**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU**

ANA CAROLINA CUZZUOL FRACALOSSI

**Análise da movimentação dentária induzida em ratos:
*influência do alendronato nas reabsorções dentárias, estudo
comparativo em cortes transversais e longitudinais e avaliação
microscópica em diferentes períodos de observação***

**BAURU
2007**

ANA CAROLINA CUZZUOL FRACALOSSI

Análise da movimentação dentária induzida em ratos:
influência do alendronato nas reabsorções dentárias, estudo comparativo em cortes transversais e longitudinais e avaliação microscópica em diferentes períodos de observação

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Patologia Bucal

Orientador: Prof. Dr. Alberto Consolaro

BAURU
2007

Ficha Técnica:

Ana Carolina Cuzzuol Fracalossi: execução, análise microscópica, texto, ilustração e formatação.

Alberto Consolaro: concepção, orientação, texto, fotomicrografia e revisão final.

Maria Fernanda Martins-Ortiz Consolaro: auxílio na parte experimental, laboratorial e na revisão dos textos.

Milton Santamaria Júnior: auxílio na análise microscópica, elaboração e revisão dos textos.

Fátima Aparecida Silveira: apoio técnico-laboratorial.

Valdir João Afonso: revisão ortográfica e vernacular.

Maria Cristina Felipe Carrara: apoio técnico-administrativo.

José Roberto Pereira Lauris: análise estatística.

Marcus e Ana Amélia Thame: serviços de cópias e encadernação.

Fracalossi, Ana Carolina Cuzzuol

F841a Análise da movimentação dentária induzida em ratos: influência do alendronato nas reabsorções dentárias, estudo comparativo em cortes transversais e longitudinais e avaliação microscópica em diferentes períodos de observação / Ana Carolina Cuzzuol Fracalossi. – Bauru, 2007.
169. : il.: 30cm.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru.
Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Consolaro

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP

Protocolo nº: 03/2005

Data: 28 de março de 2005

A cópia do parecer de aprovação encontra-se no capítulo “Anexo”

Ana Carolina Cuzzuol Fracalossi

23 de agosto de 1979
João Neiva – ES

Nascimento

Ana Maria Cuzzuol Fracalossi
Edilson Caniçali Fracalossi

Filiação

1999-2004

Graduação em Odontologia –
Universidade Federal do Espírito
Santo (UFES)

2005-2007

Programa de Pós-Graduação de
Mestrado em Odontologia,
Patologia Bucal, na Faculdade de
Odontologia de Bauru –
Universidade de São Paulo

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Ana Maria e Edilson, pelo exemplo de caráter e honestidade, ao meu irmão, Edilson Júnior, pelo exemplo de luta e ao meu querido Diego, pelo amor, confiança e cumplicidade.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador Alberto Consolaro, pela amizade, confiança e oportunidade em realizar este trabalho. Por mais que expresse, minhas palavras não seriam capazes de traduzir a gratidão e o respeito que tenho pela sua pessoa. Pela enorme contribuição à minha formação profissional e incentivo ao longo deste período.

À Maria Fernanda Martins-Ortiz Consolaro, pela colaboração e ajuda indispensáveis nesta pesquisa. Suas contribuições na elaboração do projeto e na fase experimental foram de fundamental importância para o andamento deste trabalho. Serei sempre grata pelos seus ensinamentos e sua dedicação.

AGRADECIMENTOS PESSOAIS

A Deus pela sabedoria e força em todos os momentos de minha vida. Por iluminar e guiar o meu caminho e me presentear com uma família maravilhosa.

Aos meus queridos pais, Ana Maria e Edilson, pelo amor e educação; ao meu irmão, Edilson Júnior, pelo apoio e compreensão em todos os momentos de minha vida.

Ao meu Diego pela presença marcante no meu dia-a-dia. Por me compreender com carinho e respeito ao longo desta jornada. Não existem palavras que descrevam o que você representa para mim. Amo muito você!

Aos meus tios, em especial à tia Maria do Carmo e ao tio João Carlos por torcerem por meu crescimento e estarem, mesmo que à distância, presentes na minha vida.

Aos meus primos, adoro todos vocês!!!

Aos meus avós, Genair e Carolina, pelo exemplo de vida e luta. À minha avó Carmen e ao meu avô João (in memoriam) pela contribuição na minha educação e por serem os meus segundos pais. Serei eternamente grata a vocês. Espero reencontrá-los um dia...

Ao Bruno e Cássio pelo bom convívio e ao Eudo e Fátima, por me considerarem como filha. Agradeço o carinho e a atenção de vocês para com a minha pessoa.

À minha querida Fatiminha, pela amizade, cumplicidade e exemplo de mulher. Agradeço a ajuda na fase laboratorial deste trabalho e ao carinho compartilhado neste período.

Ao meu amigo Milton Santamaria Júnior, pela disponibilidade e pelo exemplo de pessoa e profissional. Posso dizer que levo um pouco da sua experiência e do seu jeito “Milton de ser”. Seu incentivo e contribuição científica foram extremamente importantes para a finalização deste trabalho. Espero tê-lo sempre como parceiro nas pesquisas. Sobretudo, gostaria de agradecer à Aline pela compreensão e pela força direcionada ao Milton, que de maneira indireta refletiu no bom andamento deste trabalho.

Aos professores da Disciplina de Patologia: Denise Tostes Oliveira, Vanessa Soares Lara e Luís Antônio de Assis Taveira pela disponibilidade e apoio sempre que precisei. Em especial ao Prof. Luís, que sempre me ajudou e se mostrou companheiro ao longo da minha jornada.

*Aos funcionários e amigos da Patologia: Cristina e Valdir pelo afeto e bom convívio. Vocês dois são especiais!!!
Senhor Val., obrigada pelas correções ortográficas.
À Tânia Grão Velloso, pelo incentivo no início do mestrado.
Ao Oziel, Rodrigo e Marilza pela presteza e ajuda em todos os momentos.*

*À Universidade Federal do Espírito Santo, em nome dos meus professores da graduação: Rosana de Souza Pereira, Nevelton Heringer, Liliana Aparecida Pimenta de Barros e Rosa Maria Lourenço Carlos Maia.
Especialmente aos meus queridos professores Francisco Carlos Ribeiro, Armelindo Roldi e Rogério Albuquerque Azeredo pelo incentivo à pesquisa.*

Aos meus colegas e amigos do curso de Pós-graduação: Carlos, Janaína, Simone, Érika, Rosário, Tiago, Erick, Karen, Melaine, Breno, Leandro, Márcia, Fernando, Sylvie, Patrícia, Suzana, Marta, Leda, Gisele, Roberta e Michele que me acompanharam neste período e que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho. O aprendizado da convivência em grupo, apesar da heterogeneidade, contribuiu para o meu crescimento!

À minha querida amiga Érika Martins Pereira, pela cumplicidade, afeto e carinho. Vou tê-la sempre em meu coração!

À Renata Consolaro, pela disponibilidade e ajuda em todos os momentos em que precisei. Sua amizade e apoio, principalmente no meu primeiro ano em Bauru, foram importantíssimos para minha adaptação no início desta jornada.

Aos meus amigos: Ludmila, Manuela, Juliana, Cássio, Beatriz, Fernando, Rodrigo, Aline, Laércio, Bruno, Melina, Marina, Tiago e aos demais colegas, professores e funcionários da Ortodontia do centrinho, pela ótima convivência e acolhida.

Ao Doutor Décio Rodrigues Martins, pela dedicação e carinho na revisão dos meus textos.

Aos professores e funcionários da Disciplina de Histologia/Embriologia, em especial ao professor Gerson Francisco de Assis e a Tânia Mary Cestari, pela contribuição na metodologia utilizada nesta pesquisa.

Ao Professor José Roberto Pereira Lauris, pela ajuda na análise estatística deste trabalho.

Ao André da Microbiologia, pela disponibilidade e empenho para autoclavar a maravalha no período experimental deste trabalho.

Ao Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru, em nome do senhor Luiz Carlos da Silva e Erasmo Gonçalves da Silva, pela ajuda, apoio e orientação quanto ao manuseio e cuidado com os animais.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa de mestrado recebida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio ao programa de Pós-graduação.

Ao Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia de Bauru, especificamente à área de Patologia.

À Disciplina de Histologia/Embriologia.

À Direção da Faculdade de Odontologia de Bauru e à Comissão de Pós-Graduação.

À Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

"Quando você quer alguma coisa, todo o Universo
conspira para que você realize o seu desejo"

Paulo Coelho

O Velho e a Flor

Por céus e mares eu andei,
Vi um poeta e vi um rei
Na esperança de saber
O que é o amor.

Ninguém sabia me dizer,
Eu já queria até morrer
Quando um velhinho
Com uma flor assim falou:

O amor é o carinho,
É o espinho que não se vê em cada flor.
É a vida quando
Chega sangrando aberta em pétalas de amor.

Toquinho - Vinícius de Moraes

RESUMO

A movimentação dentária induzida em ratos representa um bom modelo para estudar a aposição e reabsorção óssea induzidas na normalidade e nas doenças ósseas metabólicas, bem como nas avaliações quanto aos efeitos de medicamentos. Desta maneira, no primeiro capítulo estudaremos a influência do alendronato no percentual de reabsorções radiculares durante a movimentação dentária induzida, utilizando o modelo experimental em ratos em cortes transversais. O alendronato é um tipo de bisfosfonato, uma classe de drogas amplamente utilizada na medicina, no controle da osteopenia, prevenindo a osteoporose humana e na prevenção das fraturas em osteoporose pós-menopausal. O modelo experimental empregado nos trabalhos é o movimento de inclinação mesial do primeiro molar superior. Variações metodológicas são observadas neste modelo experimental em ratos, quanto aos períodos de movimentação e aos cortes empregados para a análise microscópica. Desta maneira, no segundo capítulo compararemos o percentual e a frequência das reabsorções radiculares em cortes transversais e longitudinais, e sugeriremos o plano de corte ideal para o estudo da movimentação dentária induzida em ratos. A biologia da movimentação dentária induzida modifica-se por uma série de condicionantes, por exemplo, por diferentes períodos de observação e por planos dos cortes microscópicos. Desta maneira, no terceiro capítulo avaliaremos os fenômenos teciduais e celulares da movimentação dentária induzida nos períodos de três, cinco, sete e nove dias de observação e nos planos dos cortes microscópicos transversais e longitudinais.

Palavras-chave: Movimentação dentária induzida. Reabsorção radicular. Reabsorção óssea. Bisfosfonatos.

ABSTRACT

Analysis of induced tooth movement in rats:

Influence of alendronate on root resorptions, comparative studies on transverse and longitudinal sections and microscopic evaluation at different study periods

Induced tooth movement in rats is a good model to investigate the induction of bone resorption and apposition in normality and in metabolic bone diseases, as well as to evaluate the effects of drugs. Thus, the first chapter addresses the influence of alendronate on the percentage of root resorptions during induced tooth movement, using the experimental model of rats on transverse sections. Alendronate is a type of bisphosphonate, a class of drugs widely used in Medicine for osteopenia control, human osteoporosis prevention, as well as for fracture prevention in postmenopausal osteoporosis. Investigations employ the experimental model of mesial inclination of the maxillary first molar. Methodological variations are observed in this experimental model in rats concerning the periods of tooth movement and sections employed for microscopic analysis. Thus, on the second chapter, the percentage and frequency of root resorptions on transverse and longitudinal sections are compared, and the ideal direction of section for investigation of induced tooth movement in rats is suggested. The biology of induced tooth movement is changed by several factors, e.g. the different study periods and directions of microscopic sections. For this reason, the third chapter comprises evaluation of tissue and cellular phenomena of induced tooth movement at study periods of three, five, seven and nine days, on transverse and longitudinal sections.

Keywords: Induced tooth movement. Root resorption. Bone resorption. Bisphosphonates.

