total de osteoclastos diferenciados, como resultado a reabsorção óssea é uniforme
Battaglino et al., 2007¹⁵	Determinar os efeitos da fluoxetina no metabolismo ósseo (fêmur e vértebras)	Aumento no número do trabeculado ósseo e diminuição do espaço trabecular	Tratamentos com fluoxetina podem aumentar a massa óssea, mas não previne a perda de osso associada com deficiências hormonais
Bonnet et al., 2007¹⁶	Avaliar a eficácia de diversas drogas na micro arquitetura e propriedades biomecânicas dos ossos	Não houve aumento significativo no volume e na área do trabeculado ósseo no grupo que utilizou a fluoxetina	A fluoxetina demonstrou apresentar efeitos deletérios na arquitetura, micro arquitetura e biomecânica dos ossos
Westbroek et al., 2007¹⁷	Estudar os efeitos da fluoxetina na arquitetura e qualidade dos ossos dos ratos em crescimento	O tratamento com fluoxetina não apresentou grandes efeitos sobre a arquitetura óssea ou propriedades mecânicas em fêmur de ratos	Fatores plasmáticos não estão envolvidos nas mudanças geométricas e da qualidade óssea
Mortazavi et al., 2009¹⁸	Avaliar o efeito da fluoxetina em ossos de ratos	Aumento no número do trabeculado ósseo	O uso da fluoxetina utilizada durante o processo de reparação óssea demonstrou maior aumento de formação de osso trabecular em ratos na dosagem de 15 mg

Dentre os artigos analisados, três utilizaram além da fluoxetina outros fármacos, antidepressivos ou não. Os outros sete artigos utilizaram apenas a fluoxetina nos seus estudos. Dentre as técnicas utilizadas para avaliar as alterações celulares e teciduais, três artigos utilizaram imunohistoquímica, três artigos utilizaram a Tomografia Computadorizada (TC), três utilizaram o método da reação de polimerase em cadeia (PCR) e um utilizou a histometria para mensurar as alterações ósseas apresentadas (Tabela 2).

Tabela 2. Agentes farmacológicos e técnicas utilizadas para avaliar as alterações celulares e teciduais dos tecidos mineralizados.

Artigos	Fármaco Utilizado	Técnica utilizada
Moiseiwitsch e Lauder, 1996¹⁹	Fluoxetina	Imunohistoquímica – técnica avidina/biotina peroxidase
Moiseiwitsch et al., 1998²⁰	Fluoxetina	Imunohistoquímica – técnica avidia/biotina Peroxidase
Bliziotis et al., 2001¹¹	Cocaína Imipramina Dopamina Fluoxetina Mazindol Metilfenidato Noradrenalina GBR - 12935	PCR – com transcrição reversa – após a obtenção de uma fita de DNA, sintetizou-se a RNaseH- transcriptase reversa e obteve-se os transportadores e receptores da 5-HT
Battaglino et al., 2004¹²	Fluoxetina	PCR - Isolou a sequencia de RNAm humano
Bliziotis et al., 2006¹³	Imipramina Desipramina Cocaína Fluoxetina	Imunohistoquímica
Gustafsson et al., 2006¹⁴	Fluoxetina	PCR – Isolou o RNAm humano de células ósseas diferenciadas in vitro e de células mononucleares do sangue
Battaglino et al., 2007¹⁵	Fluoxetina	Tomografia computadorizada – Avaliou a arquitetura óssea de ossos dessecados de fêmur e vértebras
Bonnet et al., 2007¹⁶	Desipramina Fluoxetina Rolipram Tofisopam	Tomografia Computadorizada - Verificou a densidade do osso trabecular da porção distal do fêmur
Westbroek et al., 2007¹⁷	Fluoxetina	Tomografia computadorizada – Avaliou a arquitetura óssea da porção proximal do fêmur
Mortazavi et al., 2009¹⁸	Fluoxetina	Histometria – Análise quantitativa de células ósseas tratados com fluoxetina

DISCUSSÃO

Através deste estudo pode-se verificar uma escassez de artigos científicos abordando o tema em questão. De um total de 10 artigos incluídos, apenas 2 demonstraram o uso da fluoxetina em germe dentário.

Em um estudo, diferentes concentrações de 5-HT foram expostas isoladamente ou combinada com fluoxetina em meios de cultura mandibulares de ratos. Através da técnica avidina/biotina peroxidase como marcador imunohistoquímico, foi analisado o papel estimulador que a 5-HT apresenta sobre a odontogênese. Esse efeito pode ser explicado pela presença de sítios de 5-HT no órgão do esmalte, induzindo a formação da papila dentária e originando o estágio do capuz; na papila dentária, induzindo a diferenciação do órgão do esmalte; nos pré-ameloblastos e pré-odontoblastos durante o primeiro estágio de citodiferenciação que ocorre durante o desenvolvimento do germe dental^{19,20}.

A ação da 5-HT nos tecidos mineralizados já havia sido questionada anteriormente, verificou-se a presença desse neurotransmissor no interior do mesênquima dental. Também fazendo uso de culturas mandibulares embebidas com diferentes concentrações de 5-HT e utilizando a imunohistoquímica como técnica, pode-se observar ainda a presença da 5-HT no palato, língua, septo nasal e processos maxilares e mandibulares¹⁹.

Evidências experimentais passaram a destacar a possível influência que a 5-HT poderia acarretar no período da embriogênese e de histomorfogênese¹⁻¹⁰. Através da identificação do RNAm dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, 5-HT₂ e 5-HT₃ no epitélio dental de um germe na fase de botão e dentro da papila dentária no estágio de

campânula pôde-se confirmar a relevante função que a 5-HT desempenha na odontogênese^{19,20}.

Em virtude desses achados, passou-se a sugerir uma influência dos ISRSs sobre os tecidos mineralizados, pois estes antidepressivos aumentam a concentração de 5-HT na fenda sináptica, devido à ação bloqueadora sobre os receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{2A}, e 5-HT_{2B}¹¹⁻²⁰.

Em 1996, foi realizada uma pesquisa onde se avaliou a ação da fluoxetina, através da técnica de imunohistoquímica sobre o germe dentário em culturas mandibulares embebidas em diferentes concentrações de 5-HT. Constatou-se a ação inibidora da fluoxetina sobre o efeito estimulador da 5-HT na odontogênese¹⁹.

Em outro estudo, evidenciou-se a habilidade que a fluoxetina apresenta em afetar o desenvolvimento dentário em culturas mandibulares, especialmente na dentinogênese e na condrogênese. Porém, também foi analisado outros antagonistas específicos atuantes sobre 3 tipos de receptores serotoninérgicos: 5-HT₃, 5-HT_{1A} e 5-HT₂. Dos antagonistas analisados, o ondanestron se mostrou eficaz durante a fase do botão para o receptor 5-HT₃, o NAN-190 durante a fase do capuz para o receptor 5-HT_{1A}. O antagonista miaserin não se mostrou eficaz para o receptor 5-HT₂²⁰.

Com relação à ação dos ISRSs, mais especificamente a fluoxetina sobre o tecido ósseo, foi observado uma maior quantidade de artigos científicos, totalizando 8. A ação desse antidepressivo na estrutura óssea também já foi muito pesquisada em virtude de relatos em estudos de que tanto o osso como o perióstio apresentam sua inervação simpática¹¹⁻¹⁸.

Estudos usando a técnica da reação de polimerase em cadeia e a imunohistoquímica demonstraram pela primeira vez, receptores de 5-HT presentes no

osso, sugerindo possíveis interações serotoninérgicas neste sistema^{11,13}. Corroborando com esse achado foi evidenciado que o uso, por período prolongado, de 5-HT em ratas foi capaz de conduzir a uma maior densidade mineral óssea¹⁴.

A partir dessa análise, diversos ISRSs foram utilizados e com relação à fluoxetina, foi observado uma redução da cortical óssea e da massa do osso trabecular em ratos, concluindo que esse antidepressivo é capaz de inibir o crescimento normal dos ossos. Estudos demonstraram que os neurotransmissores e seus receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{2A}, e 5-HT_{2B} desempenham papel importante na diferenciação dos osteoblastos e osteócitos contribuindo para a redução da massa óssea^{12,13}.

Mesmo apresentando metodologia distinta, os resultados de outra pesquisa corroboraram com os estudos citados acima, nos quais foram observados efeitos deletérios na arquitetura, microarquitetura e biomecânica de fêmures tratados com fluoxetina¹⁶. O método para análise foi a TC, e através desse método pôde-se quantificar a densidade óssea das diversas amostras presentes. Utilizando a mesma técnica (TC)¹⁵, outro estudo foi capaz de concluir que a fluoxetina inibe a diferenciação dos osteoblastos derivadas de células da medula óssea.

Foi sugerido também que a fluoxetina poderia afetar na formação e/ou reabsorção óssea em uma pesquisa com ratos também fazendo uso da TC, por terem encontrado menor espessura óssea na metafise do fêmur dos ratos do grupo experimental. Porém esses dados não foram estatisticamente significativos, com isso, não se pôde concluir que a fluoxetina poderia apresentar efeito significativo sobre a arquitetura óssea de ratos e suas propriedades mecânicas¹⁷. Outra pesquisa revelou que o uso da fluoxetina utilizada durante o processo de reparação óssea demonstrou maior

aumento de formação de osso trabecular em ratos na dose de 15 mg/Kg de peso animal¹⁸.

Apesar de estudos terem evidenciado pouca influência da fluoxetina em tecidos calcificados, são necessários mais dados clínicos que corroborem com estes achados. Há evidências que revelam que o tratamento com os ISRSs, especificamente a fluoxetina, pode afetar a estrutura dos tecidos mineralizados, como os ossos e os elementos dentais.

CONCLUSÃO

Estudos demonstraram que apesar de ser eficiente no tratamento dos distúrbios depressivos, a fluoxetina pode diminuir o crescimento e o desenvolvimento dos tecidos mineralizados, como os ossos e os elementos dentários, por alterar o metabolismo neuroendócrino da 5-HT.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Buznikov GA. The action of neurotransmitters and related substances on early embryogenesis. *Pharmacol Therap.* 1984; 25: 23-59.
2. Lauder JM, Zimmerman EF. Sites of serotonin uptake in epithelia of the developing mouse palate, oral cavity and face: possible role of morphogenesis. *J Craniofac Gen Dev Biol.* 1988; 8: 265-276.
3. Lauder JM. Ontogeny of the serotonergic system in the rat: serotonin as a developmental signal. *Ann NY Acad Sci New.* 1990; 600: 297-313.
4. Whitaker-Azmitia PM. Role of serotonin and other neurotransmitter receptors in brain development: basis for developmental pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991; 43: 553-561.
5. Johnson DS, Heinemann SF. Embryonic expression of the 5-HT₃ receptor subunit 5-HT₃R-A, in the rat: an in situ hybridization study. *Mol Cell Neuroci.* 1995; 6: 122-138.
6. Teccot L, Shtrom S, Julius D. Expression of a serotonin-gated ion channel in embryonic neural and nonneural tissues. *Mol Cell Neuroc.* 1995; 6: 43-55.
7. Levallois C, Valence C, Baldet P, Prival A. Morphological and morphometric analysis of serotonin-containing neurons in primary dissociated cultures of human rhombencephalon: a study of development. *Devel Brain Res.* 1997; 99: 243-252.
8. Lauder JM, Wilkie MB, Wu C, Singh S. Expression of 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} and 5-HT_{2C} receptors in the mouse embryo. *Int J Devl Neuroscience.* 2000; 18: 653-662.

9. Buznikov GA, Lambert HW, Lauder JM. Serotonin and serotonin-like substances as regulators of early embryogenesis and morphogenesis. *Cell Tissue Res.* 2001; 305: 177-186.
10. Lauder JM, Luo X, Persico AM. Serotonergic regulation of somatosensory cortical development: lessons from genetic mouse models. *Devel Neurosci.* 2003; 25: 173-83.
11. Bliziotis MM, Eshleman AJ, Zhang XW, Wiren KM. Neurotransmitter action in osteoblasts: expression of a functional system for serotonin receptor activation and reuptake. *Bone.* 2001; 29: 477-486.
12. Battaglino R, Fu J, Späte U, Ersoy U, Joe M, Sedaghat L, Stashenko P. Serotonin regulates osteoclast differentiation through its transporter. *J Bone Miner Res.* 2004; 19: 1420-1431.
13. Bliziotis M, Eshleman A, Burt-Pichat B, Zhang XW, Hashimoto J, Wiren K, Chenu, C. Serotonin transporter and receptor expression in osteocytic MLO-Y4 cells. *Bone.* 2006; 39: 1313-1321.
14. Gustafsson BI, Thommesen L, Stunes AK, Tommeras K, Westbroek I, Waldum HL, Slordahl K, Tamburstuen MV, Reseland JE, Syversen U. Serotonin and fluoxetine modulate bone cell function in vitro. *J Cell Biochem.* 2006; 98: 139-151.
15. Battaglino R, Vokes M, Schulze-Späte U, Sharma A, Graves D, Kohler T, Muller R, Yoganathan S, Stashenko P. Fluoxetine treatment increases trabecular bone formation in mice (Fluoxetine affects bone mass). *J Cell Biochem.* 2007; 100: 1387-1394.
16. Bonnet N, Bernard P, Beaupied H, Bizot JC, Trovero F, Courteix D, Benhamou CL. Various effects of antidepressant drugs on bone microarchitecture, mechanical properties and bone remodeling. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007; 221: 111-118.