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo I

- Figura 1** Dispositivo ortodôntico instalado para a inclinação mesial do primeiro molar superior esquerdo, ancorado nos incisivos superiores, dependendo uma força de 75cN. 73
- Figura 2** Corte transversal da maxila do rato no terço cervical das raízes do primeiro molar superior esquerdo. No destaque estão as raízes do dente movimentado: a mesiovestibular (MV), intermediária (INT), distovestibular (DV), mesiolingual (ML) e distolingual (DL). Notam-se os diferentes volumes das raízes do primeiro molar (Imagem obtida de uma lâmina escaneada). 75
- Figura 3** Delimitação das áreas hialinas do ligamento periodontal e das áreas de reabsorção radicular. (A) Área total do ligamento periodontal limitada externamente por uma linha verde e internamente por uma linha azul clara. (B) Área hialina do ligamento periodontal delimitada por uma linha vermelha. (C) Área de dentina e cimento da raiz representada por toda a região delimitada externamente por uma linha contínua azul clara e por uma linha pontilhada azul escura e no perímetro mais interno da raiz, circunscrevendo a polpa, por uma segunda linha contínua azul. (D) Áreas de reabsorção radicular (*), no lado de pressão do ligamento periodontal, delimitadas internamente por uma linha contínua azul clara e externamente por uma linha pontilhada azul escura. 77
- Figura 4** Exemplo de clasto em apoptose próximo ao vaso congesto, encontrado em alguns animais do grupo experimental. Notam-se condensação da cromatina e perda da polarização nuclear. 79

Capítulo II

- Figura 1** Dispositivo ortodôntico instalado para a inclinação mesial do primeiro molar superior esquerdo, ancorado nos incisivos superiores, dependendo uma força de 75cN. 105
- Figura 2** (A) Área de dentina e cimento da raiz representada por toda a região delimitada externamente por uma linha contínua azul clara e por uma linha pontilhada azul escura e no perímetro mais interno da raiz, circunscrevendo a polpa, por uma segunda linha contínua azul. (B) Áreas de reabsorção radicular (*), no lado de pressão do ligamento periodontal, delimitadas internamente por uma linha contínua azul clara e externamente por uma linha pontilhada azul escura..... 105

Figura 3	Raízes mesiovestibular (à direita) e distovestibular (à esquerda) em corte longitudinal do primeiro molar superior com três dias de movimentação dentária induzida. O ponto A é o limite mesial do contorno externo da raiz mesiovestibular e localiza-se na altura da crista óssea mesial. O ponto B é o limite distal do contorno externo da raiz distovestibular e localiza-se na altura da crista óssea distal. A reta pontilhada separa as duas raízes e localiza-se paralela à reta que liga os pontos E e F . O ponto C localiza-se imediatamente abaixo da polpa e é coincidente com a reta pontilhada. O ponto D localiza-se na altura da crista óssea distal, na parede mesial da raiz distovestibular. O ponto E representa o ponto médio localizado entre os pontos B e D . O ponto F representa o ponto mais apical da raiz distovestibular.	107
Figura 4	(A) Limite superior do contorno externo da raiz distovestibular representado pela reta (verde) que uni o ponto B ao ponto C . Área de dentina e cimento da raiz representada por toda a região delimitada externamente por uma linha contínua azul clara e por uma linha pontilhada azul escura e no perímetro mais interno da raiz, circunscrevendo a polpa, por uma segunda linha contínua azul. A seta indica a área de reabsorção radicular. (B) Área de reabsorção radicular (*), no lado de pressão do ligamento periodontal, delimitada internamente por uma linha contínua azul clara e externamente por uma linha pontilhada azul escura.	109
Figura 5	(A) Linhas vermelhas pontilhadas ilustrando a direção dos cortes transversais no terço cervical da raiz do primeiro molar superior. (B) Linhas vermelhas pontilhadas ilustrando a direção dos cortes longitudinais no longo eixo das raízes mesiovestibular (MV) e distovestibular (DV) do primeiro molar superior.	111
Figura 6	(A) Corte transversal da maxila do rato no terço cervical das raízes do primeiro molar superior esquerdo. (B) Raízes mesiovestibular (MV), intermediária (INT), distovestibular (DV), mesiolingual (ML) e distolingual (DL). Notam-se as diferentes formas e volumes das raízes do primeiro molar.	113

Capítulo III

Figura 1	(A) Esquema de corte transversal das raízes do primeiro molar superior esquerdo. (B) Dispositivo ortodôntico instalado para a inclinação mesial do primeiro molar superior esquerdo, ancorado nos incisivos superiores, despendendo uma força de 75cN. Observa-se a direção da força (seta); (1°, 2° e 3°: primeiro, segundo e terceiro molares superiores); (I: incisivo).	139
-----------------	--	-----

Figura 2	Corte transversal do primeiro molar superior com cinco dias de movimentação dentária induzida. Observa-se a raiz mesiovestibular (MV), a mesiolingual (ML), a intermediária vestibular (INT), a distovestibular (DV) e a distolingual (DL). Nota-se que as raízes mesiais são mais volumosas que as distais. Observa-se a direção da força (seta), cortical óssea vestibular e cortical óssea lingual. (MB: mucosa bucal; TO: trabeculado ósseo).	139
Figura 3	Corte longitudinal do primeiro molar superior com cinco dias de movimentação dentária induzida. Observa-se a raiz mesiovestibular (MV) e a distovestibular (DV). Nota-se o formato de clava da raiz mesiovestibular e a exuberante espessura do cimento (C) no terço apical. Observa-se a direção da força (seta). (P: polpa; D: dentina; LP: ligamento periodontal; MB: mucosa bucal; COM: crista óssea mesial; COD: crista óssea distal; SI: septo inter-radicular).	141
Figura 4	Corte transversal de raiz intermediária do primeiro molar superior com três dias de movimentação dentária induzida. (A) Nota-se a direção da força (seta vermelha). (A) e (B) Área hialina (H) no lado de pressão da raiz intermediária (setas amarelas). (P: polpa; D: dentina, C: cimento; LP: ligamento periodontal).	141
Figura 5	Células clásticas multinucleadas (setas) em (A) com nove núcleos aparentes e em (B) com seis núcleos aparentes. As células clásticas apresentam-se próximas a vasos sanguíneos (V).	143
Figura 6	Corte transversal de raiz mesiovestibular do primeiro molar superior com três dias de movimentação dentária induzida. Nota-se reabsorção óssea frontal no lado de pressão da raiz (setas). (P: polpa; D: dentina; C: cimento; LP: ligamento periodontal).	143
Figura 7	Cortes transversais de raízes intermediárias (lado de pressão) do primeiro molar superior (A) com cinco dias de movimentação dentária induzida e (B) com sete dias de movimentação dentária induzida. (A) Notam-se inúmeras células clásticas nos espaços medulares do osso alveolar (elipse). (B) Observam-se células clásticas multinucleadas nas lacunas de Howship na superfície do osso alveolar (elipse), periférica às áreas hialinas (H). (P: polpa; D: dentina; C: cimento; LP: ligamento periodontal; TO: trabeculado ósseo).	145
Figura 8	Corte transversal de raiz intermediária do primeiro molar superior com sete dias de movimentação dentária induzida. Nota-se reabsorção radicular, exposição de dentina e presença de células clásticas na periferia da raiz no lado de pressão (elipse). (P: polpa; D: dentina; C: cimento; LP: ligamento periodontal; TO: trabeculado ósseo).	145
Figura 9	Corte transversal de raiz distovestibular (lado de tensão) do primeiro molar superior com cinco dias de movimentação dentária induzida. Nota-se estiramento das fibras periodontais, vasos sanguíneos (elipse) e organização osteoblástica superficial pré-aposição óssea (setas). (LP: ligamento periodontal; TO: trabeculado ósseo).	147

- Figura 10** Cortes transversais de raízes intermediárias (lado de pressão) do primeiro molar superior, **(A)** com cinco dias de observação e **(B)** com sete dias de observação. Em **(A)** observa-se maior área hialina (H) que em **(B)**. Em **(B)** notam-se lacunas de Howship com células clásticas multinucleadas (elipse). (P: polpa; D: dentina; C: cemento; LP: ligamento periodontal; TO: trabeculado ósseo). 147
- Figura 11** Cortes transversais de raiz distovestibular (lado de pressão) do primeiro molar superior, **(A)** com sete dias de observação e **(B)** com nove dias de observação. Observa-se que a área de reabsorção radicular (*) em **(B)** apresenta-se mais exuberante que em **(A)**. (P: polpa; D: dentina; C: cemento; LP: ligamento periodontal; TO: trabeculado ósseo). 149

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Capítulo I

Tabela 1	Média dos percentuais de áreas hialinas do ligamento periodontal, de acordo com o período de movimentação dentária induzida, nos grupos controle e experimental e nas raízes analisadas.	69
Tabela 2	Média dos percentuais de áreas hialinas do ligamento periodontal, de acordo com o período de movimentação dentária induzida, nos grupos controle e experimental e nas raízes analisadas.	71

Capítulo II

Tabela 1	Média dos percentuais das áreas de reabsorção radicular no lado de pressão (P), no lado de tensão (T), de acordo com o período de movimentação dentária induzida e raízes analisadas no Grupo Transversal.	101
Tabela 2	Frequência de reabsorção radicular nas raízes mesiovestibular (MV), distovestibular (DV) e distolingual (DL) por número total de molares analisados em cada período de movimentação dentária induzida, no Grupo Transversal.	101
Tabela 3	Média dos percentuais das áreas de reabsorção radicular, no lado de pressão (P) e no lado de tensão (T), de acordo com o período de movimentação dentária induzida e raízes analisadas no Grupo Longitudinal.	103
Tabela 4	Frequência de reabsorção radicular nas raízes mesiovestibular (MV), distovestibular (DV) por número total de molares analisados em cada período de movimentação dentária induzida, no Grupo Longitudinal.	103

Capítulo III

Quadro 1	Distribuição dos animais por período de observação (0, 3, 5, 7 e 9 dias) e plano dos cortes microscópicos (transversal e longitudinal).	121
-----------------	--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

cN	Centinewtons
mgP/Kg	Miligrama de fósforo por quilograma
g	Grama
°C	Graus Celsius
mm	Milímetro
%	Porcentagem/percentual
µm	Micrometro
mg/ml	Miligrama por mililitro
ml/Kg	Mililitro por quilograma

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	39
2	PROPOSIÇÃO	43
3	CAPÍTULO I	47
	RESUMO	49
	ABSTRACT	50
	INTRODUÇÃO	51
	MATERIAL E MÉTODOS	53
	RESULTADOS	56
	DISCUSSÃO	57
	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	61
4	CAPÍTULO II	81
	RESUMO	83
	ABSTRACT	84
	INTRODUÇÃO	85
	MATERIAL E MÉTODOS	86
	RESULTADOS	91
	DISCUSSÃO	92
	CONCLUSÃO	96
	REFERÊNCIAS	97
5	CAPÍTULO III	115
	RESUMO	117
	ABSTRACT	118
	INTRODUÇÃO	119
	MATERIAL E MÉTODOS	120
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	128
	CONCLUSÃO	133
	REFERÊNCIAS	133
6	CONCLUSÕES	151
	REFERÊNCIAS	155
	ANEXO	167

1 Introdução

1 Introdução

A movimentação dentária induzida representa um movimento desencadeado por estímulos externos aos dentes e ossos, normalmente mecânicos, advindos de forças liberadas, geralmente, por dispositivos ortodônticos, quebrando a tensigridade celular e tecidual. Estas forças são transformadas em eventos biológicos pela mecanotransdução.

O estudo em animais busca verificar as alterações nos dentes, no ligamento periodontal e no osso alveolar envolvidos. Os murinos são animais empregados com frequência nos modelos experimentais de movimentação dentária induzida, principalmente por representar menor custo em relação aos primatas, gatos e cães e pela facilidade no manuseio.

O modelo experimental em molares de ratos permite avaliar os fenômenos biológicos relacionados à movimentação dentária induzida e suas variáveis, incluindo-se a ação de medicamentos que possam influenciar a qualidade e a velocidade do movimento. O modelo utilizado neste trabalho foi pioneiramente empregado por HELLER E NANDA (1979) e modificado por MARTINS-ORTIZ (2004).

No trabalho analisou-se a influência do alendronato sódico (*Alendil*) nas reabsorções dentárias, compararam-se cortes microscópicos transversais e longitudinais e avaliaram-se diferentes períodos de movimentação dentária induzida.

Esta dissertação será apresentada em três capítulos, enquadrados no contexto das regras da CPG-FOB-USP. Cada capítulo corresponde a um artigo, que será posteriormente enviado para publicação. Os capítulos serão descritos de acordo com as normas de cada revista.

Ao término da apresentação dos capítulos I, II, e III, segue o capítulo de conclusões, de referências (normas da NBR 6023 da ABNT, elaboradas em agosto de 2002) e o de anexo.

2 Proposição

2 Proposição

Na proposição deste trabalho, constam o título de cada capítulo, a revista para qual o artigo será enviado e a proposta de cada capítulo.

Capítulo I - Influência do alendronato nas reabsorções dentárias durante a movimentação dentária induzida: estudo histomorfométrico em cortes transversais. Este artigo será enviado para *European Journal of Orthodontics*.

A proposta deste trabalho foi testar a hipótese de que a incorporação do alendronato sódico (*Alendil*) à dentina e ao cimento, durante a odontogênese, reduziria o percentual de reabsorção radicular, durante a movimentação dentária induzida.

Capítulo II - Estudo comparativo das reabsorções radiculares em cortes transversais e longitudinais durante a movimentação dentária induzida em ratos. Este artigo será enviado para *Angle Orthodontist*.

A proposta deste trabalho foi analisar comparativamente o percentual e a frequência das reabsorções radiculares em cortes transversais e longitudinais, e sugerir o plano de corte ideal para o estudo da movimentação dentária induzida em ratos.

Capítulo III - Movimentação dentária experimental em murinos: período de observação e plano dos cortes microscópicos. Este artigo será enviado para *Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial*.

A proposta deste trabalho foi avaliar os fenômenos teciduais e celulares da movimentação dentária induzida em diferentes períodos de observação e nos planos dos cortes microscópicos transversais e longitudinais.

3 Capítulo I

Influência do alendronato nas reabsorções dentárias durante a movimentação dentária induzida: estudo histomorfométrico em cortes transversais

RESUMO

O alendronato sódico é um bisfosfonato que constitui um potente inibidor da reabsorção óssea, principalmente na prevenção da osteoporose em mulheres na menopausa. O objetivo deste estudo foi testar a hipótese de que a incorporação deste medicamento à dentina e ao cimento, durante a odontogênese, reduziria o percentual de reabsorção radicular, durante a movimentação dentária induzida. Para isto, analisaram-se, em cortes transversais, as raízes dos primeiros molares superiores esquerdos de 32 machos ratos Wistar, com 90 dias de vida, submetidos à movimentação dentária induzida por 3, 5 e 7 dias. Empregou-se movimento de inclinação mesial nos molares, com a utilização de uma mola de aço inoxidável fechada ancorada nos incisivos superiores, aplicando-se uma força de 75cN. Dois grupos foram instituídos: o Grupo Controle que não recebeu medicação e o Grupo Experimental, submetido ao alendronato sódico (*Alendil* – Farmoquímica, Rio de Janeiro, Brasil) na dosagem de 1mgP/Kg, duas vezes por semana, por via bucal, desde a fase intrauterina até o final do experimento, aos três meses de vida. Na quantificação do percentual de reabsorção radicular, utilizou-se histomorfometria, empregando-se um sistema de análise de imagem digitalizada composto por um microscópio Zeiss Axioskop II, com objetiva de 10X, câmera CCD-IRIS RGB e software Kontron KS300 conectado a um microcomputador. Os resultados demonstraram significativamente um menor percentual de reabsorção radicular, no grupo experimental, principalmente, no 7º dia de movimento ($p=0,04$). Pôde-se concluir que o alendronato reduziu o percentual de reabsorção radicular associado ao movimento dentário induzido em ratos.