17. Westbroek I, Waarsing JH, Van Leeuwen JPTM, Waldum H, Reseland JE, Weinans H, Syversen U, Gustafsson BI. Long-term fluoxetine administration does not result in major changes in bone architecture and strength in growing rats. *J Cell Biochem.* 2007; 101: 360-368.
18. Mortazavi SH, Khojasteh A, Vaziri H, Khoshzaban A, Roudsari MV, Razavi SHE. The effect of fluoxetine on bone regeneration in rat calvarial bone defects. *Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 108: 22-27.
19. Moiseiwitsch JRD, Lauder JM. Simulation of murine tooth development in organotypic culture by the neurotransmitter serotonin. *Archs Oral Biol.* 1996; 41: 161-165.
20. Moiseiwitsch JRD, Raymond JR, Tamir H, Lauder JM. Regulation by serotonin of tooth-germ morphogenesis and gene expression in mouse mandibular explant cultures. *Archs Oral Biol.* 1998; 43: 789-800.
21. Ornstein S, Stuart G, Jenkins R. Depression diagnoses and antidepressant use in primary care practices: a study from the Practice Partner Research Network (PPRNet). *J Fam Prac.* 2000; 49: 68-72.
22. Van Marwijk HWJ, Bijl D, Ader HJ, De Haan M. Antidepressant prescription for depression in general practice in The Netherlands. *Pharm World and Sci.* 2001; 23: 46-49.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a influência da fluoxetina no desenvolvimento e crescimento do complexo dentino-pulpar na fase de coroa de primeiros molares superiores de ratos cujas mães foram tratadas com cloridrato de fluoxetina durante a gestação.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Avaliar a influência da fluoxetina sobre a cronologia de erupção dos germes dentários de primeiros molares superiores de ratos durante a fase de desenvolvimento da coroa através da espessura das camadas de dentina e pré-dentina e o comprimento da camada de odontoblastos.

3.2.2 Verificar a influência da fluoxetina sobre o grau de maturação dos germes dentários de primeiros molares superiores de ratos durante a fase de desenvolvimento da coroa através da espessura das camadas de dentina e pré-dentina e o comprimento da camada de odontoblastos.

3.2.3 Identificar a influência da fluoxetina sobre a presença de agenesia dentária nos ratos cujas mães foram tratadas com cloridrato de fluoxetina durante a gestação.

4 MÉTODOS

4.1 Local de realização do estudo

O estudo foi realizado no Biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental, no Departamento de Histologia e Embriologia e no Laboratório de Histotécnica do Programa de Pós-graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco.

4.2 Tipo de estudo

Foi realizado um estudo do tipo experimental randomizado, onde foram determinados: o objetivo do estudo, as variáveis que puderam influenciá-lo (tratados e não tratados com o cloridrato de fluoxetina), assim como definir as formas de controle e de observação dos efeitos que essas variáveis puderam ou não produzir no objetivo desse trabalho.

4.3 Considerações éticas

O projeto de pesquisa foi aprovado no Comitê de Bioética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CBEA – UFPE), processo nº 23076.006899/2008 - 51 CBEA/CCB (Anexo I).

4.4 Fatores de estudo

Interferência do uso de antidepressivos inibidores seletivos da recaptação da Serotonina: Cloridrato de fluoxetina comparando com o grupo controle no desenvolvimento morfológico e histométrico do complexo dentino-pulpar de molares superiores de ratos cujas mães foram tratadas ou não com cloridrato de fluoxetina durante a gestação.

4.5 Animais

Foram utilizadas 12 ratas albinas da linhagem Wistar da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais receberam a dieta padrão do biotério (LABINA - Purina do Brasil S/A) e água *ad libitum*. Foram mantidas em sala com temperatura de 23 +/- 2° C e ciclo de claro e escuro de 12:12 horas (claro das 06 às 18 horas e escuro das 18 às 06 horas).

Para obtenção de neonatos, foram realizados acasalamentos entre animais adultos na proporção de um macho para duas fêmeas. A gravidez foi diagnosticada através da realização de esfregaço vaginal e posterior observação da presença de espermatozóides associada ao acompanhamento de ganho de peso corporal.

Para a observação da presença ou não de espermatozóides as preparações foram coradas por uma solução de violeta de genciana (cloreto de metil-rosanilina) a 0,6% durante 1 minuto e analisadas em microscópio comum. Uma vez detectada a presença de espermatozóides, a fêmea foi considerada prenhe sendo este dia considerado como o 1° dia da prenhez.

4.5.1 Grupos de estudo

Foram utilizadas 12 ratas Wistar prenhes distribuídas em três grupos, sendo 4 para o grupo controle (Grupo C), 4 para o tratado com fluoxetina na dose de 10 mg/Kg de peso animal (Grupo FL) e 4 para o grupo tratado com fluoxetina na dose de 20 mg/Kg de peso animal (Grupo FX). Cada grupo foi subdividido em 2 subgrupos de acordo com a idade do desenvolvimento do germe dental (1 ou 5 dias de vida), totalizando 6 subgrupos: C1, C5, FL1, FL5, FX1, FX5.

Foram utilizadas 2 ratas prenhes para cada subgrupo sendo que de cada ninhada utilizaram-se 3 filhotes, de ambos os sexos. Os animais de cada subgrupo foram obtidos de mães tratadas ou não, a partir do primeiro dia de gestação (Figura 1).

Os subgrupos são:

- C1: Animais do grupo controle com 1 dia de vida.
- C5: Animais do grupo controle com 5 dias de vida.
- FL1: Animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 10 mg/Kg de peso animal com 1 dia de vida.
- FL5: Animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 10 mg/Kg de peso animal com 5 dias de vida.
- FX1: Animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 20 mg/Kg de peso animal com 1 dia de vida.
- FX5: Animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 20 mg/Kg de peso animal com 5 dias de vida.

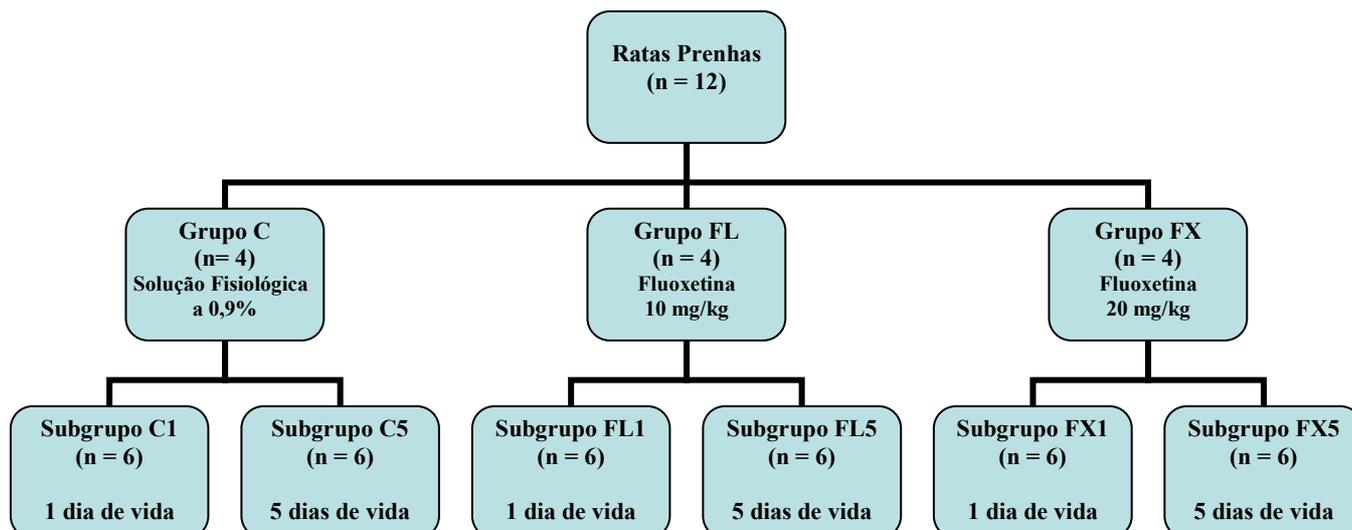


Figura 1. Fluxograma dos grupos de estudo: foram utilizadas 12 ratas prenhas, distribuídas em três grupos. Cada grupo foi subdividido em 2 subgrupos de acordo com a idade do desenvolvimento do germe dental a ser analisado, totalizando 6 subgrupos.

4.5.2 Tratamento farmacológico dos animais

Uma vez diagnosticada a prenhez, as ratas foram submetidas ao tratamento estabelecido de acordo com o grupo de estudo a que pertencer. No grupo controle (Grupo C) as mães receberam diariamente solução fisiológica a 0,9% em aplicações subcutâneas na dose de 10 μ l/g, em horários previamente estabelecidos (entre 07h e 08h da manhã). Nos grupos tratados, as mães receberam cloridrato de fluoxetina nas doses de 10mg/kg de peso animal (Grupo FL) ou 20mg/kg de peso animal (Grupo FX), injetados por via subcutânea nos mesmos horários e períodos estabelecidos para o grupo controle. Tanto a solução fisiológica quanto o cloridrato de fluoxetina foram administrados do 1º ao 21º dia da prenhez.

Os animais de 1 dia de idade foram crioanestesiados e os animais de 5 dias foram anestesiados com xilazina a 20mg/Kg de peso animal (i. p.) e quetamina a

50mg/Kg de peso animal (i. p.). Os animais foram decapitados, suas mandíbulas removidas e o maxilar superior com os germes dentários direito e esquerdo foram seccionados tangentemente a face mesial do primeiro molar. Os germes dentários foram fixados “*in toto*” segundo os procedimentos para Microscopia de Luz.

4.6 Microscopia de luz

Os espécimes foram fixados em solução de formol tamponado a 10% durante 24 horas à temperatura ambiente. A seguir, os espécimes de 5 dias foram descalcificados em solução aquosa de ácido nítrico a 10%. Seguiu-se a técnica histológica convencional na seguinte seqüência: desidratação em uma série crescente de etanol (70% a 100%, por 40 minutos cada); diafanização com xilol (dois banhos de 40 minutos cada); embebição em parafina (3 banhos de 40 minutos cada) e inclusão no mesmo material (MICHALANNY, 1990).

Os cortes histológicos foram obtidos com aproximadamente 4µm cada, através de um micrótomo LEICA RM 2125 RT, utilizando-se navalha LEICA 818. Os cortes foram estirados em banho-maria histológico ANCAP, dispostos em lâminas untadas com albumina de Mayer, colocados em estufa J PROLAB 102 por, aproximadamente, 30 minutos a 37°C para secagem do material.

A seguir, foram corados pela hematoxilina-eosina (HE), montados em Entellan[®], observados e fotografados em um microscópio de luz ECLYPSE 51.

4.7 Coleta de dados

Todas as preparações foram devidamente classificadas e catalogadas. No momento da análise as preparações foram apenas identificadas por um número. Cada preparação apenas foi identificada no momento da análise dos resultados e do cálculo estatístico.

4.8 Estudo morfológico e histométrico

Para análise morfológica foi utilizado microscópio de luz (ECLYPSE 51). A coroa de cada germe dentário foi dividida em três terços para facilitar a análise: terços cuspídeo, médio e cervical. Nestas regiões foram observadas e descritas as características histológicas das regiões da dentina, pré-dentina e camada odontoblástica, como espessura, formato e posição do núcleo.

Para análise histométrica foi utilizado microscópio de luz (ECLYPSE 51), acoplado em uma microcâmera, conectado a um computador contendo uma placa de captura de imagem (ATI) e o software para histometria (IMAGE J). As preparações histológicas foram escolhidas aleatoriamente, de modo que no final desta seleção fosse possível fazer uma histometria seriada. Os três terços da coroa foram analisados, sendo que, de cada tecido estudado selecionavam-se 10 campos, dos quais foram mensuradas espessura da dentina e pré-dentina e a altura dos odontoblastos. Destes dados obtinham-se as médias e os desvios padrões para a análise estatística.