*Influence of alendronate on root resorption during induced tooth movement:
histomorphometric study on transverse sections*

ABSTRACT

Alendronate sodium is a bisphosphonate that acts as a potent inhibitor of bone resorption, especially for prevention of osteoporosis in women after menopause. This study investigated the hypothesis that incorporation of this drug to the dentin and cementum during odontogenesis would reduce the percentage of root resorption during induced tooth movement. For that purpose, the study analyzed transverse sections through roots of maxillary left first molars of 32 male Wistar rats, aged 90 days, submitted to induced tooth movement for 3, 5 and 7 days. The molars were submitted to mesial inclination by utilization of a stainless steel closed coil spring anchored to the maxillary incisors, delivering 75cN of force. Two groups were formed: Control group, which did not receive the drug; and Experimental group, which received alendronate sodium (*Alendil* – Farmoquímica, Rio de Janeiro, Brazil) at a dose of 1mgP/Kg twice a week, by oral administration, since intrauterine life until study completion at three months of age. The percentage of root resorption was quantified by histomorphometry, with utilization of a digitized image analysis system comprising a microscope Zeiss Axioskop II with 10X objective, camera CCD-IRIS RGB and software Kontron KS300 connected to a microcomputer. The results significantly demonstrated lower percentage of root resorption in the Experimental group, especially at the 7th day of movement ($p=0.04$). It was concluded that alendronate reduced the percentage of root resorption associated with induced tooth movement in rats.

INTRODUÇÃO

A movimentação dentária induzida é a causa mais freqüente de reabsorções dentárias (Brezniak e Wasserstein, 2002; Consolaro, 2005), especialmente as relacionadas ao tratamento ortodôntico. A mudança na posição dos dentes em seus tecidos de suporte baseia-se em simulações e estudos em modelos experimentais, descritos inicialmente por Sandstedt (1901) em cães e por Oppenheim (1911) em macacos. Atualmente os ratos são empregados com maior freqüência nos modelos experimentais de movimentação dentária induzida (Igarashi *et al.*, 1994; Vasconcelos *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 2004; Ren *et al.*, 2004; Martins-Ortiz, 2004; Mavragani *et al.*, 2005; Santamaria Jr *et al.*, 2006). Estes animais possuem menor custo, o que facilita o seu emprego em larga escala e manutenção e armazenamento por longos períodos (Ren *et al.*, 2004).

O estudo do movimento dentário experimental em ratos representa um bom modelo (Ren *et al.*, 2004) para estudar a aposição e reabsorção óssea induzidas na normalidade (Katona *et al.*, 1995; Verna *et al.*, 1999; Verna e Melsen, 2003) e nas doenças ósseas metabólicas, bem como nas avaliações quanto aos efeitos de medicamentos (Heller e Nanda, 1979; Brudvik e Rygh, 1991; Igarashi *et al.*, 1994; Leiker *et al.*, 1995; Liu *et al.*, 2004).

O alendronato sódico é um tipo de bisfosfonato. Esta classe de drogas é amplamente utilizada na medicina, no controle da osteopenia, prevenindo a osteoporose humana e na prevenção das fraturas em osteoporose pós-menopausal (McCarus, 2006; Chaiamnuay e Saag, 2006). Além disto, estas drogas diminuem o turnover ósseo na doença de Paget, reduzindo a perda óssea em pacientes com a doença (Rodan e Fleish, 1996; Fleish, 1998; Rodan, 1998). A utilização dos bisfosfonatos em pacientes com mieloma múltiplo e com metástases ósseas decorrentes do câncer de mama, próstata, pulmão e renal tem reduzido significativamente as fraturas ósseas, compressão da medula espinhal, hipercalcemia maligna e a necessidade de radioterapia e cirurgia óssea (Lipton *et al.*, 2000; Berenson *et al.*, 2001; Woo *et al.*, 2006).

Dentre os bisfosfonatos desenvolvidos para o tratamento de doenças ósseas destacam-se: o alendronato, clodronato, EB-1053, etidronato, ibandronato, incadronato, neridronato, olpadronato, pamidronato, risedronato, tiludronato, YH 529 e zoledronato (Fleish, 1998; Rodan, 1998). Cada droga apresenta uma estrutura físico-química peculiar e função biológica específica e os resultados de avaliações experimentais de um bisfosfonato não podem ser extrapolados de um para outro tipo (Fleish, 1998).

Os bisfosfonatos que contêm nitrogênio em sua molécula, como o alendronato, são mais potentes na inibição da reabsorção óssea *in vivo* quando comparados aos que não possuem este elemento químico em sua composição (Roelofs *et al.*, 2006). Estes bisfosfonatos nitrogenados reduzem o recrutamento de células clásticas e induzem os osteoblastos na produção de um fator inibidor para clastos (Hughes *et al.*, 1989; Vitté *et al.*, 1996). Além disto, eles atuam na inibição da farnesil difosfato sintase, uma enzima chave da via do mevalonato para síntese do colesterol (Amin *et al.*, 1992; Dunford *et al.*, 2001). Embora não esteja esclarecido o mecanismo desta inibição enzimática (Roelofs *et al.*, 2006), sugere-se que a farnesil difosfato sintase seja o maior alvo farmacológico dos bisfosfonatos nitrogenados nos clastos *in vivo* (Dunford *et al.*, 2001; Rogers, 2003). Esta inibição resultaria em desregulação do transporte intracelular, na organização do citoesqueleto e na proliferação celular, levando a inibição da função do clasto (Hughes *et al.*, 1989; Vitté *et al.*, 1996).

A ação do alendronato induz a apoptose dos clastos e diminui a ação destas células no processo de reabsorção óssea. Considerando a efetividade desta droga na prevenção da reabsorção dos tecidos mineralizados, o alendronato constitui uma possibilidade de prevenção das reabsorções radiculares na movimentação dentária induzida.

A redução das reabsorções dentárias demonstrada em trabalhos experimentais em ratos (Igarashi *et al.*, 1994; Igarashi *et al.*, 1996; Liu *et al.*, 2004; Martins-Ortiz, 2004) poderia implicar, na clínica, em maior resistência dos dentes à reabsorção radicular durante o movimento ortodôntico, propiciando movimentos dentários mais seguros.

Neste trabalho, analisou-se a influência do alendronato no percentual de reabsorções radiculares durante a movimentação dentária induzida, utilizando o modelo experimental em ratos em cortes transversais.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra deste estudo foi constituída de 32 ratos machos albinos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), com 90 dias de vida, pesando em média 300g. Estes animais foram obtidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

Durante o período experimental os animais foram mantidos dentro de gaiolas, com temperatura média de 25°C, iluminação natural, ambiente limpo e arejado (Porter, 1967). A alimentação constitui-se de ração moída (*Guabi* – Nutrilabor, Campinas, Brasil), fornecida *ad libitum*, assim como o fornecimento de água. A ração moída evitou que os animais danificassem os dispositivos ortodônticos durante a mastigação.

O *Grupo Controle* foi constituído por 16 animais não medicados com alendronato, sendo quatro animais sem movimentação dentária induzida e 12 animais com os primeiros molares superiores esquerdos movimentados em períodos de 3, 5 e 7 dias (4 animais por período de observação). O *Grupo Experimental* foi constituído por 16 animais submetidos à medicação com alendronato desde a vida intrauterina até o final do experimento, aos três meses de vida, sendo quatro animais sem movimentação dentária induzida e 12 animais com os primeiros molares superiores esquerdos movimentados, em períodos de 3, 5 e 7 dias (4 animais por período de observação).

O medicamento foi fracionado para a obtenção da dosagem compatível a de humanos (1mgP/Kg) e administrado em forma de solução por via bucal, por meio de seringas acopladas a sondas uretrais de 7cm, sempre no mesmo período do dia. A cânula da sonda era facilmente introduzida pela garganta do animal e sem risco de regurgitação do medicamento. O bisfosfonato administrado foi o alendronato sódico (*Alendil* – Farmoquímica, Rio de Janeiro, Brasil), duas vezes por semana (Keidel, 1971), com intervalos de três dias.

Para a instalação do dispositivo utilizado no movimento dentário, os animais foram previamente anestesiados por via intramuscular com mistura, em partes iguais, do anestésico cloridrato de ketamina 100mg/ml (*Dopalen* – Vetbrands, Jacareí, Brasil), e do relaxante muscular cloridrato de xilazina 20mg/ml (*Anasedan* – Vetbrands, Jacareí, Brasil), na dosagem de 1ml/Kg.

O dispositivo para movimentação dentária induzida foi construído de acordo com Heller e Nanda (1979) e modificado por Martins-Ortiz (2004). Desta maneira, o *design* do aparelho empregou uma mola de aço inoxidável fechada de 4mm de comprimento (*Morelli*, Sorocaba, Brasil). A mola foi amarrada no primeiro molar superior esquerdo com fio amarelo de 0,14mm de diâmetro. A mola foi então distendida 2mm, despendendo uma força de 75cN, sobre o primeiro molar superior esquerdo, medida e padronizada previamente com dinamômetro ortodôntico (*Morelli*, Sorocaba, Brasil) (Martins-Ortiz, 2004). Em seguida, a mola foi amarrada aos incisivos superiores com fio de amarelo de 0,25mm de diâmetro (Figura 1). Os incisivos e o fio de amarelo foram protegidos com resina composta quimicamente ativada de uso ortodôntico (*Concise*, 3M, Sumaré, Brasil).

Ao término dos períodos de movimentação, os animais foram sacrificados com dose letal da mistura anestésica ketamina e xilazina e, em seguida, procedeu-se à decapitação e dissecação, removendo-se os componentes epiteliais e musculares circunjacentes à maxila. As maxilas foram fixadas em formol tamponado 10%, por dois dias, e desmineralizadas em solução de Morse (citrato de sódio e ácido fórmico em igual volume) por uma semana.

Os cortes foram realizados no sentido transversal, na espessura de 4µm e corados com hematoxilina de Harris e eosina de Lison (Figura 2). A análise dos cortes foi realizada em um microscópio óptico, no terço cervical das raízes do primeiro molar superior esquerdo.

Análise Histomorfométrica

Aplicou-se análise microscópica histomorfométrica quantitativa em todas as raízes do primeiro molar superior esquerdo do rato, ou seja, na mesiovestibular (MV), intermediária (INT), distovestibular (DV), mesiolingual (ML) e distolingual (DL). Esta

análise dividiu-se em duas etapas: a primeira consistiu na quantificação do percentual de áreas hialinas no ligamento periodontal e a segunda, na quantificação do percentual de reabsorção radicular nos lados de tensão e pressão em cada raiz, nos diferentes grupos e períodos analisados. Para a quantificação utilizou-se um sistema de análise de imagem digitalizada, composto por um microscópio Zeiss Axioskop II, com objetiva de 10X (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Alemanha), câmera CCD-IRIS RGB (Sony Corp., Tokyo, Japão) e software Kontron KS300 (Kontron Elektronik GmbH, Stuttgart, Alemanha) conectado a um microcomputador.

Quantificação do percentual de áreas hialinas

Com o emprego do programa contornava-se o maior perímetro radicular, desenhando uma linha coincidente com o limite mais externo do cimento. Em seguida, desenhava-se uma segunda linha contornando o trabeculado ósseo na periferia do ligamento periodontal (Figura 3A). Este procedimento permitiu calcular a área total do ligamento periodontal, em micrometro ao quadrado.

Da mesma maneira, contornava-se externamente cada área hialina no ligamento periodontal (Figura 3B). Em seguida, estas áreas eram somadas, obtendo-se o valor total de área hialina no ligamento periodontal, em micrometro ao quadrado. A partir destas áreas, calculou-se o percentual (%) de área hialina no ligamento periodontal de cada raiz.

Quantificação do percentual de reabsorção radicular

Da mesma maneira, para esta quantificação, determinou-se o maior perímetro radicular, desenhando uma linha que coincidia com o limite mais externo do cimento. Nas regiões das reabsorções, o contorno do perímetro externo da raiz foi realizado com uma linha virtual (linha pontilhada), simulando o contorno original da raiz. Em seguida, realizou-se uma segunda linha delimitando o menor perímetro, no limite mais interno da dentina, circunscrevendo a polpa externamente (Figura 3C). Este procedimento permitiu calcular a área total de dentina e cimento radicular, em micrometro ao quadrado.

Desta mesma forma, contornava-se internamente cada reabsorção radicular dos lados de pressão e tensão, desenhando uma linha que coincidia com o limite mais externo da parede radicular reabsorvida. Externamente, a reabsorção era delimitada por uma linha virtual pontilhada, simulando o mais próximo possível do que seria a circunferência normal da raiz (Figura 3D). Este procedimento permitiu calcular o total das áreas de reabsorção tanto do lado de pressão quanto de tensão. A partir destas áreas, calculou-se o percentual (%) de reabsorção radicular do lado de tensão e do lado de pressão.

Confeccionaram-se oito lâminas com cinco cortes em cada uma, na região cervical de todos os primeiros molares superiores esquerdos. Quantificou-se o corte com o fenômeno tecidual mais representativo para o período de movimentação dentária induzida, em cada animal analisado.