4.9 Análise estatística

Os dados obtidos após a análise laboratorial foram tabulados e em seguida submetidos aos seguintes softwares:

- Microsoft Excel 2007 for Windows
- BioEstat versão 5.0 for Windows

Com auxílio destes softwares foi possível a realização do cálculo dos seguintes testes estatísticos: Teste Anova Único Fator, Análise de Variância e o Teste de Tuckey, com $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Artigo original

Título: Influência da fluoxetina na dentinogênese em ratos albinos

Isabela Maria de Albuquerque Santiago

Mestranda pelo programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco

Luciana Silva Regueira

Acadêmica do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco

Priscylla Gonçalves Correia

Acadêmica do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco

Robério José Barbosa de Alcântara

Acadêmico do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco

Joaquim Evêncio Neto

Professor Adjunto do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco

Liriane Baratella Evêncio

Professora Adjunta do Departamento de Histologia e Embriologia da Universidade Federal de Pernambuco

Endereço para correspondência:

Prof. Liriane Baratella Evêncio

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Recife PE 50670-901

Fone/Fax: + 81 21268515

www.ufpe.br/liriane@uol.com.br

Este artigo está formatado de acordo com as normas do Journal of Morphology

RESUMO

Objetivo: A presente pesquisa teve como objetivo verificar os aspectos histológicos e histométricos do desenvolvimento do complexo dentino-pulpar de germes dentários de ratos cujas mães foram tratadas com cloridrato de fluoxetina durante a gestação.

Metodologia: Foram utilizadas 12 ratas prenhes da linhagem Wistar que foram agrupadas aleatoriamente em 3 grupos distintos: Grupo C (Controle), Grupo FL (Fluoxetina na dose de 10mg/kg de peso animal) e Grupo FX (Fluoxetina na dose de 20mg/kg de peso animal). Do 1º ao 21º dia da prenhez foi administrado nestes animais solução fisiológica a 0,9% ou cloridrato de fluoxetina, por via subcutânea, de acordo com o grupo ao qual pertencia. Posteriormente, a prole destes animais foi subdividida em subgrupos de acordo com a idade do desenvolvimento do germe dentário a ser estudado (1 e 5 dias de vida): C1 e C5 (animais do grupo controle com 1 e 5 dias de vida); FL1 e FL5 (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 10 mg/Kg de peso animal com 1 e 5 dias de vida); FX1 e FX5 (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 20 mg/Kg de peso animal com 1 e 5 dias de vida).

Resultados: Após análise das amostras analisadas não foram evidenciadas alterações estruturais do complexo dentino-pulpar dos ratos cujas mães foram tratadas com o cloridrato de fluoxetina em ambas as doses utilizadas.

Conclusão: A fluoxetina, nas doses em estudo, administrada durante a gestação não alterou morfológicamente o desenvolvimento do complexo dentino-pulpar coronário dos respectivos filhotes.

PALAVRAS-CHAVE: Fluoxetina, Serotonina, Germe Dentário, Complexo dentino-pulpar

ABSTRACT

Objective: This study aimed to determine the histological and histometric development of the pulp-dentin complex of tooth germs of rats whose mothers were treated with fluoxetine hydrochloride during pregnancy. Methodology: A total of 12 pregnant Wistar rats were divided randomly into three groups: Group C (Control), FL Group (Fluoxetine at a dose of 10 mg/kg bodyweight) and Group FX (Fluoxetine at a dose of 20mg/kg bodyweight). From the first 21 days of pregnancy was administered in these animals saline 0,9% or fluoxetine hydrochloride, subcutaneously, according to the group to which he belonged. Subsequently, the offspring of these animals was divided into subgroups according to age of development of tooth germ to be studied (1 and 5 days of life): C1 and C5 (the control group at 1 and 5 days of life); FL1 and FL5 (in the group treated with fluoxetine at a dose of 10 mg/kg animal bodyweight with 1 and 5 days of life); FX5 and FX1 (the animal group treated with fluoxetine at a dose of 20 mg/kg animal bodyweight with 1 and 5 days of life). Results: After analysis of the specimens were not found structural changes in the pulp-dentin complex of rats whose mothers were treated with fluoxetine hydrochloride in both doses. Conclusion: Fluoxetine in doses under study, administered during pregnancy did not alter the morphological coronary development of the pulp-dentin complex their offspring.

KEY-WORDS: Fluoxetine, Serotonin, Dental Germ, Dentin - Pulp Complex

INTRODUÇÃO

O metabolismo dos tecidos mineralizados pode ser influenciado pelo Sistema Nervoso Central (SNC), sendo este capaz de controlar as atividades das células destes tecidos (Bliziotis *et al.* 2006). Mecanismos neuroendócrinos, principalmente os relacionados com a serotonina (5-HT), estão associados à diferenciação e ativação destas células. Há relatos na literatura, de que o cloridrato de fluoxetina bloqueando a recaptação da 5-HT poderia induzir reabsorção óssea em ratos (Battaglino *et al.* 2004; Bonnet *et al.* 2007).

A 5-HT também exerce um papel estimulador sobre o desenvolvimento do germe dental desempenhando ações que são capazes de induzir a formação do órgão do esmalte e da papila dentária originando os estágios de campânula e coroa. Esses fenômenos constituem etapas de cito e histodiferenciação que ocorre durante a odontogênese e que dará origem ao elemento dental (Moiseiwitsch e Lauder, 1996; Moiseiwitsch *et al.* 1998).

O desenvolvimento e diferenciação do germe dentário são acompanhados por mudanças rápidas em sua matriz extracelular (Cotrim *et al.* 2002). Extensas remodelações do epitélio, proliferação celular, apoptose e mudanças na forma e no posicionamento dos grupos celulares são determinados por gradientes morfogênicos que devem desempenhar um papel crítico durante a morfogênese do elemento dentário (Lesot e Brook, 2008).

O germe dentário desenvolve-se através de cinco fases: fase de botão, capuz, campânula, coroa e raiz. Estabelecida a fase de campânula, o germe dentário apresenta todos os primórdios para a formação do dente e seu tecido de sustentação e proteção

(Thesleff, 1976). A fase de coroa corresponde ao período em que os tecidos mineralizados da coroa do futuro dente estão se formando, onde ocorre deposição de dentina e maturação dos odontoblastos (Ten Cate, 1978).

A depressão é, reconhecidamente, um problema de saúde pública, interferindo de modo decisivo e intenso na vida pessoal, profissional, social e econômica de seus portadores. Nos últimos anos, um número maior de mulheres em período gestacional foram diagnosticadas com quadros depressivos. O tratamento farmacológico desta enfermidade tem reduzido a morbidade e melhorado o desfecho clínico de milhares de casos de depressão em todo o mundo (Kulin, Pastuszak e Koren, 1998; Addis e Koren, 2000; Hendrick e Altshuler, 2002; Morrison, Riggs e Rurak, 2005).

Vários fármacos são capazes de atravessar a barreira placentária (Hendrick *et al.* 2003) e muitas deles possuem efeitos teratogênicos sobre o feto, o que pode provocar alterações e desordens no desenvolvimento embrionário, principalmente nos três primeiros meses de vida intra-uterina (Hendrick e Altshuler, 2002).

Em 1987, a agência reguladora de medicamentos e alimentos, Food and Drug Administration (FDA), dos Estados Unidos, aprovou o primeiro antidepressivo (fluoxetina) do grupo dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs) (Wong, Bymaster e Engleman, 1995).

O cloridrato de Fluoxetina é o antidepressivo mais amplamente prescrito em todo o mundo. É um fármaco capaz de inibir de forma potente e seletiva a recaptação de 5-HT, potencializando a neurotransmissão serotoninérgica. O mecanismo de ação da fluoxetina está ligado à inibição da recaptação neuronal de serotonina e um aumento resultante na neurotransmissão serotoninérgica no SNC (Gupta, Masand e Rangwani, 1998; Raap e Van de Kar, 1999).

A 5-HT ou 5-hidroxitriptamina faz parte dos grupos de neurotransmissores que regulam importantes vias do metabolismo dos mamíferos, é sintetizada a partir de aminoácidos, como fenilalanina, tirosina e triptófano (Raap e Van de Kar, 1999).

Em cérebros humanos, os primeiros neurônios que liberam 5-HT estão presentes a partir da 5^o semana e aumentam rapidamente até a 10^o semana de gestação (Whitaker-Azmitia, 1991; Kontur *et al.* 1993; Levallois *et al.* 1997; Canto-de-Souza *et al.* 1998). A 5-HT interage com seus receptores, estes alteram o metabolismo celular, influenciando as diversas etapas da organogênese (Buznikov, 1984; Lauder, Tamir e Sadler, 1988; Buznikov, Lambert e Lauder, 2001). A neurotransmissão serotoninérgica pode modular a proliferação celular em diversos tecidos e está envolvida principalmente na morfogênese da região craniofacial (Lauder, Luo e Persico, 2003).

Portanto, é possível que exposições a doses terapêuticas crônicas de ISRSs apresentem alterações no desenvolvimento do sistema serotoninérgico, entretanto esta evidência não está bem esclarecida, sendo importante um número maior de estudos nesta área (Magalhães *et al.* 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos morfológicos da dentinogênese coronária de primeiros molares superiores de ratos no 1^o e 5^o dias de vida, cujas mães foram tratadas com fluoxetina durante a gestação.

MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental, no Departamento de Histologia e Embriologia e no Laboratório de Histotécnica do Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco, no período de setembro de 2008 a março de 2010. Foi aprovado pelo Comitê de Bioética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CBEA/CCB – UFPE), processo nº 23076.006899/2008 – 51.

Foram utilizadas 12 ratas albinas da linhagem Wistar que receberam alimentação e água ad libitum e foram mantidas em temperatura de 23 +/- 2° C e ciclo de claro e escuro de 12:12 horas. Após acasalamento e diagnóstico de prenhez por esfregaço vaginal, as ratas foram distribuídas em três grupos, sendo 4 para o grupo controle (Grupo C), 4 para o grupo tratado com fluoxetina na dose de 10 mg/Kg de peso animal (Grupo FL) e 4 para o grupo tratado com fluoxetina na dose de 20 mg/Kg de peso animal (Grupo FX). Cada grupo foi subdividido em 2 subgrupos de acordo com a idade do desenvolvimento do germe dental (1 ou 5 dias de vida), totalizando 6 subgrupos.

Foram utilizadas 2 ratas prenhes para cada subgrupo sendo que de cada ninhada utilizou-se 3 filhotes, de ambos os sexos. Os animais de cada subgrupo foram obtidos de mães tratadas ou não, a partir do primeiro dia de gestação.

Os subgrupos foram, então, denominados C1 e C5 (animais do grupo controle com 1 e 5 dias de vida); FL1 e FL5: (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 10 mg/Kg de peso animal com 1 e 5 dias de vida); FX1 e FX5: (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 20 mg/Kg de peso animal com 1 e 5 dias de vida).

As ratas prenhes receberam tratamento de acordo com o grupo de estudo ao qual pertenciam do 1º ao 21º dia da prenhez. No grupo C, as mães receberam diariamente solução fisiológica a 0,9% em aplicações subcutâneas na dose de 10µl/g, em horários previamente estabelecidos (entre 07h e 08h da manhã). No grupo FL, as mães foram tratadas com fluoxetina na dose de 10mg/kg de peso animal e no grupo FX, as mães foram tratadas com fluoxetina na dose de 20mg/kg de peso animal, injetados por via subcutânea nos mesmos horários e períodos estabelecidos para o grupo controle.

Os animais de 1 dia de idade foram crioanestesiados e os animais de 5 dias foram anestesiados com xilazina a 20mg/Kg de peso animal (i. p.) e quetamina a 50mg/Kg de peso animal (i. p.). Os animais foram decapitados, suas mandíbulas removidas e o maxilar superior com os germes dentários direito e esquerdo foram seccionados tangencialmente a face mesial do primeiro molar. Os germes dentários foram fixados em solução de formol tamponado a 10% durante 24 horas à temperatura ambiente. A seguir, os espécimes de 5 dias foram descalcificados em solução aquosa de ácido nítrico a 10%. Seguiu-se a técnica histológica convencional para inclusão em parafina (Michalanny, 1990). Os cortes histológicos foram obtidos com aproximadamente 4µm cada, corados pela hematoxilina-eosina (HE), montados em Entellan[®], observados e fotografados em um microscópio de luz ECLYPSE 51.

Para análise morfológica foi utilizado microscópio de luz (ECLYPSE 51). A coroa de cada germe dentário foi dividida em três terços para facilitar a análise: terços cuspídico, médio e cervical. Nestas regiões foram observadas e descritas as características histológicas das regiões da dentina, pré-dentina e camada odontoblástica.

Para análise histométrica foi utilizado microscópio de luz (ECLYPSE 51), acoplado em uma microcâmera, conectado a um computador contendo uma placa de

captura de imagem (ATI) e o software para histometria (IMAGE J). Os três terços da coroa foram analisados, sendo que, de cada tecido estudado selecionavam-se 10 campos, dos quais foram mensuradas espessura da dentina e pré-dentina e a altura dos odontoblastos. Destes dados obtinham-se as médias e os desvios padrões para a análise estatística.

Para análise estatística foram utilizados os testes Anova Único Fator, Análise de Variância e o Teste de Tuckey, com $p < 0,05$.

RESULTADOS

Animais com 1 dia de vida

Não foram observadas diferenças estruturais nos germes dentários dos animais dos três grupos de estudo.

No terço cuspídico observou-se deposição inicial muito fina de matriz de dentina, com coloração rosa claro. Abaixo da matriz de dentina observamos a camada odontoblástica disposta em paliçada com aspecto prismático alto e núcleo polarizado em direção a papila dentária. Na região de curvatura cuspídica, devido à proximidade das células, a camada de células odontoblástica assemelha-se a um epitélio pseudo-estratificado. Acima da matriz de dentina, os pré-ameloblastos apresentam-se prismáticos altos, as quais, neste período, ainda não iniciaram a síntese de matriz de esmalte (Figura 1).

No terço médio, descendo pela vertente da coroa, observamos presença de matriz de dentina, de menor espessura que no terço cuspídico, afinando em direção ao terço cervical. Os odontoblastos subjacentes a esta camada se encontram prismáticos mais baixos, porém o núcleo apresenta-se polarizado em direção a papila dentária, indicando atividade de citodiferenciação. Os pré-ameloblastos da mesma forma mostram-se prismáticos, porém mais baixos que no terço anterior (Figura 1).

No terço cervical não foi observada deposição de matriz de dentina, sendo que as células da papila dentária encontram-se mais condensadas, em fase de diferenciação celular. Tais células apresentam aspecto estrelado, com núcleo arredondado e basófilo. Os odontoblastos e pré-ameloblastos não se encontram presentes nesta região e a

camada do epitélio interno do órgão do esmalte apresenta um aspecto prismático baixo ou cubóide com núcleo central (Figura 1).

Após a análise histométrica da espessura da matriz de dentina depositada, pôde-se observar que não ocorreram alterações significantes quando se comparou os subgrupos C1, FL1 e FX1 (Tabela 1 e Figura 2).

Com relação aos odontoblastos tanto na região de futura cúspide quanto no terço médio da coroa, não houve alterações significantes no comprimento destas células em nenhum dos subgrupos analisados (Tabela 1 e Figura 2).

Animais com 5 dias de vida

Não foram observadas diferenças estruturais nos germes dentários dos animais dos três grupos de estudo.

Observamos no terço cuspídico uma camada de dentina mais espessa que no grupo anterior, de coloração rosa escuro e a camada de pré-dentina de coloração rosa claro. Acima da camada dentinária verifica-se presença de matriz de esmalte de coloração púrpuro-azulada. Acima da matriz de esmalte observamos ameloblastos prismáticos altos. Abaixo da camada de pré-dentina, observamos odontoblastos dispostos em paliçada com aspecto prismático alto e núcleo polarizado em direção a papila dentária. Na região de curvatura cuspídica, devido à proximidade das células e seu rearranjo, a camada de células odontoblástica assemelha-se a um epitélio pseudo-estratificado (Figura 3).

No terço médio, descendo pela vertente da coroa, observamos a presença das camadas de dentina e pré-dentina, menos espessas que no terço cuspídico, que vão

adelgaçando-se em direção ao terço cervical. Os odontoblastos subjacentes a camada de pré-dentina encontram prismáticos com o núcleo polarizado em direção a papila dentária, porém mais baixos que no terço cuspídico. Acima da camada dentinária verifica-se presença de matriz de esmalte, menos espessura que no terço anterior. Acima da matriz de esmalte observamos os ameloblastos, células prismáticas, porém mais baixas que no terço anterior (Figura 3).

Observamos no terço cervical a presença das camadas de dentina e pré-dentina, com espessura menor que as regiões cuspídica e média. Acima da camada de dentina, observamos os pré-ameloblastos, com aspectos prismáticos, mas não se visualiza nesta região a matriz de esmalte. Abaixo da camada de pré-dentina, observamos a camada odontoblástica disposta em paliçada com aspecto prismático baixo e núcleo em direção a papila dentária, indicando atividade de síntese (Figura 3).

Após análise histométrica da pré-dentina depositada na região da futura cúspide, no terço médio e no terço cervical da coroa, não foram observadas alterações significantes na espessura deste tecido nos três subgrupos analisados (Tabela 2 e Figura 4). A dentina mineralizada apresentou a mesma espessura nos três subgrupos estudados e nos três terços analisados da coroa do germe dentário (Tabela 2 e Figura 4) e o comprimento da camada de odontoblastos não sofreu alterações significantes nos grupos tratados quando comparado ao grupo controle (Tabela 2 e Figura 4).

DISCUSSÃO

O desenvolvimento dos molares de ratos são modelos clássicos para se estudar a odontogênese (Pinzon, Kozlov e Burch, 1967). Em uma série de estudos histológicos, os molares de ratos foram utilizados como objetivo de pesquisas e analisados por suas reações a diversos medicamentos e condições experimentais (Peterková *et al.* 2002).

Os dentes dos mamíferos são produtos da combinação durante o desenvolvimento de tecidos de origem ectodérmica e ectomesenquimal (Gaunt, 1967). O epitélio oral influenciando o mesoderma desempenha um importante papel no desenvolvimento do germe do dental (Kollar e Baird, 1969; Thesleff, 1976).

No presente estudo, observamos que as características histológicas dos animais de 1 dia de vida se apresentaram de maneira semelhante em todos os grupos, ou seja, o processo de odontogênese se iniciou no equivalente das cúspides dentais que se apresentou em um estágio mais avançado do desenvolvimento da coroa dentária. Descendo pelas vertentes da coroa até a alça cervical observamos uma fase indiferenciada, sendo que a papila dentária ectomesenquimal prepara-se para formação de dentina. Este processo evoluiu, paulatinamente, pelas vertentes da coroa, sendo que aos 5 dias de vida, a dentina chegou ao terço cervical da coroa. Estes dados estão de acordo com o descrito classicamente por Bevelander e Hiroshi (1966) os quais afirmaram que a dentina começa a ser formada no estágio avançado de campânula do desenvolvimento do dente e é função da papila dental. As células que se tornam diferenciadas na periferia da papila dentária são as responsáveis pela formação e mineralização da matriz orgânica do tecido dentinário.

De acordo com Sasaki e Garant (1996) os odontoblastos apresentam-se justapostos a camada de pré-dentina e em maior número por área nas porções mais próximas das cúspides. Várias secções neste ensaio biológico mostraram áreas em que parecia haver uma pseudo-estratificação da camada odontoblástica, entretanto esta variação na morfologia do tecido analisado pode ser explicada devido à diferença de angulação do corte e da região da vertente da cúspide em que o germe dentário foi seccionado. Além do mais, a coroa dos molares de rato apresenta uma anatomia específica, com mais de uma cúspide e sulcos profundos o que contribui para formação de maior número de curvaturas (Ten Cate, 1978). Estas características poderão estar relacionadas com as diferenças na espessura da matriz dentinária e no comprimento da camada de odontoblastos, dependendo da região em que foram seccionadas, se mais ou menos distante das cúspides.

À medida que a dentinogênese avançou, os odontoblastos foram sintetizando a matriz orgânica da dentina, recuando e deixando um prolongamento celular que faz contato com a membrana basal nas proximidades com o limite amelodentinário. Uma faixa rosa que se corou com menos intensidade situada entre os odontoblastos e a dentina mais corada foi facilmente distinguível nos animais com 5 dias, o que caracterizou a deposição de pré-dentina. Estes achados estão de acordo com os dados relatados na literatura onde se descreveu a presença de uma camada de matriz ricamente sulfurosa e menos acidófila de matriz orgânica de dentina (pré-dentina) nas adjacências da camada odontoblástica (Symons, 1956; Reith, 1968; Goracci, Mori e Baldi, 1999).

A matriz dentinária apresenta coloração acidófila, adquirindo uma tonalidade rosa claro quando corada em HE, o que indica presença de fibras de colágeno I e proteoglicanas. Estes achados foram descritos por Reith (1968) que descreveu os

odontoblastos diferenciados pela sua localização e tamanho e por serem ladeados por um compartimento extracelular com fibras colágenas delicadas e substância amorfa.

Nos animais com 1 dia, os dados histométricos mostraram não haver diferenças significantes na espessura de matriz de dentina e no comprimento dos odontoblastos nos três terços da coroa dos germes dentários estudados. Assim como, nos animais com 5 dias de vida, todos os parâmetros mensurados na análise histométrica também mostraram-se semelhantes. Como os animais foram tratados somente no período gestacional, a fluoxetina administrada não foi capaz de promover alterações morfológicas e quantitativas significantes nos tecidos analisados. Mesmo nos animais com 5 dias de vida, que foram amamentados, a fluoxetina circulante no corpo das mães, que passaria para a prole via leite materno, não foi capaz de provocar alterações significantes nos germes dentários nesta idade.

Justifica-se a escolha do cloridrato de fluoxetina para este estudo experimental, pois este antidepressivo é o mais amplamente prescrito em todo o mundo. É um fármaco capaz de inibir de forma potente e seletiva a recaptção de serotonina (5-HT) (Gupta, Masand e Rangwani, 1998); além de possuir pouca afinidade com outros neuroreceptores, o que o aumenta sua tolerabilidade pelo organismo e diminui seus efeitos colaterais (Raap e Van de Kar, 1999).

Na literatura há uma escassez de estudos que relacionem o uso dos ISRSs (cloridrato de fluoxetina) no desenvolvimento dos tecidos mineralizados que formam o elemento dental, sendo a maioria dos estudos relacionados com tecido ósseo. (Bliziotis *et al.* 2006) observaram que os receptores 5-HT_{1a} e 5-HT_{2a} presentes no osso podem estar relacionados a possíveis interações serotoninérgicas nesse sistema.

Jonhson e Heinemann (1995); Tecott, Shtrom e Julius (1995) observaram que a 5-HT, neurotransmissor presente na fenda sináptica neuronal, encontrava-se presente durante a morfogênese do SNC e da região craniofacial, entretanto, não fizeram nenhuma menção direta ao desenvolvimento do elemento dentário. Outras evidências experimentais revelaram ainda que a 5-HT pode influenciar o período de embriogênese e de crescimento (Blizotes *et al.* 2001).

Battaglino *et al.* (2007) observaram uma redução da cortical óssea e da massa do osso trabecular em ratos tratados com fluoxetina, concluindo que esse antidepressivo é capaz de inibir o crescimento normal dos ossos de ratos. Com isso, os autores puderam afirmar que a serotonina desempenha papel importante na diferenciação dos osteoblastos e osteócitos e, interferência nesta molécula pode reduzir a massa óssea.

Concordando com esses achados, Bonnet *et al.* (2007) observaram efeitos deletérios na arquitetura, microarquitetura e biomecânica dos ossos de animais tratados com cloridrato de fluoxetina. Da mesma forma, Battaglino *et al.* (2004) concluíram que a fluoxetina é capaz de inibir a diferenciação dos osteoclastos derivados de células da medula óssea.

Lauder e Zimmerman (1988); Lauder *et al.* (2000) revelaram que a presença dos receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} E 5-HT_{2C} no germe dentário em desenvolvimento é capaz de desempenhar um papel estimulador durante a odontogênese, porém, nada descrevem a respeito do desenvolvimento do complexo dentino-pulpar.

Corroborando com esses achados, Moiseiwitsch e Lauder (1996); Moiseiwitsch *et al.* (1998) analisando a ação inibidora que os ISRSs causam durante a organogênese, desenvolveram meios de culturas com mandíbulas de ratos, as quais foram expostas a diferentes concentrações de 5-HT. Estes autores concluíram que a 5-HT era capaz de

influenciar a papila dentária para induzir o órgão do esmalte a se diferenciar no epitélio externo, epitélio interno, retículo estrelado e estrato intermediário, tecidos essenciais para o desenvolvimento e crescimento do germe dentário. Porém, não fizeram nenhuma descrição a respeito da dentinogênese.

Cavalcanti *et al.* (2009) avaliaram as alterações morfológicas e de desenvolvimento embrionário que poderiam ocorrer em ossos esqueléticos em animais cujas mães foram tratadas como cloridrato de fluoxetina na dosagem de 10 mg/Kg de peso animal (s.c.). Para tal pesquisa, foi escolhida a articulação temporo-mandibular (ATM) por a mesma está relacionada com o desenvolvimento craniofacial, que é influenciado pelo sistema serotoninérgico.

Entretanto, nossos achados foram similares aos encontrados por Silva *et al.* (2010), os quais analisaram a ação direta da fluoxetina no desenvolvimento do esmalte dentário. Neste estudo, avaliaram-se as possíveis alterações morfológicas e estruturais que este fármaco poderia produzir no órgão do esmalte de primeiros molares superiores de ratos. Os resultados não evidenciaram alterações estruturais no desenvolvimento dos tecidos que formam o esmalte dentário.