Análise Estatística

Na avaliação estatística, aplicou-se o teste Mann-Whitney para comparação entre os grupos controle e experimental e o teste Kruskal-Wallis para comparação entre os períodos de movimentação dentária induzida. Estes testes forneceram o nível de significância considerando a média dos percentuais de áreas hialinas do ligamento periodontal e a média dos percentuais das áreas de reabsorção radicular nos lados de tensão e pressão em cada raiz, de acordo com o grupo e período de movimentação dentária induzida.

RESULTADOS

As médias dos percentuais das áreas hialinas do ligamento periodontal encontradas em cada raiz, nos grupos controle e experimental, estão representadas na Tabela 1, de acordo com o período de movimentação dentária induzida.

Houve diferença significativa no percentual de área hialina entre os grupos controle e experimental, na raiz intermediária (INT), no 3º dia de movimentação dentária induzida. Observou-se maior percentual no grupo experimental (11,23%) que no grupo controle (4,17%) ($p=0,02$). Estas diferenças significantes se repetiram entre

os grupos, na raiz distolingual (DL), no 7º dia de movimentação dentária induzida. Neste caso, verificou-se também de maneira significativa um maior percentual no grupo experimental (4,67%) que no grupo controle (1,44%) ($p=0,04$).

As médias dos percentuais de reabsorção radicular nos lados de pressão e tensão encontradas em cada raiz, nos grupos controle e experimental, estão representadas na Tabela 2, de acordo com o período de movimentação dentária induzida.

Houve diferença significativa no percentual de reabsorção radicular entre os grupos controle e experimental, na raiz distovestibular (DV), no lado de pressão (P), no 7º dia de movimentação dentária induzida. Observou-se menor percentual no grupo experimental (0,05%) que no grupo controle (1,38%) ($p=0,04$). Ainda, verificou-se diferença no percentual de reabsorção radicular entre os grupos controle e experimental, na raiz distolingual (DL), no lado de tensão (T), no 3º dia de movimentação dentária induzida. Neste caso, notou-se maior percentual deste fenômeno no grupo experimental (3,07%) que no grupo controle (0,09%) ($p=0,04$).

DISCUSSÃO

Sabe-se que os efeitos sistêmicos dos bisfosfonatos não são imediatos (Rodan e Fleish, 1996; Fleish, 1998) e que, apesar das propriedades de inibir a calcificação *in vitro*, percebe-se que para ocorrer inibição eficaz da reabsorção óssea a administração desta droga deve ser prolongada. O trabalho de Mazzeiro (1999), realizado nesta linha de pesquisa de movimentação dentária induzida em ratos, mostrou que o emprego do bisfosfonato por períodos curtos não alterou as estruturas ósseas alveolares e periodontais.

Os bisfosfonatos inibem as reabsorções quando incorporados às estruturas mineralizadas. Uma vez incorporados, os bisfosfonatos são liberados apenas quando estas estruturas são reabsorvidas. Por esse motivo, no presente trabalho administrou-se o alendronato desde a vida intrauterina, durante a odontogênese, no intuito de avaliar estes efeitos enquanto droga do grupo dos bisfosfonatos e de permitir sua incorporação

à estrutura dentária, visto que tal medicamento tem capacidade de ultrapassar a barreira transplacentária (Patlas *et al.*, 1999).

Os efeitos dos bisfosfonatos ocorrem em três níveis: tecidual, celular e molecular (Rodan e Fleish, 1996; Fleish, 1998). No nível tecidual, promove a redução do turnover ósseo (Rodan e Fleish, 1996; Fleish, 1998), mostrado por marcadores bioquímicos (Ott *et al.*, 1993; Storm *et al.*, 1993; Boyce *et al.*, 1995), demonstrando redução na extensão das regiões de reabsorção óssea e na profundidade das áreas erodidas.

No nível celular, os bisfosfonatos reduzem a atividade dos clastos ao inibir a atividade e o recrutamento destas células para a superfície óssea, ao induzirem estas células à apoptose e ao alterarem a troca mineral na forma físico-química (Rodan e Fleish, 1996; Fleish, 1998). Os bisfosfonatos incorporados ao osso são liberados na lacuna de Howship e internalizados nos clastos por endocitose afetando-os diretamente. Após este fenômeno os clastos perdem sua borda ativa enrugada e inicia-se a quebra do seu citoesqueleto, desmobilizando a atividade celular reabsortiva (Russel e Rogers, 1999). Além dos efeitos diretos nos clastos, reporta-se que os bisfosfonatos inibem a reabsorção óssea atuando sobre os osteoblastos (Sahni *et al.*, 1993), já que estas células gerenciam as unidades osteorremodeladoras, comandando o recrutamento de clastos para as superfícies ósseas.

No nível molecular, os bisfosfonatos que não possuem nitrogênio em sua composição, como o etidronato, o tiludronato e o clodronato, são metabolizados por análogos não hidrolizáveis da tirosina trifosfato (Rogers *et al.*, 1996). Isto resultaria em acúmulo de metabólitos citotóxicos dentro dos clastos que causariam a morte destas células (Lehenkari *et al.*, 2002; Russel, 2007). Os bisfosfonatos que contêm nitrogênio em suas moléculas, como o alendronato, risedronato, zoledronato, ibandronato, pamindronato, EB-1053, incadronato, neridronato, olpadronato e YH 529 interferem na via do mevalonato que é responsável pela síntese de colesterol (Amin *et al.*, 1992; Van Beek *et al.*, 1999; Bergstrom *et al.*, 2000), inibindo principalmente a ação da enzima farnesil difosfato sintase (Van Beek *et al.*, 1999; Russel, 2007). Esta enzima seria necessária para a prenilação de pequenas GTPases (Zhang e Casey, 1996),

responsáveis pela sinalização de proteínas que controlam a morfologia celular, o arranjo do citoesqueleto, as bordas pregueadas, o transporte de vesículas e a apoptose nos clastos (Ridley e Hall, 1992; Zerial e Stenmark, 1993; Zhang *et al.*, 1995).

Embora se saiba dos efeitos dos bisfosfonatos no osso, não foi possível determinar na microscopia óptica, qualquer efeito do alendronato na composição da matriz óssea mineralizada, entre os grupos analisados. Morfologicamente, o osso no grupo experimental mostrou-se comparativamente igual ao grupo controle quanto à distribuição e quantidade de linhas de reversão, proporções de espaços medulares, trabéculas e corticais. A distribuição e o número de clastos e unidades osteorremodeladoras na estrutura óssea analisada também se mostraram semelhantes entre os grupos. No entanto, nos animais com alendronato os clastos pareciam “despregados” do osso, não aderidos efetivamente, semelhante ao trabalho de Alakangas *et al.* (2002) e, algumas destas células mostraram aumento no número de núcleos, condensação de cromatina e perda de polarização (Figura 4), semelhantes aos resultados de Igarashi *et al.* (1994) e Martins-Ortiz (2004). Provavelmente, nestes casos estejam ocorrendo inibição na atividade clástica e apoptose destas células, decorrentes do mecanismo de ação do alendronato.

Quanto à morfologia microscópica das raízes analisadas, com exceção das reabsorções dentárias encontradas, este trabalho não mostrou diferenças entre os grupos. A distribuição e o número de túbulos dentinários, a espessura e a celularidade do cemento apresentaram-se semelhantes entre o grupo controle e o experimental.

Semelhante ao trabalho de Igarashi *et al.* (1994) e de Martins-Ortiz (2004), houve efeito inibitório na reabsorção dentária no grupo medicado com alendronato. Os resultados do presente estudo mostraram, de maneira significativa, um menor percentual de reabsorção radicular no grupo com alendronato, no lado de pressão (P), principalmente na raiz distovestibular (DV), no 7º dia de movimentação dentária induzida ($p=0,04$) (Tabela 2). Isto poderia ser explicado pelo aumento da resistência radicular advindo da incorporação do medicamento à estrutura dentária. Nestes casos, apesar da morte dos cementoblastos e exposição da raiz, a análise microscópica

revelou menor extensão das superfícies reabsorvidas e áreas menos escavadas nas lacunas de Howship.

Na movimentação dentária induzida em ratos, as modificações teciduais são iniciais aos três dias e marcantes aos sete dias (Yokoya *et al.*, 1997; Martins-Ortiz, 2004). No período de sete dias, a análise microscópica revelou inúmeras células, principalmente macrófagos, reabsorvendo as áreas hialinas e clastos localizados na superfície radicular promovendo a reabsorção na raiz.

A reabsorção radicular no lado de pressão (P), em ambos os grupos, esteve presente principalmente no 7º dia de movimentação dentária induzida, nas raízes distovestibular (DV), intermediária (INT) e distolingual (DL). Estas raízes apresentam menor volume em relação às mesiais (Figura 2). Desta maneira, a força nas raízes DV, INT e DL estaria se concentrando em uma menor área e, portanto, incidindo mais intensamente. Estas mesmas raízes também apresentaram maiores percentuais de áreas hialinas em relação às mesiais (Tabela 1). Este achado microscópico corrobora com a explicação anterior, que relaciona o volume radicular e a incidência de força. A maior concentração de força em uma área menor do ligamento periodontal promoveria hipóxia, morte celular e migração de células do local, originando microscopicamente áreas com aspecto fosco, tipo vidro despolido, denominadas áreas hialinas. A resistência da superfície radicular à reabsorção resulta da propriedade dos cementoblastos não apresentarem em sua membrana celular receptores aos mediadores da reabsorção óssea (Lindskog *et al.*, 1987; Tenório *et al.*, 1993). No entanto, a hipóxia no ligamento periodontal gerada pelo excesso de força nas raízes DV, INT e DL causaria necrose na camada cementoblástica, deixando as raízes desnudas e expostas à ação dos mediadores da reabsorção. Isto explicaria o maior percentual de reabsorção radicular encontrado nestas raízes.

Na movimentação dentária, pode-se encontrar também reabsorção radicular no lado de tensão nas raízes de menor volume. Nestes locais, haveria maior deslocamento das raízes dentro do alvéolo, promovendo maior estresse no ligamento periodontal, levando a hipóxia no local, morte dos cementoblastos e exposição da superfície radicular à ação dos mediadores da reabsorção. Isto justificaria os achados

microscópicos obtidos na raiz distolingual (DL), no 3º dia de movimentação, em que ocorreu maior percentual de reabsorção radicular, no lado de tensão (T) ($p=0,04$) (Tabela 2).

Embora haja relatos de reações transitórias como dor abdominal, náuseas, dispepsia, constipação e diarreia na terapia com alendronato sódico (Chaiamnuay e Saag, 2006), no presente estudo não se constataram efeitos colaterais nos animais, mesmo quando da administração desde a vida intrauterina. Os resultados corroboram com os de Guy *et al.*, (1993) que administraram o alendronato por longo período em ratos em crescimento.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, na literatura analisada e considerando as limitações inerentes à metodologia, pôde-se concluir que a administração do bisfosfonato, tipo alendronato, durante a odontogênese e sua provável incorporação às estruturas dentárias, mostrou redução no percentual de reabsorções radiculares associadas ao movimento dentário induzido em ratos.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (04/12424-0). Agradecemos a histotécnica Sra. Fátima Aparecida Silveira, do serviço de Patologia, da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

REFERÊNCIAS

Alakangas A et al 2002 Alendronate disturbs vesicular trafficking in osteoclasts. *Calcified Tissue International* 70: 40-47

Amin D et al 1992 Bisphosphonates used for the treatment of bone disorders inhibit squalene synthase and cholesterol biosynthesis. *Journal of Lipid Research* 33: 1657-1663

Berenson J R et al 2001 Zoledronic acid reduces skeletal-related events in patients with osteolytic metastases. *Cancer* 91: 1191-1200

Bergstrom J D et al 2000 Alendronate is a specific, nanomolar inhibition of farnesyl diphosphate synthase. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 373: 231-241

Boyce R W et al 1995 The effects of risedronate on canine cancellous bone remodeling: three-dimensional kinetic reconstruction of the remodeling site. *Journal of Bone and Mineral Research* 10: 211-221

Brezniak N; Wasserstein A 2002 Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part II: the clinical aspects. *Angle Orthodontics* 72:180-184

Brudvik P, Rygh P 1991 Root resorption after local injection of prostaglandin E₂ during experimental tooth movement. *European Journal of Orthodontics* 13: 255-263

Chaiamnuay S, Saag K G 2006 Postmenopausal osteoporosis. What have we learned since introduction of bisphosphonates? *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders* 7: 101-112

Consolaro A 2005 Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas. Dental Press. Maringá

Dunford J E et al 2001 Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl diphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 296: 235-242

Fleish H 1998 Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocrine Reviews* 19: 80-100

Heller I J, Nanda R 1979 Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on tooth movement: an experimental study. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics* 75: 239-258

Hughes D E et al 1989 Inhibition of osteoclast-like cell formation by bisphosphonates in long-term cultures of human bone marrow. *Journal Clinical of Investigation* 83: 1930-1935

Igarashi K et al 1994 Anchorage and retentive effects of a bisphosphonate (AHBuBP) on tooth movements in rats. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics* 106: 279-289

Igarashi K et al 1996 Inhibitory effect of topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on root resorption incident to orthodontic tooth movement in rats. *Journal Dental Research* 75: 1644-1649

Katona T R et al 1995 Stress analysis of bone modeling response to rat molar orthodontics. *Journal Biomechanics* 28: 27-38

Keidel W D 1971 *Fisiologia*. Salvat. Barcelona

Lehenkari PP et al 2002 Further insight into mechanism of action of clodronate: inhibition of mitochondrial ADP/ATP translocase by a nonhydrolyzable adenine-containing metabolite. *Molecular Pharmacology* 61: 1255-1262

Leiker B J et al 1995 The effects of exogenous prostaglandins on orthodontic tooth movement in rats. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics* 108: 380-388