Sendo assim, nesse estudo não foram encontradas evidências que possam sugerir que o cloridrato de fluoxetina é um fármaco que interfere, de forma deletéria, a nível estrutural no desenvolvimento dos tecidos que formam o complexo dentino-pulpar. Seria importante e necessário acompanhar o desenvolvimento destes tecidos em outras idades do desenvolvimento do complexo dentino-pulpar e também durante a lactação para observar se este fármaco poderá promover algum tipo de malformação durante a odontogênese.

CONCLUSÃO

Após a análise morfológica e histométrica realizada nos tecidos que formam o complexo dentino-pulpar não foram evidenciadas alterações estruturais significativas no desenvolvimento coronário do complexo dentino-pulpar de ratos cujas mães foram tratadas com cloridrato de fluoxetina nas concentrações de 10mg/kg ou 20mg/kg de peso animal durante a gestação.

REFERÊNCIAS

- Addis A, Koren G. 2000. Safety of fluoxetine during the first trimester of pregnancy: a meta-analytical review of epidemiological studies. *Psychol Med* 30:89-94.
- Battaglino R, Fu J, Späte U, Ersoy U, Joe M, Sedaghat L, Stashenko P. 2004. Serotonin regulates osteoclast differentiation through its transporter. *J Bone Miner Res* 19:1420-1431.
- Battaglino R, Vokes M, Schulze-Späte U, Sharma A, Graves D, Kohler T, Muller R, Yoganathan S, Stashenko P. 2007. Fluoxetine treatment increases trabecular bone formation in mice (Fluoxetine affects bone mass). *J Cell Biochem* 100:1387-1394.
- Bevelander G, Hiroshi N. 1966. The formation and mineralization of dentine. *Anat Rec* 156:303-323.
- Bliziotis M, Eshleman A, Burt-Pichat B, Zhang XW, Hashimoto J, Wiren K, Chenu, C. 2006. Serotonin transporter and receptor expression in osteocytic MLO-Y4 cells. *Bone* 39:1313-1321.
- Bliziotis MM, Eshleman AJ, Zhang XW, Wiren KM. 2001. Neurotransmitter action in osteoblasts: expression of a functional system for serotonin receptor activation and reuptake. *Bone* 29:477-486.
- Bonnet N, Bernard P, Beaupied H, Bizot JC, Trovero F, Courteix D, Benhamou CL. 2007. Various effects of antidepressant drugs on bone microarchitecture, mechanical properties and bone remodeling. *Toxicol Appl Pharmacol* 221:111-118.
- Buznikov GA. 1984. The action of neurotransmitters and related substances on early embryogenesis. *Pharmacol Ther* 25:23-59.

Buznikov GA, Lambert HW, Lauder JM. 2001. Serotonin and serotonin-like substances as regulators of early embryogenesis and morphogenesis. *Cell Tissue Res* 305:177-186.

Canto-de-Souza A, Souza RLN, Pelá IR, Graeff FG. 1998. Involvement of the midbrain periaqueductal gray 5-HT_{1A} receptors in social conflict induced analgesia in mice. *Eur J Pharmacol* 345:253-256.

Cavalcanti UDNT, Baratella-evêncio L, Neto JE, Castro RM, Cardona AS, Melo MLM, Lins RC. 2009. Morphological aspects of the embryonic development of the TMJ in rats (*Rattus norvegicus albinus*) treated with fluoxetine. *Int J Morphol* 27:899-903.

Cotrim P, Andrade CR, Line S, Almeida OP, Coletta RD. 2002. Expression and activity of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in the development of rat first molar tooth germ. *Braz Dent J* 13:97-102.

Gaunt WA. 1967. Quantitative aspects of the developing tooth germ. *J Dent Res* 46: 851-857.

Goracci G, Mori G, Baldi M. 1999. Terminal end of the human odontoblasts process: a study using SEM and confocal microscopy. *Clin Oral Investig* 3:126-132.

Gupta S, Masand PS, Rangwanl S. 1998. Selective serotonin reuptake inhibitors in pregnancy and lactation. *Obstet Gynecol* 52:733-736.

Hendrick V, Altshuler L. 2002. Management of major depression during pregnancy. *Am J Psychiatr* 159:1667-1673.

Hendrick V, Stowe ZN, Altshuler L, Hwang S, Lee E, Haynes D. 2003. Placental passage of antidepressant medications. *Am J Psychiatr* 160:993-996.

Johnson DS, Heinemann SF. 1995. Embryonic expression of the 5-HT₃ receptor subunit 5-HT₃R-A, in the rat: an in situ hybridization study. *Mol Cell Neurosci* 6:122-138.

Kollar EJ, Baird GR. 1969. The influence of the dental papilla on the development of tooth shape in embryonic mouse tooth germs. *J Embryol Exp Morphol* 21:131-148.

Kontur PJ, Leranath C, Redmond DEJR, Roth RH, Robbins RJ. 1993. Tyrosine hydroxylase immunoreactivity and monoamine and metabolite levels in cryopreserved human Fetal ventral mesencephalon. *Exp Neurol* 121:172-180.

Kulin NA, Pastuszak A, Koren G. 1998. Are the new SSRIs safe for pregnant women? *Can Fam Physician* 44:2081-2083.

Lauder JM, Luo X, Persico AM. 2003. Serotonergic regulation of somatosensory cortical development: lessons from genetic mouse models. *Devel Neurosci* 25:173-183.

Lauder JM, Tamir H, Sadler W. 1988. Serotonin and morphogenesis: sites of serotonin uptake and-binding protein immunoreactivity in the midgestation mouse embryo. *Development* 102:709-720.

Lauder JM, Wilkie MB, Wu C, Singh S. 2000. Expression of 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} and 5-HT_{2C} receptors in the mouse embryo. *Int J Dev Neurosci* 18:653-662.

Lauder JM, Zimmerman E. 1988. Sites of serotonin uptake in epithelia of the developing mouse palate, oral cavity and face: possible role in morphogenesis. *J Craniofac Genet Dev Biol* 8:265-276.

Lesot H, Brook AH. 2008. Epithelial histogenesis during tooth development. *Arch Oral Biol* 19:1-9.

Levallois C, Valence C, Baldet P, Prival A. 1997. Morphological and morphometric analysis of serotonin-containing neurons in primary dissociated cultures of human rhombencephalon: a study of development. *Dev Brain Res* 99:243-252.

Magalhães PVS, Pinheiro RT, Faria AD, Osório CM, Silva RA. 2006. Questões críticas para o tratamento farmacológico da depressão pós-parto. *Rev Psiquiatr Clin* 33:245-248.

Michallany, J. 1990. *Técnica histológica em anatomia patológica com Instruções para o Cirurgião, Enfermeira e Citotécnico*. São Paulo: Gráfica e Editora Michallany. 247 p.

Moiseiwitsch JRD, Lauder JM. 1996. Simulation of murine tooth development in organotypic culture by the neurotransmitter serotonin. *Arch Oral Biol* 41:161-165.

Moiseiwitsch JRD, Raymond JR, Tamir H, Lauder JM. 1998. Regulation by serotonin of tooth-germ morphogenesis and gene expression in mouse mandibular explant cultures. *Arch Oral Biol* 43:789-800.

Morrison JL, Riggs KW, Rurak DW. 2005. Fluoxetine during pregnancy: impact on fetal development. *Reprod Fertil Dev* 17:641-650.

Peterková R, Peterka M, Voriot L, Lesot H. 2002. Development of the vestigial tooth trimordia as part of mouse odontogenesis. *Connect Tissue Res* 43: 120-128.

Pinzon RD, Kozlov M, Burch W. 1967. Histology of rat molar pulp at different ages. *J Dent Res* 46:202-208.

Raap DK, Van de Kar LD. 1999. Selective serotonin reuptake inhibitor and neuroendocrine function. *Life Sci* 65:1217-1235.

Reith EJ. 1968. Collagen formation in developing molar teeth of rats. *J Ultrastruct Res* 21:383-414.

Sasaki T, Garant PR. 1996. Structure and organization of odontoblasts. *Anat Rec* 245:235-249.

Silva IHM, Leão JC, Evêncio LB, Porter SR, de Castro RM. 2010. Morphological analysis of the enamel organ in rats treated with fluoxetine. *Clinics* 65:61-66.

Symons NB. 1956. The development of the fibers of the dentine matrix. *Br Dent J* 101:252.

Teccot L, Shtrom S, Julius D. 1995. Expression of a serotonin-gated ion channel in embryonic neural and nonneural tissues. *Mol Cell Neurosci* 6:43-55.

Ten Cate AR. 1978. A fine structural study of coronal and root dentinogenesis in the mouse: observations on the so-called "von Korff fibers" and their contribution to mantle dentine. *J Anat* 125:183-197.

Thesleff I. 1976. Differentiation of odontogenic tissues in organ culture. *Scand J Dent Res* 84: 353-856.

Whitaker-Azmitia PM. 1991. Role of serotonin and other neurotransmitter receptors in brain development: basis for developmental pharmacology. *Pharmacol Rev* 43:553-561.

Wong DT, Bymaster FP, Engleman E. 1995. Prozac (Fluoxetine, Lilly 110140), the first selective serotonin uptake inhibitor and an antidepressant drug: twenty years since its first publication. *Life Sci* 57:411-441.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a análise morfológica e histométrica realizada nos tecidos que formam o complexo dentino-pulpar não foram evidenciadas alterações estruturais significativas no complexo dentino-pulpar de ratos cujas mães foram tratadas com cloridrato de fluoxetina nas concentrações de 10mg/kg ou 20mg/kg de peso animal durante a gestação.

As amostras analisadas apresentaram a mesma cronologia de erupção dos germes dentários, não houve presença de agenesia dentária em nenhum dos animais da amostra e o grau de maturação dos germes dentários seguiu o mesmo padrão descrito na literatura.

Entretanto seria de suma importância que mais estudos fossem elaborados, uma vez que neste ensaio experimental, as ratas gestantes foram tratadas apenas durante gestação, porém na clínica médica, a maioria das gestantes que fazem uso deste fármaco já o utiliza deste antes da gestação. Então, um estudo que analisasse os efeitos deste medicamento antes, durante e após a gestação (pela amamentação) seria viável e de muita utilidade.

Tabela 1. Avaliação do efeito do cloridrato de fluoxetina sobre tecidos dos germes dentários dos animais de 1 dia de vida, comparando os subgrupos C1 (animais do grupo controle com 1 dia de vida), FL1 (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 10 mg/Kg de peso animal com 1 dia de vida) e FX1 (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 20 mg/Kg de peso animal com 1 dia de vida).

Região do Germe Dental	Estrutura Analisada	Grupos Experimentais					
		C1 (n = 6)		FL1 (n = 6)		FX1 (n = 6)	
		Média (mm)	DP	Média (mm)	DP	Média (mm)	DP
Cúspide	Matriz de Dentina	7.560 ± 0.290		8.647 ± 0.365		8.417 ± 0.217	
Terço Médio	Matriz de Dentina	5.151 ± 0.332		4.494 ± 0.191		4.716 ± 0.268	
Cúspide	Odontoblastos	12.637 ± 0.237		9.909 ± 0.300		9.152 ± 0.241	
Terço Médio	Odontoblastos	7.525 ± 0.350		7.395 ± 0.366		7.460 ± 0.334	

* Foi utilizado o Teste Anova Único Fator, seguido pelo Teste de Tuckey, com $p < 0,05$.

Tabela 2. Avaliação do efeito do cloridrato de fluoxetina sobre tecidos dos germes dentários dos animais de 5 dias de vida, comparando os subgrupos C5 (animais do grupo controle com 5 dias de vida), FL5 (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 10 mg/Kg de peso animal com 5 dias e vida) e FX5 (animais do grupo tratado com fluoxetina na dose de 20 mg/Kg de peso animal com 5 dias de vida).

Região do Germe Dental	Estrutura Analisada	Grupos Experimentais					
		C5 (n = 6)		FL5 (n = 6)		FX5 (n = 6)	
		Média (mm)	DP	Média (mm)	DP	Média (mm)	DP
Cúspide	Pré-dentina	6.587 ± 0.380		6.944 ± 0.204		7.073 ± 0.363	
Terço Médio	Pré-dentina	6.944 ± 0.204		5.350 ± 0.294		5.577 ± 0.359	
Terço Cervical	Pré-dentina	3.012 ± 0.392		3.027 ± 0.373		3.052 ± 0.126	
Cúspide	Dentina	14.424 ± 0.320		14.551 ± 0.400		14.425 ± 0.377	
Terço Médio	Dentina	8.622 ± 0.143		8.615 ± 0.321		8.702 ± 0.245	
Terço Cervical	Dentina	3.055 ± 0.337		3.018 ± 0.304		3.079 ± 0.119	
Cúspide	Odontoblastos	12.554 ± 0.336		12.529 ± 0.325		12.546 ± 0.244	
Terço Médio	Odontoblastos	8.542 ± 0.228		8.705 ± 0.368		8.559 ± 0.410	
Terço Cervical	Odontoblastos	6.310 ± 0.306		6.580 ± 0.259		6.001 ± 0.305	

* Foi utilizado o Teste Anova Único Fator, seguido pelo Teste de Tuckey, com $p < 0,05$.