Lindskog S et al 1987 Cellular colonization of denuded root surfaces in vivo: cell morphology in dentin resorption and cementum repair. *Journal of Clinical Periodontology* 14: 390-395

Lipton A et al 2000 Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. *Cancer* 88: 1082-1090

Liu L et al 2004 Effects of local administration of clodronate on orthodontic tooth movement and root resorption in rats. *European Journal of Orthodontics* 26: 469-473

Martins-Ortiz M F 2004 Influência dos bisfosfonatos na movimentação dentária induzida, na frequência e nas dimensões das reabsorções radiculares associadas. Thesis. Universidade de São Paulo

Mavragani M et al 2005 Orthodontically induced root and alveolar bone resorption: inhibitory effect of systemic doxycycline administration in rats. *European Journal of Orthodontics* 27: 215-225

Mazzieiro E T 1999 Bisfosfonato e movimentação dentária induzida: avaliação microscópica de seus efeitos. Thesis. Universidade de São Paulo

McCarus D C 2006 Fracture prevention in postmenopausal osteoporosis: a review of treatment options. *Obstetrical and Gynecological Survey* 61: 39-50

Oppenheim A 1911 Tissue changes particularly of the bone, incident to tooth movement. *American Journal of Orthodontics* 3: 57-67

Ott S M 1993 Clinical effects of bisphosphonates in osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research* 8: 597-606

Platas N et al 1999 Transplacental effects of bisphosphonates on fetal skeletal ossification and mineralization in rats. *Teratology* 60: 68-73

Porter G 1967 The norway rat (*Rattus norvegicus*). In: Lanne-Petter W et al (3ed.) *The UFAW handbook on the care and manegement of laboratory animals*. London, Livingstone, pp.353-390

Ren Y et al 2004 The rat as model for orthodontic tooth movement - a critical review and a proposed solution. *European Journal of Orthodontics* 26: 483-490

Ridley A J; Hall A 1992 The small GTP-binding protein Rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 70: 389-399

Rodan G A 1998 Mechanisms of action of bisphosphonates. Annual Review Pharmacology Toxicology 38: 375-388

Rodan G A, Fleish H A 1996 Bisphosphonates: mechanisms of action. Journal Clinical of Investigation 97: 2692-2696

Roelofs A J et al. 2006 Molecular mechanisms of action of bisphosphonates: current status. Clinical Cancer Research 12: 6222- 6230

Rogers M J et al 1996 Bisphosphonates are incorporated into adenine nucleotides by human aminoacyl-tRNA synthetase enzymes. Biochemical and Biophysical Research Communication 224: 863-869

Rogers M J 2003 New insights into the molecular mechanisms of action of bisphosphonates. Current Pharmaceutical Design 9: 2643-2658

Russell R G 2007 Bisphosphonates: mode of action and pharmacology. Pediatrics 119: 150-162

Russell R G; Rogers M J 1999 Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. Bone 25: 97-106

Sahni M et al 1993 Bisphosphonates act on rat bone resorption through the mediation of osteoblasts. Journal Clinical Investigation 91: 2004-2011

Sandstedt C 1901 [*Nagra bidrag til tandregleringens teori*, P. A. Nordstedt & Stoner, Stockholm] apud Davidovitch Z 1991 Tooth movement. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine 2: 411-450

Santamaria M Jr et al 2006 Initial changes in pulpal microvasculature during orthodontic tooth movement: a stereological study. European Journal of Orthodontics 28: 217-220

Storm T et al 1993 Changes in bone histomorphometry after long-term treatment with intermittent, cyclic etidronate for postmenopausal osteoporosis. Journal Bone Mineral. Research 8: 199-208

Tenorio D et al 1993 Immunocytochemical investigation of the rat cementoblast phenotype. *Journal Periodontal Research* 28: 411-419

Van Beek E et al. 1999 Farnesyl pyrophosphate synthase is the molecular target of nitrogen-containing bisphosphonates. *Biochemical Biophysical Research Communication* 264:108-111

Vasconcelos M H F et al 1998 A histological study of tooth movement in rats under contraceptive use. In: Davidovitch Z *Biological mechanisms of tooth eruption, resorption and replacement by implants*. Boston, Harvard Society for the Advancement of Orthodontics, pp. 539-543

Verna C; Melsen B 2003 Tissue reaction to orthodontic tooth movement in different bone turnover conditions. *Orthodontic Craniofacial Research* 6: 155-163

Verna C et al 1999 Histomorphometric study of bone reactions during orthodontic tooth movement in rats. *Bone* 24: 371-379

Vitté C et al 1996 Bisphosphonates induce osteoblasts to secrete an inhibitor of osteoclast-mediated resorption. *Endocrinology* 137: 2324-2333

Woo S B et al 2006 Systematic Review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Annals of Internal Medicine* 144: 753-761

Yokoya K et al 1997 Distributional changes of osteoclasts and pre-osteoclastic cells in periodontal tissues during experimental tooth movement as revealed by quantitative immunohistochemistry of H^+ -ATPase. *Journal Dental Research* 76: 580-587

Zerial M; Stenmark H 1993 Rab GTPases in vesicular transport. *Current Opinion in Cell Biology* 5: 613-620

Zhang D et al 1995 The small GTP-binding protein, *Rho* p21, is involved in bone resorption by regulating cytoskeletal organization in osteoclasts. *Journal of Cell Science* 108: 2285-2292

Zhang F L; Casey P J 1996 Protein prenylation: molecular mechanisms and functional consequences. *Annual Review Biochemical* 65: 241-269

Tabela 1 - Média e desvio padrão dos percentuais de áreas hialinas do ligamento periodontal, de acordo com o período de movimentação dentária induzida, nos grupos controle e experimental e nas raízes analisadas.

Média dos Percentuais das Áreas Hialinas no Ligamento Periodontal					
RAÍZES	GRUPO	S/MDI	3 DIAS	5 DIAS	7 DIAS
MV	Controle	0	0	0	0
	Experimental	0	0	0	0
INT	Controle	0	4,17* $\pm 4,66$	2,73 $\pm 3,57$	1,85 $\pm 2,22$
	Experimental	0	11,23* $\pm 4,73$	4,27 $\pm 4,16$	4,54 $\pm 4,37$
DV	Controle	0	6,04 $\pm 3,23$	2,28 $\pm 1,64$	2,98 $\pm 2,79$
	Experimental	0	5,72 $\pm 3,36$	3,79 $\pm 2,33$	5,80 $\pm 4,81$
ML	Controle	0	0,73 $\pm 1,69$	0,16 $\pm 0,35$	0
	Experimental	0	0	0	0
DL	Controle	0	3,06 $\pm 2,29$	1,19 $\pm 1,36$	1,44⁺ $\pm 1,31$
	Experimental	0	2,82 $\pm 2,17$	4,04 $\pm 2,86$	4,67⁺ $\pm 1,22$

* Nível de significância: $p=0,02$.

+ Nível de significância: $p=0,004$.

Tabela 2 - Média e desvio padrão dos percentuais das áreas de reabsorção radicular no lado de pressão (P), no lado de tensão (T), de acordo com o período de movimentação dentária induzida, nos grupos controle e experimental e nas raízes analisadas.

Média dos Percentuais das Áreas de Reabsorção Radicular									
RAÍZES	GRUPOS	S/MDI		3 Dias		5 Dias		7 Dias	
		P	T	P	T	P	T	P	T
MV	Controle	0	0	0	0	0,03 ±0,10	0	0,11 ±0,27	0,09 ±0,22
	Experimental	0	0	0	0,03 ±0,06	0	0	0	0,03 ±0,07
INT	Controle	0	0	0,15 ±0,50	0,17 ±0,60	0,09 ±0,33	0	0,95 ±1,71	0
	Experimental	0	0	0	0	0,46 ±0,92	0	2,16 ±3,88	0
DV	Controle	0	0	0	0,10 ±0,24	0	0	1,38* ±1,25	0
	Experimental	0	0	0	1,29 ±2,58	0	0	0,05* ±0,09	0,16 ±0,32
ML	Controle	0	0	0	0,01 ±0,04	0	0,01 ±0,03	0,08 ±0,21	0
	Experimental	0	0	0	0,94 ±1,09	0	0	0	0
DL	Controle	0	0,29 ±0,46	0	0,09* ±0,25	0,05 ±0,18	0,01 ±0,03	0,65 ±1,72	0,51 ±0,95
	Experimental	0	0,10 ±0,20	0	3,07* ±3,20	0,06 ±0,13	0,25 ±0,31	0	1,19 ±0,82

* Nível de significância: p=0,04.

Figura 1 - Dispositivo ortodôntico instalado para a inclinação mesial do primeiro molar superior esquerdo, ancorado nos incisivos superiores, despendendo uma força de 75cN.

Figura 2 - Corte transversal da maxila do rato no terço cervical das raízes do primeiro molar superior esquerdo. No destaque estão as raízes do dente movimentado: a mesiovestibular (MV), intermediária (INT), distovestibular (DV), mesiolingual (ML) e distolingual (DL). Notam-se os diferentes volumes das raízes do primeiro molar (Imagem obtida de uma lâmina escaneada).

Figura 3-Delimitação das áreas hialinas do ligamento periodontal e das áreas de reabsorção radicular. (A) Área total do ligamento periodontal limitada externamente por uma linha verde e internamente por uma linha azul clara. (B) Área hialina do ligamento periodontal delimitada por uma linha vermelha. (C) Área de dentina e cimento da raiz representada por toda a região delimitada externamente por uma linha contínua azul clara e por uma linha pontilhada azul escura e no perímetro mais interno da raiz, circunscrevendo a polpa, por uma segunda linha contínua azul. (D) Áreas de reabsorção radicular (*), no lado de pressão do ligamento periodontal, delimitadas internamente por uma linha contínua azul clara e externamente por uma linha pontilhada azul escura.

Figura 4 - Exemplo de clasto em apoptose próximo ao vaso congesto, encontrado em alguns animais do grupo experimental. Notam-se condensação da cromatina e perda da polarização nuclear.

4 Capítulo II

Estudo comparativo das reabsorções radiculares em cortes transversais e longitudinais durante a movimentação dentária induzida em ratos

RESUMO

Objetivos: Analisar comparativamente o percentual e a frequência das reabsorções radiculares em cortes transversais e longitudinais, e sugerir o plano de corte ideal para o estudo da movimentação dentária induzida em ratos.

Material e Métodos: Com uma mola de aço inoxidável fechada ancorada nos incisivos superiores, aplicando-se uma força de 75cN, promoveu-se o movimento de inclinação mesial dos primeiros molares superiores esquerdos. Utilizaram-se 40 ratos machos Wistar, com 90 dias de vida. Dois grupos foram instituídos: o Grupo Transversal e o Longitudinal, com 20 animais em cada grupo. Os primeiros molares dos ratos foram movimentados por períodos de 3, 5 e 7 dias e analisados microscopicamente em dois tipos de corte: transversal e longitudinal. Na quantificação do percentual de reabsorção radicular, utilizou-se histomorfometria, empregando-se um sistema de análise de imagem digitalizada composto por um microscópio Zeiss Axioskop II, com objetiva de 10X, câmera CCD-IRIS RGB e software Kontron KS300 conectado a um microcomputador. Na frequência de reabsorção radicular, considerou-se a presença deste fenômeno nos molares.

Resultados: Tanto nos cortes transversais, quanto nos longitudinais houve maior percentual e frequência de reabsorção radicular, no 7º dia de movimento na raiz distovestibular. Em cortes transversais, o percentual foi de 1,38% ($p=.04$) e em cortes longitudinais de 0,48% ($p>.05$).

Conclusão: A avaliação dos cortes permite indicar secções transversais como melhor método para as análises histomorfométrica e semiquantitativa das reabsorções radiculares durante a movimentação dentária induzida em ratos. Este corte possibilitou visualizar a relação de todas as raízes do primeiro molar superior com os tecidos circunjacente e mostrou maior percentual de reabsorção radicular.

Palavras-chave: Reabsorção radicular. Movimento dentário induzido.

Comparative study of root resorptions in transverse and longitudinal sections during induced tooth movement in rats

ABSTRACT

Objectives: To compare the percentage and frequency of root resorptions on transverse and longitudinal sections, and to suggest the ideal direction of microscopic section for investigation of induced tooth movement in rats.

Materials and methods: A stainless steel closed coil spring anchored to the maxillary incisors, delivering 75cN of force, was used to achieve mesial inclination of maxillary left first molars. The study was conducted on 40 male Wistar rats aged 90 days, divided into Transverse and Longitudinal groups, of 20 animals each. The first molars of rats underwent induced tooth movement for 3, 5 and 7 days and were microscopically analyzed on both transverse and longitudinal sections. The percentage of root resorption was quantified by histomorphometry with aid of a digitized image analysis system comprising a microscope Zeiss Axioskop II with 10X objective, camera CCD-IRIS RGB and software Kontron KS300. Analysis of frequency of root resorption considered presence of this finding on the molars.

Results: Both transverse and longitudinal sections revealed highest percentage and frequency of root resorption on the 7th day of induced tooth movement, on the distobuccal root. The percentage was 1.38% ($p=0.04$) on transverse sections and 0.48% ($p>0.05$) on longitudinal sections.

Conclusion: Transverse sections may be considered the best method for histomorphometric and semiquantitative analysis of root resorptions during induced tooth movement in rats. This direction of section allowed observation of the relationship of all roots of maxillary first molars with the surrounding tissues and revealed the highest percentage of root resorption.

Keywords: Root resorption. Induced tooth movement.