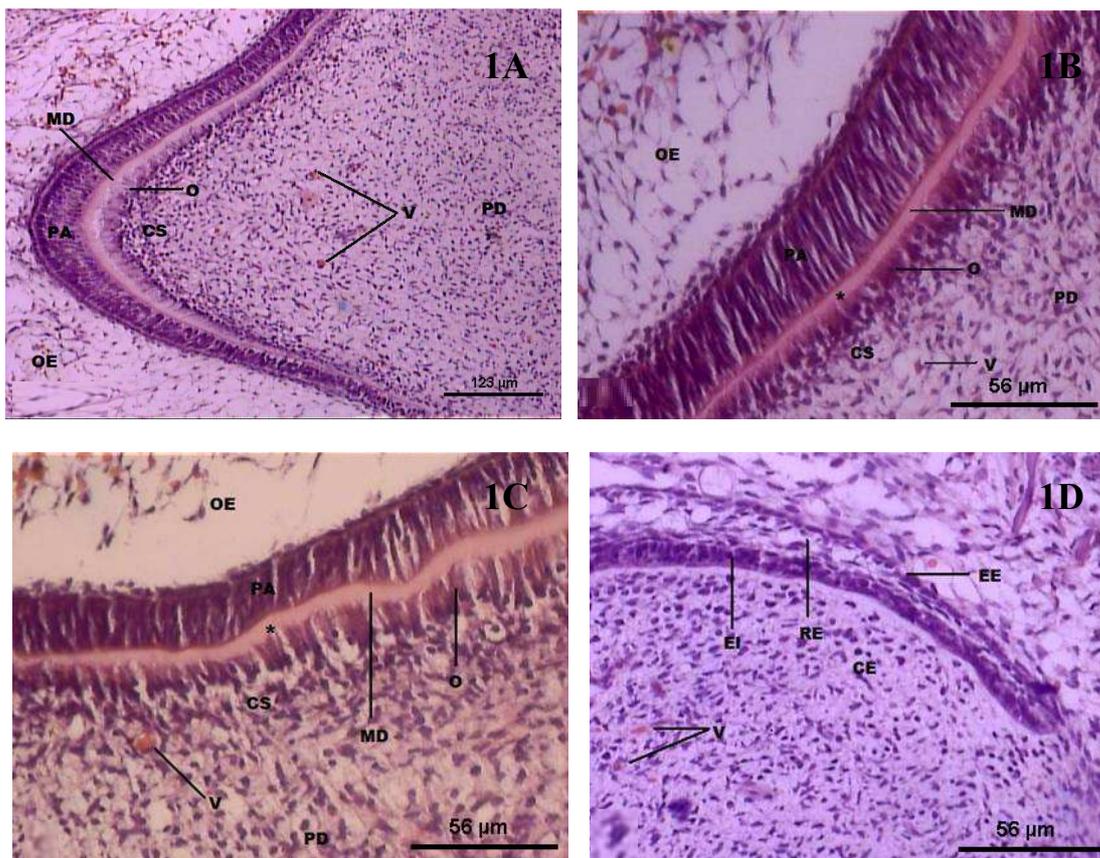


Figura 1. Fotomicrografia de parte do germe dentário de primeiro molar superior de rato com 1 dia de vida. Observa-se em 1A (subgrupo C1), grupamento de odontoblastos (O) na região do equivalente da futura cúspide dental e início de produção de matriz de dentina (MD). Em 1B (subgrupo FL1) e 1C (subgrupo FX1), observa-se área de dentinogênese (*) na região de terço médio da coroa. Em 1D (subgrupo C1), observar que região da alça cervical ainda não está ocorrendo deposição de matriz de dentina (MD). CS, camada sub-odontoblástica. PD, papila dentária. OE, órgão do esmalte. PA, pré-ameloblastos. V, vasos sanguíneos. CE, células ectomesenquimais em diferenciação. EI, epitélio interno do órgão do esmalte. EE, epitélio externo do órgão do esmalte. RE, retículo estrelado. Coloração HE.

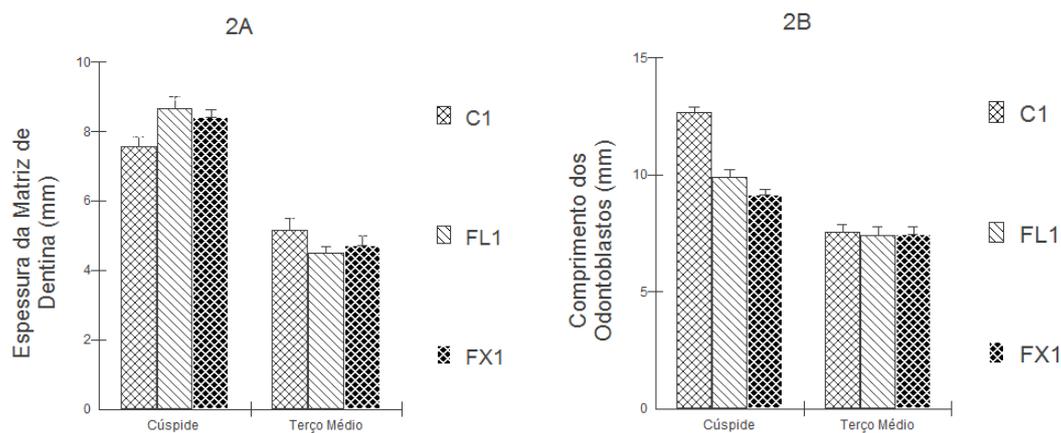


Figura 2. Em 2A observa-se a avaliação do efeito da fluoxetina sobre a espessura (em mm) da Matriz de Dentina depositada na região de futura cúspide dentária e no terço médio da coroa. 2B demonstra a avaliação do efeito da fluoxetina sobre o comprimento (em mm) da camada de odontoblastos na região de futura cúspide dentária e no terço médio da coroa. Animais com 1 dia de vida, comparando os subgrupos C1, FL1 e FX1. Foi utilizado o Teste Anova Único Fator, seguido pelo Teste de Tuckey, com $p < 0,05$.

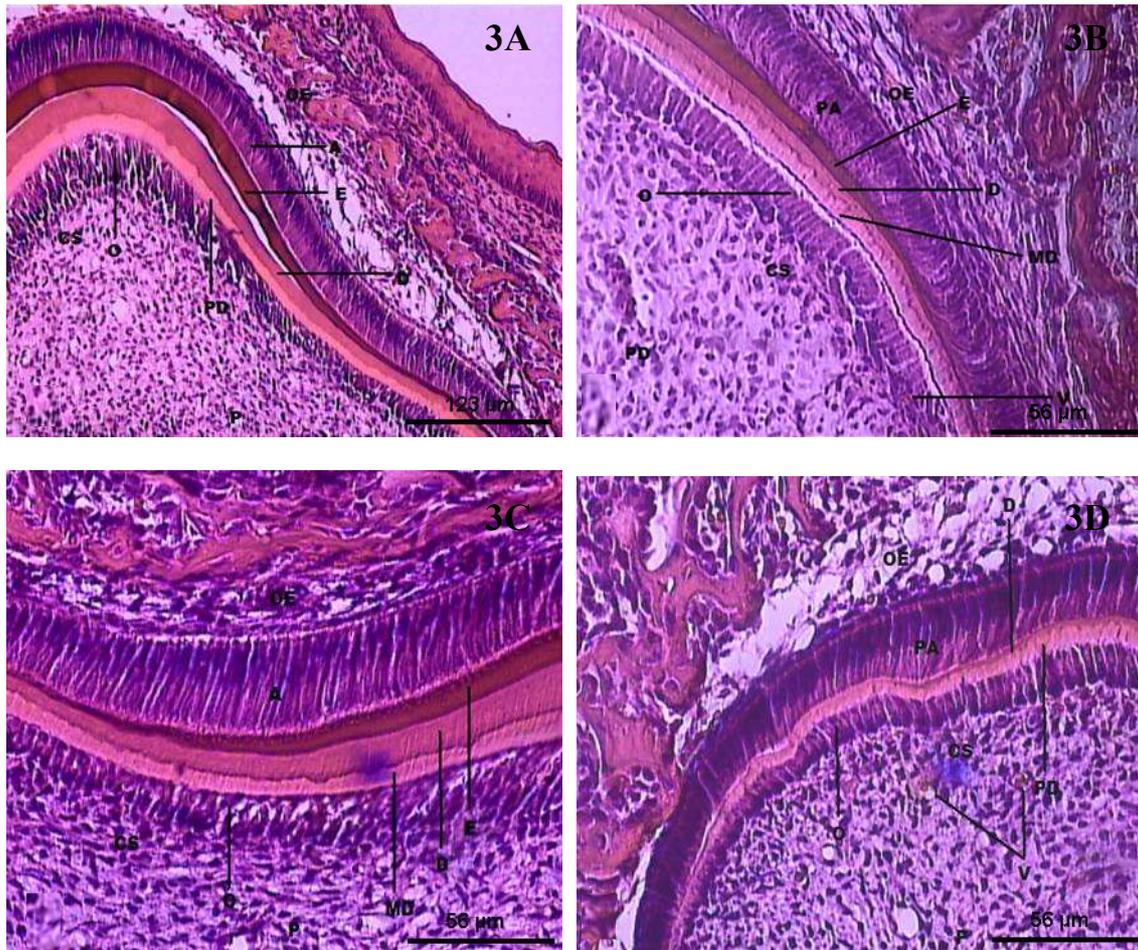


Figura 3. Fotomicrografia de parte do germe dentário de primeiro molar superior de rato com 5 dias de vida. Em 3A (subgrupo FX5), observa-se no terço cuspídeo maior espessura da camada de dentina. Em 3B (subgrupo C5) e 3C (subgrupo FL5), notar que os odontoblastos apresentam um aspecto primástico mais baixo na região de terço médio. Em 3D (subgrupo FL5) observar que na região de alça cervical já apresenta dentina da pré-dentina. OE, órgão do esmalte. A, ameloblastos. E, esmalte. D, dentina. PD, pré-dentina. O, odontoblastos. CS, camada subodontoblástica. P, papila dentária. V, vasos sanguíneos. Coloração HE.

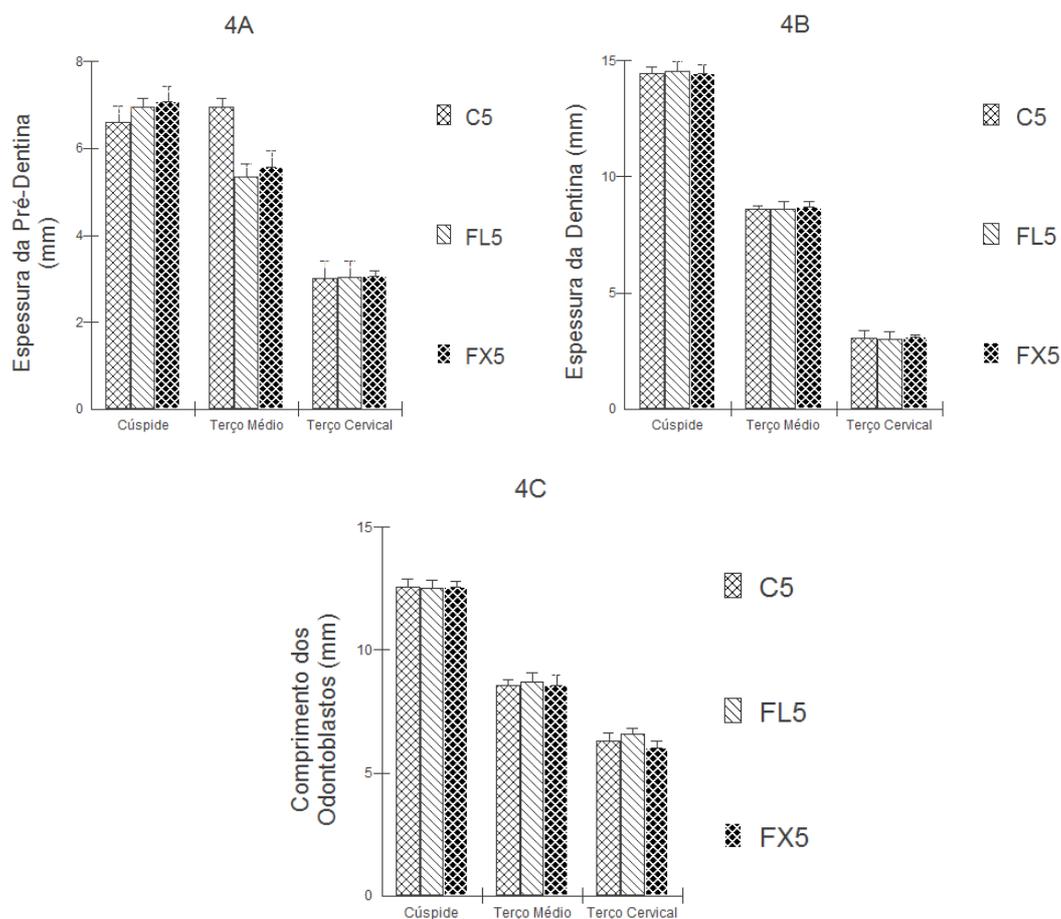


Figura 4. Em 4A e 4B observa-se a avaliação do efeito da fluoxetina sobre a espessura (em mm) da Pré-dentina e Dentina depositadas na região de futura cúspide dentária, no terço médio e no terço cervical da coroa. 4C mostra a avaliação do efeito da fluoxetina sobre o comprimento (em mm) da camada de odontoblastos na região de futura cúspide dentária, no terço médio e no terço cervical da coroa animais com 5 dias de vida, comparando os subgrupos C5, FL5 e FX5. Foi utilizado o Teste Anova Único Fator, seguido pelo Teste de Tuckey, com $p < 0,05$.