INTRODUÇÃO

A reabsorção radicular pode ser uma consequência do movimento dentário ortodôntico.¹⁻⁶ Em muitos casos, a reabsorção radicular pode ser decorrente de iatrogenia provocada pelo ortodontista, por exemplo, com a aplicação de força excessiva e inadequada utilizada para o movimento dentário.

Os fenômenos reabsortivos relacionados ao movimento ortodôntico podem ser estudados em modelos experimentais de movimentação dentária induzida em ratos.⁷⁻²⁰ Alguns trabalhos empregam o movimento de inclinação mesial do primeiro molar superior para analisar microscopicamente as reabsorções radiculares relacionadas ao movimento dentário induzido.¹⁵⁻²⁰

Os modelos experimentais em ratos que empregam o movimento de inclinação mesial do primeiro molar superior, em geral, apresentam variações metodológicas. Dentre estas variações, podem-se destacar os componentes dos dispositivos ortodônticos, a intensidade de força, os períodos de movimentação e os cortes empregados para a análise microscópica. A falta de padronização destas variáveis pode alterar os resultados microscópicos dos fenômenos biológicos relacionados ao movimento dentário induzido e empobrecer a análise microscópica e comparativa.

Dentre os materiais componentes dos dispositivos ortodônticos utilizados para o movimento dentário induzido em ratos, têm-se as ligas elastoméricas²¹⁻²⁵ e as molas fechadas, largamente empregadas em diferentes modelos de aparelhos.^{7,18,19,26,27} As ligas elastoméricas não permitem quantificar exatamente a intensidade da força aplicada para inclinação mesial do primeiro molar superior. Nestes dispositivos, a força não é constante e sim rapidamente dissipada, devido à deflexão das cristas e septos ósseos dos dentes adjacentes e os períodos de observação dos fenômenos biológicos empregados variam entre 1 hora e 21 dias.²¹⁻²⁵ Por outro lado, as molas fechadas empregadas na inclinação mesial do primeiro molar superior permitem mensurar a força aplicada. Nos trabalhos analisados que utilizam este último tipo de dispositivo²¹⁻²⁵ a força varia entre 25 e 136cN e os períodos de observação dos fenômenos biológicos variam entre 1 e 28 dias.

Além destas variáveis, os trabalhos experimentais também diferem quanto ao tipo de corte empregado para a análise microscópica. Em alguns trabalhos utilizam-se cortes longitudinais,^{7,15,16,18,20,21,24} outros, cortes transversais^{9,12} ou a associação de ambos.^{10,22} O tipo de corte pode influenciar a análise dos fenômenos reabsortivos associados ao movimento do primeiro molar superior. Este dente apresenta de 4 a 6 raízes. Neste caso, o ideal seria obter um plano de corte onde se visualizassem todas as raízes simultaneamente e onde se pudessem mensurar os fenômenos biológicos relacionados ao movimento dentário induzido em todas as raízes ao mesmo tempo.

Considerando todas estas variáveis e a importância no estudo das reabsorções radiculares, propôs-se analisar comparativamente o percentual e a frequência deste fenômeno em cortes transversais e longitudinais, bem como sugerir o plano de corte ideal para o modelo experimental em ratos que utiliza o movimento de inclinação mesial do primeiro molar superior.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra deste estudo foi constituída de 40 ratos machos albinos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), com 90 dias de vida, pesando em média 300g. Estes animais foram obtidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

Durante o período experimental os animais foram mantidos dentro de gaiolas, com temperatura média de 25°C, iluminação natural, ambiente limpo e arejado.²⁸ A alimentação constitui-se de ração moída (*Guabi* – Nutrilabor, Campinas, Brasil), fornecida *ad libitum*, assim como o fornecimento de água. A ração moída evitou que os animais danificassem os dispositivos ortodônticos durante a mastigação.

O *Grupo Transversal* foi constituído por 20 animais. Todos os animais deste grupo foram submetidos ao corte transversal. Este grupo foi subdividido em animais sem movimentação dentária induzida e com movimentação dentária por 3, 5 e 7 dias (cinco animais em cada período de movimentação dentária induzida). O *Grupo*

Longitudinal foi constituído também por 20 animais. Todos os animais deste grupo foram submetidos ao corte longitudinal. Este grupo também foi subdividido em animais sem movimentação e com movimentação dentária induzida por 3, 5 e 7 dias (cinco animais em cada período de movimentação dentária induzida).

Para a instalação do dispositivo utilizado no movimento dentário, os animais foram previamente anestesiados por via intramuscular com mistura, em partes iguais, do anestésico cloridrato de ketamina 100mg/ml (*Dopalen* – Vetbrands, Jacareí, Brasil), e do relaxante muscular cloridrato de xilazina 20mg/ml (*Anasedan* – Vetbrands, Jacareí, Brasil), na dosagem de 1ml/Kg.

O dispositivo para movimentação dentária induzida foi construído de acordo com Heller e Nanda⁷ e modificado por Martins-Ortiz.²⁰ Desta maneira, o *design* do aparelho empregou uma mola de aço inoxidável fechada de 4mm de comprimento (*Morelli*, Sorocaba, Brasil). A mola foi amarrada no primeiro molar superior esquerdo com fio amarelo de 0,14mm de diâmetro, e então distendida 2mm, despendendo uma força de 75cN, sobre o primeiro molar superior esquerdo, medida e padronizada previamente com dinamômetro ortodôntico (*Morelli*, Sorocaba, Brasil).²⁰ Em seguida, a mola foi amarrada aos incisivos superiores com fio de amarelo de 0,25mm de diâmetro (Figura 1). Os incisivos e o fio de amarelo foram protegidos com resina composta quimicamente ativada de uso ortodôntico (*Concise*, 3M, Sumaré, Brasil).

Ao término dos períodos de movimentação, os animais foram sacrificados com dose letal da mistura anestésica ketamina e xilazina e, em seguida, procedeu-se à decapitação e dissecação, removendo-se os componentes epiteliais e musculares circunjacentes à maxila. As maxilas foram fixadas em formol tamponado 10%, por dois dias, e desmineralizadas em solução de Morse (citrato de sódio e ácido fórmico em igual volume) por uma semana.

Os cortes foram realizados no sentido transversal e no sentido longitudinal, na espessura de 4µm e corados com hematoxilina de Harris e eosina de Lison. A análise dos cortes foi realizada em um microscópio óptico. Nos cortes transversais, esta análise ocorreu no terço cervical das raízes do primeiro molar superior esquerdo,

enquanto que nos cortes longitudinais ocorreu nos terços cervical, médio e apical das raízes do primeiro molar.

Análise Histomorfométrica

Nos cortes transversais, a análise microscópica histomorfométrica para a quantificação do percentual de reabsorção radicular foi aplicada em todas as raízes do primeiro molar superior esquerdo do rato, ou seja, na mesiovestibular (MV), intermediária (INT), distovestibular (DV), mesiolingual (ML) e distolingual (DL), nos lados de tensão e pressão, em cada período de movimentação dentária induzida. Nos cortes longitudinais, esta análise foi aplicada nas raízes mesiovestibular (MV) e distovestibular (DV), em cada período de movimentação dentária induzida.

Para a quantificação utilizou-se um sistema de análise de imagem digitalizada, composto por um microscópio Zeiss Axioskop II, com objetiva de 10X (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Alemanha), câmera CCD-IRIS RGB (Sony Corp., Tokyo, Japão) e software Kontron KS300 (Kontron Elektronik GmbH, Stuttgart, Alemanha) conectado a um microcomputador.

Quantificação do percentual de reabsorção radicular nos cortes transversais

Com o emprego do programa contornava-se o maior perímetro radicular, desenhando uma linha que coincidia com o limite mais externo do cimento. Nas regiões das reabsorções, o contorno do perímetro externo da raiz foi realizado com uma linha virtual (linha pontilhada), simulando o contorno original da raiz. Em seguida, realizou-se uma segunda linha delimitando o menor perímetro, no limite mais interno da dentina, circunscrevendo a polpa externamente (Figura 2A). Este procedimento permitiu calcular a área total de dentina e cimento radicular, em micrometro ao quadrado.

Desta mesma forma, contornava-se internamente cada reabsorção radicular dos lados de pressão e tensão, desenhando uma linha que coincidia com o limite mais externo da parede radicular reabsorvida. Externamente, a reabsorção era delimitada por uma linha virtual pontilhada, simulando o mais próximo possível do que seria a

circunferência normal da raiz (Figura 2B). Este procedimento permitiu calcular o total das áreas de reabsorção tanto do lado de pressão quanto de tensão.

A partir das áreas totais de dentina e cimento radicular e das áreas de reabsorção, calculou-se o percentual (%) de reabsorção radicular do lado de tensão e do lado de pressão.

Quantificação do percentual de reabsorção radicular nos cortes longitudinais

Para esta quantificação foi necessário traçar os pontos de referências nas cristas ósseas interradicular, mesial e distal, para estabelecer os limites dos contornos mesial e distal em cada raiz:

1- Os limites mesiais e distais no contorno externo das raízes foram limitados pelas alturas das cristas ósseas mesiais e distais respectivamente (ponto **A** e **B**) (Figura 3);

2- Traçou-se uma reta (pontilhada) passando pelo ponto correspondente ao ápice da crista óssea interradicular, separando anatomicamente as raízes mesiovestibular e distovestibular. A reta pontilhada posicionou-se paralela à reta que ligava os pontos **E** e **F** na raiz distovestibular. O ponto **E** representava o ponto médio aos pontos **B** e **D**, enquanto o ponto **F** representava o ponto mais apical da raiz distovestibular. O ponto **D** localizava-se no ponto mais externo da parede mesial da raiz distovestibular, na altura da crista óssea distal (Figura 3).

3- Localizado imediatamente abaixo da polpa e coincidente com a reta pontilhada, o ponto **C** (Figura 3) permitiu delimitar superiormente o contorno externo das raízes. O limite superior do contorno externo da raiz mesiovestibular foi estabelecido por uma reta que unia o ponto **A** ao ponto **C**, enquanto que o limite superior do contorno externo da raiz distovestibular foi estabelecido por uma reta que unia o ponto **B** ao ponto **C** (Figura 4A).

Com o emprego do programa, contornava-se externamente cada raiz, desenhando uma linha que coincidia com o limite mais externo do cimento. Nas regiões das reabsorções, o contorno do perímetro externo da raiz foi realizado com uma linha virtual (linha pontilhada), simulando o contorno original da raiz. Em

seguida, realizou-se uma segunda linha delimitando o menor perímetro, no limite mais interno da dentina, circunscrevendo a polpa externamente (Figura 4A). Ambos os contornos respeitaram os limites mesiais, distais e oclusais preestabelecidos para cada raiz. Este procedimento permitiu calcular a área total de dentina e cimento radicular, em micrometro ao quadrado.

Em seguida, contornava-se internamente cada reabsorção radicular, desenhando uma linha que coincidia com o limite mais externo da parede radicular reabsorvida. Externamente, a reabsorção era delimitada por uma linha virtual pontilhada, simulando o mais próximo possível do que seria a circunferência normal da raiz (Figura 4B). Este procedimento permitiu calcular o total das áreas de reabsorção.

A partir das áreas totais de dentina e cimento radicular e das áreas de reabsorção, calculou-se o percentual (%) de reabsorção radicular do lado de tensão e do lado de pressão.

Análise Semiquantitativa – Frequência de Reabsorção Radicular

Nesta análise, avaliou-se a frequência de reabsorção radicular nos molares analisados, em cada período de movimentação dentária induzida, nos grupos transversal e longitudinal. Nesta análise microscópica, as raízes avaliadas no corte transversal foram a mesiovestibular (MV), distovestibular (DV) e a distolingual (DL). No corte longitudinal, as raízes avaliadas foram a mesiovestibular (MV) e a distovestibular (DV).

Para as análises microscópicas dos Grupos Transversal e Longitudinal confeccionaram-se oito lâminas com cinco cortes em cada uma. Os cortes transversais foram realizados na região cervical de todos os primeiros molares superiores esquerdos (Figura 5A), enquanto que os cortes longitudinais foram realizados no plano coincidente com o longo eixo das raízes mesiovestibular e distovestibular (Figura 5B). Quantificou-se o corte com o fenômeno tecidual mais representativo para o período de movimentação dentária induzida, em cada animal analisado, tanto para a análise histomorfométrica, quanto para a análise semiquantitativa.

Análise Estatística

Na análise histomorfométrica dos cortes transversais e longitudinais, aplicou-se o teste Kruskal-Wallis e Dunn para comparação entre os períodos de movimentação dentária induzida. Estes testes forneceram o nível de significância considerando a média dos percentuais das áreas de reabsorção radicular nos lados de tensão e pressão em cada raiz, de acordo com o período de movimentação dentária induzida.

Na análise semiquantitativa dos cortes transversais e longitudinais, aplicou-se avaliação descritiva, determinando-se a frequência de reabsorção radicular.

RESULTADOS

Cortes Transversais

As médias dos percentuais de reabsorção radicular nos lados de pressão e tensão encontradas em cada raiz, no Grupo Transversal, estão representadas na Tabela 1, de acordo com o período de movimentação dentária induzida.

Houve diferença significativa no percentual de reabsorção radicular, na raiz distovestibular (DV), no lado de pressão (P), no 7º dia de movimentação dentária induzida. Neste caso, observou-se percentual de 1,38% ($p=.04$).

As frequências de reabsorção radicular no Grupo Transversal estão representadas na Tabela 2, de acordo com o período de movimentação dentária induzida. Houve maior frequência de reabsorção radicular no 7º dia de movimento, nas raízes distovestibular (DV) (4:5) e distolingual (DL) (3:5). Desta maneira, dos cinco molares analisados quatro apresentaram ao menos um foco de reabsorção na raiz distovestibular e três ao menos um foco na raiz distolingual.