ANEXO 1

PARECER DO COMITÊ DE BIOÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Recife, 15 de agosto de 2008

Ofício nº 49/08

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para: **Profa. Liriane Baratella Evêncio**
Departamento de Histologia- CCB
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076. 006899/2008 - 51

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado "**Aspectos morfológicos do desenvolvimento de primeiros molares superiores de ratos (*Rattus norvegicus albinus*) tratados com cloridrato de fluoxetina**".

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,

Maria Teresa Janson

Prof.ª Maria Teresa Janson
Presidente do CEEA

Observação:
Origem dos animais: Biotério do Departamento Nutrição
Animais: Ratos; Wistar; machos ; com 90- 126 dias de vida
Número de animais previsto no protocolo: 64 animais

ANEXO 2

NORMAS DA REVISTA DO ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA

Instruções para os autores

A partir da edição 35(2);2008, a Revista de Psiquiatria Clínica passará a adotar o estilo Vancouver para a inclusão de referências. Veja o item IV das Instruções para os autores para mais detalhes.

A Revista de Psiquiatria Clínica foi fundada em março de 1972 por A. C. Pacheco e Silva, Fernando de O. Bastos, J. Carvalhal Ribas e J. R. de Albuquerque Fortes.

A missão da Revista de Psiquiatria Clínica é fornecer aos profissionais de saúde mental um programa de atualização e educação continuada nas áreas de interesse clínico. Serão também publicados trabalhos de pesquisa básica quando os resultados tiverem potencial implicação para a prática clínica.

Os manuscritos devem ser enviados para o endereço eletrônico: gattaz@usp.br como anexos formatados em Word para Windows, acompanhados de uma carta do autor responsável ao editor, solicitando publicação na Revista de Psiquiatria Clínica. Manuscritos impressos enviados pelo correio não serão devolvidos aos autores. Ao ser recebido, o artigo será encaminhado para o respectivo editor de área e o recebimento será confirmado por e-mail ao autor principal.

Os manuscritos podem ser escritos em Português, Inglês ou Espanhol, sendo os autores responsáveis pela sua verificação gramatical.

Revisão por pareceristas

Todos os artigos publicados são revisados por pelo menos dois pareceristas anônimos. A decisão sobre a aceitação do artigo para publicação ocorrerá, salvo raras exceções, dentro do prazo de até três meses a partir da data de seu recebimento.

A submissão de um manuscrito implica: (a) que o trabalho descrito não tenha sido publicado anteriormente em Língua Portuguesa (exceto na forma de um resumo ou como parte de uma palestra publicada); (b) que não esteja sendo analisado para ser publicado em outro periódico de Língua Portuguesa; (c) que sua publicação tenha sido aprovada por todos os co-autores, se houver, assim como pela instituição onde o trabalho foi realizado; (d) se e quando o manuscrito for aceito para publicação, os autores concordem com a transferência automática dos direitos autorais à Revista de Psiquiatria Clínica.

O direito autoral corresponde aos direitos exclusivos e ilimitados de reproduzir e distribuir os trabalhos aceitos em qualquer forma de publicação (impressa, mídia eletrônica ou outra forma qualquer).

Estrutura dos manuscritos

Os artigos devem ser digitados em espaço duplo, fonte Arial, tamanho 12. Todas as páginas, inclusive a do título, devem ser numeradas.

Artigos Originais

Os artigos originais devem conter até 4.000 palavras e não ultrapassar a soma de seis tabelas e/ou figuras. Recomenda-se restringir em até 30 o número de referências bibliográficas.

I. A **primeira página** deve conter: (a) título do artigo em Português; (b) nome completo dos autores, sem abreviações, e somente a afiliação principal de cada autor; (c) a denominação e o endereço da instituição onde o trabalho foi elaborado; e (d) o endereço do autor para correspondência, incluindo endereço eletrônico (e-mail).

II. Cada trabalho deve incluir um **resumo** de não mais de 200 palavras em Português, seguido de até cinco palavras-chave, e um abstract em Inglês. O *abstract* deve ser seguido do título do trabalho em Inglês e das respectivas *keywords*. Os conteúdos do resumo e do *abstract* devem ser idênticos. O resumo deverá apresentar, muito sucintamente, a essência do trabalho. Deverá ter cinco tópicos, que responderão a cinco questões: **Contexto**: por que você fez o estudo; **Objetivos**: para que você fez o estudo; **Métodos**: como (e se for o caso, em que grupo amostral) você fez o estudo; **Resultados**: o que você encontrou; e **Conclusões**: o que os seus resultados significam. Esses cinco tópicos também devem ser mantidos no abstract: **Background, Objectives, Methods, Results e Discussion**.

III. **Texto principal**: essas cinco perguntas definirão também o conteúdo das diferentes partes do manuscrito, que deverá ser estruturado em: **Introdução** (reunindo os tópicos Contexto e Objetivos), **Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos** (se houver) e **Referências**.

IV. **Referências**. A Revista de Psiquiatria Clínica adota as normas de padrão Vancouver. As referências devem ser citadas no texto por meio de números arábicos consecutivos, que correspondem às respectivas fontes, conforme constam na bibliografia, nesta inseridas por ordem de entrada. Para artigos com até seis autores, todos eles devem ser citados; para artigos com mais de seis autores, os seis primeiros devem ser citados, seguidos de et al. Títulos de periódicos devem ser abreviados de acordo com o Index Medicus. É de total responsabilidade dos autores certificarem-se de que as referências citadas no texto constem da lista de referências, observando-se a exatidão dos nomes de autores, título do artigo, nome do periódico, data e detalhes da publicação. Para a lista de referências bibliográficas deve também ser respeitado o espaço duplo. Os seguintes exemplos devem ser seguidos:

Artigo de revista:

Gattaz WF, Levy R, Cairns N, Maras A. Distúrbios do metabolismo de fosfolípeidos na doença de Alzheimer. J Bras Psiquiatr. 1996; 45:345-9.

Capítulo em livro:

Gattaz WF, Kohlmeyer K, Gasser T. Computed tomographic scans in schizophrenia. In: Häfner H, Gattaz WF, editors. Search for the Causes of Schizophrenia (Berlin): Springer Verlag; 1990. p. 242-56.

Para detalhes adicionais e o formato completo de referências, favor acessar: www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

V. **Tabelas.** Devem ser submetidas em folhas separadas com as respectivas legendas. As tabelas devem ser numeradas consecutivamente, na ordem em que foram citadas no texto, e encabeçadas por um título e legenda apropriados.

VI. **Figuras.** O número e o tamanho das ilustrações devem ser os menores possíveis para esclarecimento do texto. Ilustrações coloridas serão aceitas; todavia, os autores deverão cobrir os custos adicionais de impressão. Todas as figuras tais como fotografias, gráficos ou diagramas, devem ser numeradas consecutivamente, na ordem em que foram citadas no texto, e submetidas em folhas separadas.

VII. As **legendas** das figuras devem vir em folhas separadas e devem permitir uma compreensão clara da figura sem a necessidade de referência ao texto. Cada figura deve ter um título curto, seguido de uma descrição concisa. Todas as abreviaturas e símbolos que aparecem nas figuras devem estar explicados nas legendas. Comentários como "para explicação (ou detalhes), vide texto" devem ser evitados.

VIII. **Fotografias de pacientes.** A Revista de Psiquiatria Clínica não encoraja a publicação de fotografias de pacientes. Quando isso for imprescindível para o entendimento do texto, a fotografia deverá ter uma tarja que não permita a identificação do paciente e mesmo assim deverá vir acompanhada de uma autorização por escrito do paciente e/ou de seus responsáveis legais.

IX. **Separatas** podem ser encomendadas quando o artigo for aceito para publicação.

Outros tipos de artigos

Revisões da Literatura

As revisões devem ser estruturadas em: **Introdução** (contextualização do problema), **Métodos** (estratégia de pesquisa bibliográfica utilizada), **Resultados** (revisão propriamente dita), **Discussão, Conclusão, Agradecimento** (se houver), **Referências** e outras subdivisões a critério dos autores. O manuscrito deve conter até 6.000 palavras, sem ultrapassar a soma de seis tabelas e figuras, e não há limite numérico para as referências bibliográficas, embora seja recomendado incluir apenas o essencial. Assim como os artigos originais, as revisões da literatura devem apresentar um resumo com as principais conclusões sobre o tema, além de *abstract*, *keywords* e título em Inglês.

Relatos de Casos

O objetivo da seção "Casos Clínicos" é abordar novas questões clínicas ou teóricas relevantes para o diagnóstico ou para o manejo clínico de transtornos psiquiátricos. Os artigos submetidos à publicação nessa seção deverão obedecer às normas gerais para todos os artigos da Revista de Psiquiatria Clínica, respeitando-se o limite de 2.000 palavras e até 15 referências bibliográficas. Os trabalhos devem conter: Título e Resumo em Português e Inglês, e devem ser estruturados em: **Introdução, Descrição do Caso Clínico, Discussão e Referências.** A introdução deverá apresentar o problema em questão, com uma breve revisão da literatura sobre os aspectos clínicos e terapêuticos, ou o diagnóstico diferencial em relação ao caso apresentado.

O relato deverá ser sucinto, evitando-se dados redundantes ou irrelevantes para o esclarecimento do problema. Por exemplo, exames de laboratório de rotina sem alterações deverão ser resumidos em poucas palavras ("sem alterações laboratoriais e radiológicas relevantes"). A discussão deverá contrapor dados do caso apresentado (semelhanças e diferenças) com casos da literatura.

Atualização rápida

Consiste em uma breve apresentação de um artigo de impacto, recentemente publicado na literatura nacional ou internacional. Deve ser elaborado por um especialista na respectiva área do conhecimento e deve conter comentários sobre limitações metodológicas, implicações para a prática clínica ou para a pesquisa, em um texto de até 800 palavras e até quatro referências bibliográficas não incluídas na publicação em foco.

Novos Caminhos em Pesquisa

Os artigos publicados neste tópico devem corresponder a revisões breves sobre um tema ou tendência de ponta em pesquisa psiquiátrica, preferencialmente ilustrando os potenciais para uma aplicação clínica futura. Devem ter caráter mais informativo, citando apenas as referências mais relevantes e contemporâneas. Os textos devem ter no máximo 1.500 palavras em espaço duplo, incluindo até 10 referências, título e dados do autor. Não é necessário resumo ou abstract, mas deve ser elaborado o título em Inglês.

Cartas e Pontos de Vista

Cartas e pontos de vista serão avaliados com vistas à publicação, desde que não contenham idéias já submetidas a outras publicações. O texto não deve ultrapassar 1.500 (um mil e quinhentas) palavras ou ter mais de 10 referências e uma tabela ou gráfico. Cartas e pontos de vista que se refiram a artigos não devem ultrapassar seis meses da publicação destes. Toda correspondência recebida por essa seção estará sujeita ao parecer dos Editores.

Vinhetas

Esta seção publica, de maneira sucinta e menos formal, temas de interesse geral para o psiquiatra, abrangendo opiniões clínicas, curiosidades, aforismos e breves relatos, "em primeira pessoa", de pacientes (anônimos) ou de médicos, e discussões sobre assuntos de influência sobre nossa cultura e sociedade. As contribuições devem ser enviadas para a revista (revpsiq@usp.br), com no máximo 2 páginas, em formato Word, fonte tamanho 12 e espaçamento duplo.

X. **Resolução 1.595 do Conselho Federal de Medicina** de 18/5/2000: é obrigatório que os autores de "artigos divulgando ou promovendo produtos farmacêuticos ou equipamentos para uso em Medicina declarem os agentes financeiros que patrocinaram suas pesquisas".