Cortes Longitudinais

As médias dos percentuais de reabsorção radicular encontradas nas raízes mesiovestibular (MV) e distovestibular (DV), no Grupo Longitudinal, estão representadas na Tabela 3, de acordo com o período de movimentação dentária induzida.

Não houve reabsorção radicular na raiz mesiovestibular (MV). Por outro lado, a raiz distovestibular (DV) apresentou percentual de 0,23% no 5º dia e de 0,48% no 7º dia de movimento, sem diferença estatística significativa ($p > .05$).

As frequências de reabsorção radicular no Grupo Longitudinal estão representadas na Tabela 4, de acordo com o período de movimentação dentária induzida. Semelhante aos resultados anteriores, a reabsorção radicular esteve presente na raiz distovestibular (DV), no 5º (3:5) e 7º (4:5) dias de movimento. Desta maneira, dos cinco molares analisados no 5º dia de movimentação, três apresentaram ao menos um foco de reabsorção na raiz distovestibular. Dos cinco molares analisados no 7º dia de movimentação, quatro apresentaram ao menos um foco de reabsorção na raiz distovestibular.

DISCUSSÃO

O presente trabalho utilizou molas fechadas como componente ativo dos dispositivos ortodônticos. Este modelo permitiu quantificar a força aplicada no dente movimentado, o primeiro molar superior esquerdo. Além disto, a ancoragem dos incisivos superiores possibilitou um movimento mais efetivo de inclinação mesial dos primeiros molares superiores, já que os incisivos superiores apresentam raízes mais volumosas e mais longas, quando comparadas às raízes dos molares deste animal.

A inserção de ligas elastoméricas empregadas no movimento dentário induzido em alguns trabalhos,²¹⁻²⁵ além de não mensurar a intensidade da força aplicada no dente movimentado, pode lesar o tecido periodontal circunjacente, levando à inflamação local. Isto alteraria os resultados microscópicos dos fenômenos teciduais e celulares relacionados à movimentação dentária induzida, dentre estes, as reabsorções radiculares. Desta maneira, este tipo de dispositivo não seria ideal para o que este trabalho se propõe analisar.

A força de 75cN aplicada na inclinação mesial do primeiro molar foi estabelecida previamente em estudos pilotos e utilizada por Martins-Ortiz em 2004.²⁰ Apesar de a força ser aplicada em uma única ativação por um único operador sobre o

dente movimentado, microscopicamente notaram-se variações quanto ao percentual e frequência das reabsorções nas raízes analisadas. Observou-se, por exemplo, maior percentual e frequência deste fenômeno nas raízes distais. Isto pôde ser notado especialmente em cortes transversais, devido à análise simultânea de todas as raízes deste dente (Figura 6). Este achado microscópico pode ser devido ao menor volume das raízes distais em relação às mesiais, de maneira que a força estaria se concentrando em uma menor área e incidindo mais intensamente nas raízes de menor volume.

Outra razão para a redução ser maior nas raízes distais está na forma espacial trapezoidal do primeiro molar superior do murino. No movimento para mesial, a parte distal deste dente é a mais exigida pela rotação natural que o molar tende a sofrer, além do movimento de inclinação.

O aparecimento de reabsorções nas raízes está diretamente relacionado à lesão na camada cementoblástica que reveste a superfície radicular. Esta camada é composta por células chamadas cementoblastos que não expressam em sua membrana celular receptores aos mediadores da reabsorção óssea.^{29,30} Desta maneira, a resistência radicular às reabsorções é obtida com a manutenção desta camada de células. Entretanto, o excesso de força, durante o movimento dentário induzido, provocaria hipóxia no ligamento periodontal e ocasionaria morte dos cementoblastos. As raízes ficariam desnudas e expostas à ação das células clásticas que respondem aos mediadores da reabsorção. Isto poderia explicar os achados microscópicos nas raízes de menor volume, onde há maior concentração de força durante o movimento.

Na movimentação dentária induzida em ratos, os fenômenos reabsortivos são iniciais nos primeiros três dias, exuberantes aos cinco dias e suas conseqüências marcadamente presentes aos sete dias.^{20,23,31} Em estudos pilotos realizados para confirmar os melhores períodos de observação, pôde-se verificar que na análise ao microscópio óptico, o período de três a sete dias trouxe resultados comparativamente significantes entre as variáveis estudadas, abrangendo os principais fenômenos teciduais e celulares da movimentação dentária induzida, principalmente no que se referia às reabsorções radiculares. Portanto, neste trabalho os períodos de observação empregados foram de três, cinco e sete dias.

A análise microscópica comparativa do primeiro molar, nos grupos Transversal e Longitudinal, possibilitou uma visualização mais enriquecida dos detalhes anatômicos deste dente, em cortes transversais. Estes cortes permitiram analisar simultaneamente todas as raízes do primeiro molar (Figura 6). Além disto, possibilitaram observar a relação de todas as raízes com os tecidos circunjacente e mostrou maior percentual de reabsorção radicular (Tabelas 1 e 3). Apesar destas considerações, em cortes longitudinais a frequência de reabsorção radicular revelou-se ligeiramente maior aos sete dias. Provavelmente, isto decorra de uma melhor visualização radicular no sentido ocluso-apical nestes cortes.

Observaram-se ainda em cortes transversais, a relação das raízes mesiovestibular, intermediária e distovestibular com a tábua óssea vestibular deste dente. Pôde-se notar a delicada espessura desta parede óssea. Mediante esta constatação poderia se questionar a maior deflexão óssea e, conseqüentemente, maior possibilidade de fratura nesta parede em modelos experimentais que utilizam movimento de inclinação para vestibular no primeiro molar superior durante a movimentação dentária induzida em ratos.^{6,27,32,33,34} Além disto, a maior deflexão óssea poderia levar a um movimento dentário com pouca remodelação alveolar e a fenômenos teciduais e celulares menos exuberantes.

A análise histomorfométrica dos cortes transversais mostrou percentual significativamente maior de reabsorção radicular na raiz distovestibular (DV), no lado de pressão (P), no 7º dia de movimentação dentária induzida ($p=.04$) (Tabela 1). Esta raiz apresenta menor volume que as mesiais, desta maneira, a força estaria se concentrando em uma menor área e incidindo mais intensamente. Apesar dos resultados não terem sido significantes, as raízes intermediária (INT) e distolingual (DL) também mostraram valores altos no percentual de reabsorção radicular, no lado de pressão (P), no 7º dia de movimento (Tabela 1). Semelhante a raiz distovestibular, as raízes INT e DL também possuem um volume reduzido em relação às mesiais, o que poderia explicar os valores encontrados.

Os lados de pressão do ligamento periodontal apresentaram maiores percentuais de reabsorção radicular que os lados de tensão (Tabelas 1 e 3). Estes resultados

corroboram com os de King et al em 1998¹⁸ e Konoo et al em 2001.³⁵ Estes autores utilizaram movimento de inclinação mesial do primeiro molar superior e análise histomorfométrica para avaliar as reabsorções radiculares nos lados de pressão e tensão na raiz distovestibular do primeiro molar superior. Da mesma maneira que os trabalhos anteriores, o presente estudo revelou, nos grupos analisados, maior valor de reabsorção radicular no lado de pressão da raiz distovestibular. O movimento de inclinação utilizado neste modelo experimental pode gerar, na área de pressão, compressão dos vasos do ligamento periodontal e conseqüente hipóxia.³⁶ Este estresse local seria capaz de lesionar a camada de cementoblastos e promover a morte destas células. Desta forma, a raiz ficaria desnuda e exposta à ação de células clástica que respondem aos mediadores da reabsorção.

A análise histomorfométrica dos cortes longitudinais mostrou maior percentual de reabsorção no 7º dia de movimento, semelhante ao trabalho de Konoo et al 2001. No entanto, este resultado não apresentou diferença estatística significativa. Isto ocorreu porque no período de cinco e sete dias, em dois animais de cada período, não foi possível mensurar o percentual de reabsorção radicular. Nestes casos, apenas três animais foram analisados em cada período (Tabela 3). A dificuldade apresentada na fase laboratorial na confecção de um plano de corte em que obtivesse ao menos a raiz mesiovestibular e distovestibular cortadas no longo eixo (Figura 5B) dificultou a obtenção dos parâmetros para a mensuração dos cortes, durante esta análise.

Para aplicar a análise histomorfométrica e quantificar as áreas de reabsorção radicular os cortes necessariamente deveriam ter a mesma padronização. A dificuldade da padronização no Grupo Longitudinal incorreu em cortes com raízes curtas, presença de apenas uma das raízes no mesmo plano de corte (a mesiovestibular ou a distovestibular) e cortes superficiais onde a polpa não estava integralmente presente. Além disto, em alguns animais as cristas ósseas que serviam como parâmetro para os contornos das raízes mesiovestibular e distovestibular apresentavam alturas muito baixas, devido a uma maior inclinação do corte no sentido vestibulolingual. Desta maneira, nos cortes sem estes parâmetros, os animais não foram submetidos à análise microscópica histomorfométrica, o que refletiu em um resultado estatístico não significativo para o Grupo Longitudinal (Tabela 3).

Além de uma maior padronização na confecção laboratorial dos cortes, as secções transversais se destacaram por possibilitarem visualizar, em um mesmo plano, todas as raízes do primeiro molar superior (Figura 6). A riqueza anatômica das raízes e a relação destas com o ligamento periodontal e osso circunjacente, possibilitou uma análise microscópica mais detalhada. A aplicação da análise microscópica histomorfométrica no Grupo Transversal não incorreu nas dificuldades encontradas no Grupo Longitudinal. Neste caso, na análise do Grupo Transversal, a altura das cristas não interferia na mensuração histomorfométrica destes cortes, pois a própria circunferência da raiz funcionava como referência na quantificação do percentual de reabsorção radicular.

Nos grupos Transversal e Longitudinal, a análise semiquantitativa para verificar a frequência de reabsorção radicular foi utilizada em todos os animais, já que, nesta análise, bastava constatar a presença ou não deste fenômeno nas raízes analisadas. Neste caso, não havia necessidade de mensurar as áreas de reabsorção radicular como na análise histomorfométrica. Desta maneira, as referências anatômicas utilizadas na histomorfometria, não influenciavam na análise semiquantitativa de reabsorção radicular. Nesta análise, nos cortes transversais e longitudinais, observou-se maior reabsorção na raiz distovestibular (DV), no 7º dia de movimentação dentária induzida (Tabelas 2 e 4).

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e considerando as limitações inerentes à metodologia, permite-se indicar secções transversais como melhor método para as análises histomorfométrica e semiquantitativa das reabsorções radiculares durante a movimentação dentária induzida em ratos. Este corte possibilitou visualizar a relação de todas as raízes do primeiro molar superior com os tecidos circunjacente e mostrou maior percentual de reabsorção radicular.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (04/12424-0). Agradecemos a histotécnica Sra. Fátima Aparecida Silveira, do serviço de Patologia, da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

REFERÊNCIAS

1. Reitan K. Effects of force magnitude and direction of tooth movement on different alveolar bone types *Angle Orthod.* 1964; 34: 244-255.
2. Brudvik P, Rygh P. Root resorption beneath the main hyalinized zone. *Eur J Orthod.* 1994; 16: 249-263.
3. Brezniak N, Wasserstein A. Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part II: the clinical aspects. *Angle Orthod.* 2002; 72:180-184.
4. Verna C, Hartig LE, Kalia S, Melsen B. Influence of steroid drugs on orthodontically induced tooth resorption. *Orthod Craniofacial Res.* 2006; 9: 57-62.
5. Meikle MC. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *Eur J Orthod.* 2006; 28: 221-240.
6. Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006; 129: 469.e1-469.e32.
7. Heller IJ, Nanda R. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on tooth movement: an experimental study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1979; 75: 239-258.
8. Bridges T, King G, Mohammed A. The effect of age tooth movement and mineral density in the alveolar tissues of the rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1988; 93: 245-250.

9. Ashizawa Y, Sahara N. Quantitative evaluation of newly formed bone in the alveolar wall surrounding the root during the initial stage of experimental tooth movement in the rat. *Arch Oral Biol.* 1998; 43: 473-484.
10. Verna C, Zaffe D, Siciliani G. Histomorphometric study of bone reactions during orthodontic tooth movement in rats. *Bone.* 1999; 24: 371-379.
11. Hatai T, Yokozeki M, Funato N, Baba Y, Moriyama K, Ichijo H, Kurona T. Apoptosis of periodontal ligament stress during tooth movement. *Oral Dis.* 2001; 7: 287-290.
12. Verna C, Melsen B. Tissue reaction to orthodontic tooth movement in different bone turnover conditions. *Orthod Craniofacial Res.* 2003; 6: 155-163.
13. Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. The rat as a model for orthodontic tooth movement – a critical review and a proposed solution. *Eur J Orthod.* 2004; 26: 483-490.
14. Santamaria M Jr, Milagres D, Stuani AS, Stuani MBS, Ruellas ACO. Initial changes in pulpal microvasculature during orthodontic tooth movement: a stereological study. *Eur J Orthod.* 2006; 28: 217-220.
15. Willians S. A histomorphometric study of orthodontically induced root resorption. *Eur J Orthod.* 1984; 6: 35-47.
16. Brudvik P, Rygh P. Root resorption after local injection of prostaglandin E₂ during experimental tooth movement. *Eur J Orthod.* 1991; 13: 255-263.
17. Leiker BJ, Nanda RS, Currier GF, Howes RI, Sinha PK. The effects of exogenous prostaglandins on orthodontic tooth movement in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1995; 108: 380-388.
18. King GJ, Archer L, Zhou D. Later orthodontic appliance reactivation simulates immediate appearance of osteoclasts and linear tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1998; 114: 692-697.