Nota: A Revista de Psiquiatria Clínica exige rigor quanto à adequação das versões em Inglês do Resumo (Abstract) e do título dos manuscritos aceitos para publicação. Caso o autor não tenha o suficiente domínio do idioma, ele poderá solicitar a tradução para o Inglês, realizada por meio de serviço prestado pela equipe editorial, com o custo de R\$ 10,00 (dez reais) a linha. No caso dos manuscritos aceitos para publicação, mas que necessitem de extensa reformulação do conteúdo em Inglês, os autores deverão arcar com os custos de tradução como condição para que o trabalho seja publicado.

ANEXO 3

COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA

Mensagem original

De: revpsiq@usp.br

Para: liriane@uol.com.br

Assunto: ms recebido

Enviada: 27/07/2010 13:42

Revista de Psiquiatria Clínica

Il.ma Sra.

Dra. Liriane Evencio

Prezada Dra. Evêncio,

obrigado pela submissão do manuscrito:

Efeitos da utilização do cloridrato de fluoxetina sobre o desenvolvimento de tecidos mineralizados: revisão sistemática

O trabalho será enviado a pareceristas e em breve lhe comunicarei a decisão editorial.

Com os cumprimentos cordiais,

Prof. Dr. Wagner F. Gattaz
Editor-Chefe

ANEXO 3

NORMAS DA REVISTA DO ARTIGO ORIGINAL

DIRETRIZES PARA AUTORES

O *Journal of Morphology* congratula-se com os manuscritos de todas as áreas da morfologia animal. A revista publica artigos originais e artigos de revisão.

Submissão

A partir de 01 de julho de 2008, o *Journal of Morphology* usará um novo sistema de submissão on-line para receber, analisar e aceitar os manuscritos para publicação. Este novo recurso para *Journal of Morphology* permite que os autores apresentem seus manuscritos online para agilizar o processo de revisão por pares. Os autores também têm a capacidade de verificar o status de seus manuscritos durante o processo de revisão por pares.

Para submeter um manuscrito, por favor, usar a homepage do *Journal of Morphology* (<http://www.wileyinterscience.com/jmor>). Lá você encontrará um link "Inscrição Online". Usando esse link, o autor correspondente será instruído a criar uma conta de usuário. Uma vez que a conta for criada, os manuscritos devem ser submetidos através do "Centro de Autor". Siga todas as instruções e preencha todos os campos necessários. Envie seu manuscrito e todas as figuras e tabelas em arquivos separados. Depois que o manuscrito foi submetido com sucesso, os autores verão uma tela de confirmação com o número de manuscritos e receber uma resposta de e-mail da redação do *Journal of Morphology* confirmando o recebimento do manuscrito. Se isso não acontecer, verifique a sua apresentação e/ou contato com o escritório editorial da jmorph@wiley.com.

IMPORTANTE: texto, figuras e tabelas devem ser apresentadas em arquivos separados para assegurar que a apresentação seja bem sucedida.

Para evitar possíveis atrasos no processamento de sua apresentação, os arquivos devem ser enviados nos seguintes formatos

- One. doc arquivo com textos e citações
- Cada figura em um arquivo separado. tif ou. formato eps
- Tabelas querem tudo em um. doc , ou em separado. doc arquivos

Consulte a seção diversa deste documento para as restrições de formato/orientações.

Não enviar cópias em papel – e- mail do seu manuscrito para o Editor. Certifique-se de manter uma cópia eletrônica que seja idêntica à versão que você enviou online. Se você tiver alguma dúvida sobre o processo de submissão, por favor, enviar e-mail da redação na jmorph@wiley.com.

Atenção: Este post não aceita os documentos do Microsoft Word 2007 neste momento. Por favor, use "Salvar como Word" opção para salvar o documento como um velho (. doc) o tipo de arquivo.

Os manuscritos devem ser submetidos em Inglês (estilo americano), e devem ser em espaço duplo com fonte não inferior a 12 cpi e margens de 3 cm por toda parte. As páginas devem ser numeradas consecutivamente a partir do título até as referências. A paginação deverá iniciar começando com a página título, colocando o sobrenome do primeiro autor e o número da página no canto superior direito de cada página.

Revista Cover Obra. Juntamente com o manuscrito, os autores são bem-vindos a apresentar uma fotografia original ou outros trabalhos artísticos que ilustra suas pesquisas para possível uso na capa da edição em que o artigo aparece. Esta obra é apresentada com o entendimento de que não tenha sido publicado anteriormente, que o autor tem direitos de autor, e que o autor concede autorização Wiley- Liss para publicar a fotografia como uma imagem da capa, caso sejam escolhidas as imagens de candidatos para o jornal podem ser submetidos eletronicamente como arquivos TIF.

Preparação do manuscrito. Os manuscritos devem ser divididos em divisões mais importantes, dada a seguir na ordem indicada.

Página de título. A primeira página do manuscrito deverá constar o título completo do trabalho, os nomes dos autores e suas filiações; um título curto (não mais de 40 caracteres, incluindo espaços), e nome, endereço postal, endereço de e-mail e número de telefone da pessoa a quem a correspondência editorial, as provas de página e pedidos de separatas deve ser enviada.

Abstrato. O resumo deve ser uma condensação factual de todo o trabalho, incluindo uma declaração de sua finalidade, uma declaração sucinta de projeto de pesquisa, uma descrição clara dos resultados mais importantes, e uma apresentação concisa de conclusões. Os resumos não devem ultrapassar 300 palavras. Três a seis palavras-chave para uso na indexação devem ser listadas logo abaixo do resumo.

Texto. O corpo de Investigação. Os artigos devem ser organizados nas seguintes seções: Resumo, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Agradecimentos. A seção de Métodos deve incluir a data e local do estudo. A seção de Métodos deve incluir também uma declaração de que o cumprimento de protocolos de pesquisa aprovados pelo comitê de cuidados institucionais adequados com animais e respeitados os requisitos legais do país em que a pesquisa foi conduzida. A seção Resultados deve incluir os valores essenciais de todos os testes estatísticos citados para apoiar declarações relativas a resultados, além de resumir dados de chaves usando tabelas e figuras, sempre que possível. As medições devem ser apresentadas em unidades métricas e abreviadas, de acordo com o Instituto Americano de Ciências Biológicas Style Manual for Biological Journals. Artigos de Revisão poderão desviar-se deste estilo de organização, mas deve incluir um Resumo, Introdução, Discussão e Agradecimentos.

Referências. Estilos Wiley 's Journal estão agora em EndNote. EndNote é um software que recomendamos aos autores a nossa revista para ajudar a simplificar e agilizar o processo de investigação. Usando ferramentas de gestão bibliográfica EndNote, você pode pesquisar bases de dados bibliográficas, construir e organizar sua coleção de referência, e então imediatamente a saída de sua bibliografia em qualquer estilo revista Wiley. Para baixar o estilo de referência para este jornal, ou para adquirir uma cópia do EndNote, vá para o seguinte URL: www.interscience.wiley.com/jendnotes.

No texto, as referências devem ser citadas consecutivamente com o sobrenome do autor e ano da publicação entre parênteses. A lista de referências deve ser disposta em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor. Abreviaturas de títulos de periódicos devem seguir as utilizadas no Index Medicus.

Os artigos: King VM, DM Armstrong, R Apps, JR Trott. 1998. Aspectos numéricos do pontine, reticular lateral, inferior e com duas projeções olivar paravermal zonas corticais do gato cerebelo. *J Neurol Comp* 390:537-551.

Livros e Monografias: Voet D, JG Voet. 1990. *Bioquímica*. New York: John Wiley & Sons. 1223 p.

Dissertações: RE Ritzmann. 1974. O mecanismo de rotura de Alpheid camarão [dissertação]. Charlottesville (VA): University of Virginia. 59 p. Disponível em: Universidade Microfilmes, Ann Arbor, MI; AAD74 -23.

Capítulos de Livros: Gilmor ML, ST Rouse, CJ Heilman, NR Nash, AI Levey. 1998. Receptores proteicos de fusão e análise. In: Ariano MA, editor. *Localização do receptor*. New York: Wiley- Liss. p 75-90.

Tabelas. As tabelas devem ser intituladas e numeradas de acordo com a ordem de sua aparência, cada tabela deve ser colocada em uma página separada. Todas as tabelas devem ser citadas no texto com o posicionamento aproximado claramente definido.

As legendas. A legenda descritiva deve ser fornecida para cada figura e deve definir todas as abreviaturas utilizadas nele.

Figuras e ilustrações. Cada figura deve ser de alto contraste em uma página separada com o número da figura claramente indicado. Todos os valores de cor serão reproduzidos em cores na Edição **online** da revista, sem nenhum custo para os autores. Para a versão impressa de figuras em cores são livres, a critério dos editores. Apenas os valores em que a cor é necessária para comunicar informações são elegíveis para impressão livre. Os autores desejam ter outras figuras impressas em cores que são obrigados a pagar o custo de reprodução de figuras em cores na impressão.

Diverso

O Editor e Publisher reservaram o direito de retornar ao autor para revisão manuscritos e ilustrações que não estão na forma final adequada.

Depois de um manuscrito submetido para publicação tem sido aceite na sequência da revisão, o autor será convidado a assinar um acordo de transferência de direitos autorais transferência de direitos ao editor, que reserva de direitos autorais.

Provas. Um conjunto de páginas e ilustrações provas será enviado ao autor por e-mail do editor. Todas as correções devem ser claramente marcadas.

Reimpressões. Reproduções podem ser compradas em preços cotados no formulário de pedido de reimpressão. Reprint ordens devem ser devolvidos com as provas. É importante para a ordem inicialmente uma quantidade suficiente de reimpressões, já que o preço é substancialmente maior se eles estão ordenados depois que o papel tenha sido publicado. Reproduções de anúncios e resenhas de livros estão disponíveis através do regime especial somente.

Informações de Suporte. Os autores são encorajados a apresentar informação de apoio que poderiam ajudar os leitores a compreender os resultados dos autores e, quando necessário para garantir que os limites da página são cumpridos. Informação de apoio para os artigos publicados no Journal of Morphology estará disponível na versão online da revista. Esta informação de acompanhamento pode incluir (mas não está limitado a) figuras, tabelas, vídeos, grandes seções de filmes (QuickTime ou MPEG), conjuntos de dados, código de programa, arquivos eletrônicos e gráficos. Informação de apoio deve ser apresentada no momento da revisão pelos pares, embora os revisores e editores também possam sugerir que os dados ou tabela(s) serem fornecidos como informação de apoio durante o processo de revisão. Cada pedaço de informação de apoio deve ser referenciado no texto. Informação de apoio deve ser numerada em ordem, mas, independentemente dos dados constantes do artigo principal, por exemplo, S- Figura 1 indica uma figura que se segue uma figura no texto principal. Por favor, note que as informações de apoio não são editadas pela editora após a aceitação final dos editores, e foi colocada online no formato em que é fornecido.

Orientações complementares para a apresentação eletrônica, através do Website submissão

Texto: Os arquivos de texto, incluindo tabelas, anexos e citações de literatura, devem estar em formato Microsoft Word ou rtf.

Figuras e ilustrações: Software e formato. O formato recomendado para todos os arquivos de ilustração é TIFF ou TIF. JPG e no formato JPEG, não serão aceitos. EPS (com preview) é aceitável, mas não é recomendado. Não submeta formatos aplicativo nativo.

Resolução. Jornal reprodução qualidade exigirá arquivos em tons de cinza e cores com resoluções rendendo cerca de 300 ppi. Bitmapped arte de linha deve ser apresentado em resoluções rendendo 600-1200 ppi. Essas resoluções referem-se ao tamanho de saída do arquivo, se você antecipa que suas imagens serão ampliadas ou reduzidas, as resoluções devem ser ajustadas em conformidade. **Os nomes de arquivo.** Ilustração arquivos deve ser dada a duas - ou três letras extensão que identifica o formato de arquivo usado (ie. tif. eps).

ANEXO 5

COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO ORIGINAL

 Journal of Morphology

[Edit Account](#) | [Instructions & Forms](#) | [Log Out](#) | [Get Help Now](#)

SCHOLARONE™
Manuscripts

[Main Menu](#) → [Authoring Dashboard](#) → [Submission Confirmation](#)

You are logged in as LIRIANE BARATELLA-EVÊNCIO

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Journal of Morphology*.

Manuscript ID: JMOR-10-0230

Title: INFLUENCE OF FLUOXETINE ON DENTINOGENESIS IN ALBINO RATS

Authors: BARATELLA-EVÊNCIO, LIRIANE

Date Submitted: 18-Oct-2010

 Print  Return to Dashboard

ScholarOne Manuscripts™ v4.4.0 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2010. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc. Follow ScholarOne on Twitter

[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)