19. Nakanishi H, Seki Y, Kohno T, Muramoto T, Toda K, Soma K. Changes in Response Properties of Periodontal Mechanoreceptors After Experimental Orthodontic Tooth Movement in Rats. *Angle Orthod.* 2004; 74: 93–99.
20. Martins-Ortiz M F. Influência dos bisfosfonatos na movimentação dentária induzida, na frequência e nas dimensões das reabsorções radiculares associadas. Thesis. Universidade de São Paulo; 2004.
21. Waldo CM, Rothblatt JM. Histologic response to tooth movement in the laboratory rat. *J Dent Res.* 1954; 33: 481-486.
22. Macapanpan LC, Weinmann JP, Brodie AG. Early tissue changes following tooth movement in rats. *Angle Orthod.* 1954; 24: 79-95.
23. Yokoya K, Sasaki T, Shibasaki Y. Distributional changes of osteoclasts and pre-osteoclastic cells in periodontal tissues during experimental tooth movement as revealed by quantitative immunohistochemistry of H⁺-ATPase. *J Dent Res.* 1997; 76: 580-587.
24. Kim TW, Yoshida Y, Yokoya K, Sasaki T. An ultrastructural study of the effects of bisphosphonate administration on osteoclastic bone resorption during relapse of experimentally moved rat molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999; 115: 645-653.
25. Sato Y, Sakai H, Kobayashi Y, Shibasaki Y, Sasaki T. Bisphosphonate administration alters subcellular localization of vacuolar-type H⁺-ATPase and cathepsin K in osteoclasts during experimental movement os rat molars. *Anat Rec.* 2000; 260: 72-80.
26. Miyoshi K, Igarashi K, Saeki S, Shinoda H. Tooth movement and changes in periodontal tissue in response to orthodontic force in rats vary depending on the time of day the force is applied. *Eur J Orthod.* 2001; 23: 329-338.
27. Liu L, Igarashi K, Haruyama N, Saeki S, Shinoda H, Mitani H. Effects of local administration of clodronate on orthodontic tooth movement and root resorption in rats. *Eur J Orthod.* 2004; 26: 469-473.

28. Porter G. The norway rat (*Rattus norvegicus*). In: Lanne-Petter W et al, 3ed. *The UFAW handbook on the care and manegement of laboratory animals*. London: Livingstone; 1967: 353-390.
29. Lindskog S, Blomlof L, Hammarstrom L. Cellular colonization of denuded root surfaces in vivo: cell morphology in dentin resorption and cementum repair. *J Clin Periodontol*. 1987; 14: 390-395.
30. Tenorio D, Cruchley A, Hughes FJ. Immunocytochemical investigation of the rat cementoblast phenotype. *J Periodontal Res*. 1993; 28: 411-419.
31. Consolaro A. Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas. Dental Press. Maringá 2005.
32. Igarashi K, Mitani H, Adachi H, Shinoda H. Anchorage and retentive effects of a bisphosphonate (AHBuBP) on tooth movements in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1994; 106: 279-289.
33. Adachi H, Igarashi K, Mitani H, Shinoda H. Effects of topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on orthodontic tooth movement in rats. *J Dent Res*. 1994; 73: 1478-1484.
34. Igarashi K, Adachi H, Mitani H, Shinoda H. Inhibitory effect of topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on root resorption incident to orthodontic tooth movement in rats. *J Dent Res*. 1996; 75: 1644-1649.
35. Konoo T, Kim YJ, Gu GM, King GJ. Intermittent force in orthodontic tooth movement. *J Dent Res*. 2001; 80: 457-460.
36. Gaengler P, Merte K. Effects of force application on periodontal blood circulation: a vital microscopic study in rats. *J. Periodontal Res*. 1983; 18: 86-92.

Tabela 1 - Média e desvio padrão dos percentuais das áreas de reabsorção radicular no lado de pressão (P), no lado de tensão (T), de acordo com o período de movimentação dentária induzida e raízes analisadas no Grupo Transversal.

Média dos Percentuais das Áreas de Reabsorção Radicular no Grupo Transversal (%)								
RAÍZES	S/MDI n=5		3 Dias n=5		5 Dias n=5		7 Dias n=5	
	P	T	P	T	P	T	P	T
MV	0	0	0	0	0,03 ±0,10	0	0,11 ±0,27	0,09 ±0,22
INT	0	0	0,15 ±0,50	0,17 ±0,60	0,09 ±0,33	0	0,95 ±1,71	0
DV	0	0	0	0,10 ±0,24	0	0	1,38* ±1,25	0
ML	0	0	0	0,01 ±0,04	0	0,01 ±0,03	0,08 ±0,21	0
DL	0	0,29 ±0,46	0	0,09 ±0,25	0,05 ±0,18	0,01 ±0,03	0,65 ±1,72	0,51 ±0,95

* Nível de significância: p=.04

n: número de animais analisados em cada período de movimentação dentária induzida.

Tabela 2 - Frequência de reabsorção radicular nas raízes mesiovestibular (MV), distovestibular (DV) e distolingual (DL) por número total de molares analisados em cada período de movimentação dentária induzida, no Grupo Transversal.

Frequência de Reabsorção Radicular no Grupo Transversal											
S/MDI			3 dias			5 dias			7 dias		
MV	DV	DL	MV	DV	DL	MV	DV	DL	MV	DV	DL
0:5	0:5	1:5	0:5	1:5	1:5	1:5	0:5	1:5	1:5	4:5	3:5

Negrito = Maior frequência de reabsorção radicular.

Tabela 3 - Média e desvio padrão dos percentuais das áreas de reabsorção radicular, no lado de pressão (P) e no lado de tensão (T), de acordo com o período de movimentação dentária induzida e raízes analisadas no Grupo Longitudinal.

Média dos Percentuais das Áreas de Reabsorção Radicular no Grupo Longitudinal (%)								
RAÍZES	S/MDI n=3		3 Dias n=3		5 Dias n=3		7 Dias n=3	
	P	T	P	T	P	T	P	T
MV	0	0	0	0	0	0	0	0
DV	0	0	0	0	0,23 ±0,26	0	0,48 ±0,55	0

Não houve diferença estatística significante ($p>.05$)

n: número de animais analisados em cada período de movimentação dentária induzida.

Tabela 4 - Frequência de reabsorção radicular nas raízes mesiovestibular (MV), distovestibular (DV) por número total de molares analisados em cada período de movimentação dentária induzida, no Grupo Longitudinal.

Frequência de Reabsorção Radicular no Grupo Longitudinal							
S/MDI		3 Dias		5 Dias		7 Dias	
MV	DV	MV	DV	MV	DV	MV	DV
0:5	0:5	0:5	0:5	0:5	3:5	0:5	4:5

Negrito = Maior frequência de reabsorção radicular.

Figura 1 - Dispositivo ortodôntico instalado para a inclinação mesial do primeiro molar superior esquerdo, ancorado nos incisivos superiores, despendendo uma força de 75cN.

Figura 2 - (A) Área de dentina e cimento da raiz representada por toda a região delimitada externamente por uma linha contínua azul clara e por uma linha pontilhada azul escura e no perímetro mais interno da raiz, circunscrevendo a polpa, por uma segunda linha contínua azul. (B) Áreas de reabsorção radicular (*), no lado de pressão do ligamento periodontal, delimitadas internamente por uma linha contínua azul clara e externamente por uma linha pontilhada azul escura.

Figura 3 - Raízes mesiovestibular (à direita) e distovestibular (à esquerda) em corte longitudinal do primeiro molar superior com três dias de movimentação dentária induzida. O ponto **A** é o limite mesial do contorno externo da raiz mesiovestibular e localiza-se na altura da crista óssea mesial. O ponto **B** é o limite distal do contorno externo da raiz distovestibular e localiza-se na altura da crista óssea distal. A reta pontilhada separa as duas raízes e localiza-se paralela à reta que liga os pontos **E** e **F**. O ponto **C** localiza-se imediatamente abaixo da polpa e é coincidente com a reta pontilhada. O ponto **D** localiza-se na altura da crista óssea distal, na parede mesial da raiz distovestibular. O ponto **E** representa o ponto médio localizado entre os pontos **B** e **D**. O ponto **F** representa o ponto mais apical da raiz distovestibular.

Figura 4- (A) Limite superior do contorno externo da raiz distovestibular representado pela reta (verde) que uni o ponto **B** ao ponto **C**. Área de dentina e cimento da raiz representada por toda a região delimitada externamente por uma linha contínua azul clara e por uma linha pontilhada azul escura e no perímetro mais interno da raiz, circunscrevendo a polpa, por uma segunda linha contínua azul. A seta indica a área de reabsorção radicular. (B) Área de reabsorção radicular (*), no lado de pressão do ligamento periodontal, delimitada internamente por uma linha contínua azul clara e externamente por uma linha pontilhada azul escura.

Figura 5 - (A) Linhas vermelhas pontilhadas ilustrando a direção dos cortes transversais no terço cervical da raiz do primeiro molar superior. **(B)** Linhas vermelhas pontilhadas ilustrando a direção dos cortes longitudinais no longo eixo das raízes mesiovestibular (MV) e distovestibular (DV) do primeiro molar superior.

Figura 6 - (A) Corte transversal da maxila do rato no terço cervical das raízes do primeiro molar superior esquerdo. **(B)** Raízes mesiovestibular (MV), intermediária (INT), distovestibular (DV), mesiolingual (ML) e distolingual (DL). Notam-se as diferentes formas e volumes das raízes do primeiro molar.

5 Capítulo III

Movimentação dentária experimental em murinos: período de observação e plano dos cortes microscópicos

RESUMO

O trabalho tem por finalidade explicitar aspectos microscópicos relevantes da movimentação dentária induzida em murinos quanto aos: 1. diferentes períodos de observação e 2. planos dos cortes microscópicos transversais e longitudinais. Os estudos experimentais sobre a movimentação dentária induzida em murinos variam quanto aos períodos e planos de cortes microscópicos, mesmo os trabalhos que utilizam especificamente o modelo de Heller e Nanda em 1979. Para contribuir: 1. na escolha do melhor *design* experimental de movimentação dentária induzida em murinos em futuros trabalhos, e 2. no aperfeiçoamento dos critérios de análise por outros pesquisadores, propusemo-nos a publicar este artigo. Empregaram-se 50 ratos machos, Wistar, com 90 dias de vida, submetidos à movimentação dentária induzida por períodos de 3, 5, 7 e 9 dias. Utilizou-se movimento de inclinação mesial no primeiro molar superior esquerdo, com uma força equivalente a 75cN. A análise microscópica qualitativa avaliou os fenômenos teciduais e celulares decorrentes da movimentação dentária induzida, nos diferentes períodos de observação e entre os cortes microscópicos transversais e longitudinais. Dos fenômenos observados, as áreas hialinas tiveram expressão máxima no período de cinco dias e as reabsorções radiculares apresentaram-se exuberantes e bem demarcadas no período de nove dias. Nos dois fenômenos, as raízes mais afetadas foram as distais, especialmente a raiz distovestibular. Mediante o delineamento proposto, podem-se sugerir períodos de análise de 5 a 9 dias e cortes microscópicos transversais para futuros trabalhos nesta linha de pesquisa.

Palavras-chave: Movimentação dentária induzida. Reabsorção óssea. Reabsorção radicular.

Experimental tooth movement in murines: study period and direction of microscopic sections

ABSTRACT

This study aims to elucidate the relevant microscopic aspects of induced tooth movement in murines with regard to: 1. different study periods; and 2. transverse and longitudinal directions of microscopic sections. Experimental studies on induced tooth movement in murines use variable study periods and directions of microscopic sections, including those studies that specifically use the model adopted by Heller and Nanda in 1979. This manuscript was prepared in order to contribute to: 1. selection of the best study design for future studies on induced tooth movement in murines, and 2. improve the analysis criteria to be used by other investigators. The study was conducted on 50 male Wistar rats aged 90 days, submitted to induced tooth movement for periods of 3, 5, 7 and 9 days. The maxillary left first molar was submitted to mesial inclination by application of 75cN of force. Qualitative microscopic analysis evaluated the tissue and cellular phenomena secondary to induced tooth movement, at the different study periods and on transverse and longitudinal sections. Among the phenomena investigated, hyaline areas of periodontal ligament were mostly observed at five days, and root resorptions were remarkable and well delineated at nine days. Both phenomena affected mainly the distal roots, especially the distobuccal root. Considering the present objective, study periods of 5 to 9 days and transverse microscopic sections may be suggested for future studies on this subject.

Keywords: Induced tooth movement. Bone resorption. Root resorption.

INTRODUÇÃO

O presente trabalho tem por finalidade explicitar aspectos microscópicos relevantes da movimentação dentária induzida em murinos quanto aos: 1. diferentes períodos de observação e 2. planos dos cortes microscópicos transversais e longitudinais.

Os estudos experimentais sobre a movimentação dentária induzida em murinos variam quanto aos períodos e planos de cortes microscópicos, mesmo naqueles trabalhos que utilizam especificamente o modelo de Heller e Nanda em 1979¹⁴. Para contribuir: 1. na escolha do melhor *design* experimental de movimentação dentária induzida em murinos em futuros trabalhos, e 2. no aperfeiçoamento dos critérios de análise por outros pesquisadores, propusemo-nos a publicar este artigo.

A utilização de estudos experimentais em animais tem como objetivo verificar as alterações dos tecidos periodontais nos dentes envolvidos e obter o deslocamento dentário. A definição mais apropriada para este tipo de deslocamento é o movimento dentário induzido⁶.

Os estudos microscópicos pioneiros referentes à movimentação dentária induzida datam de 1901 e 1911, respectivamente, com os trabalhos experimentais de SANDSTEDT²⁸ em cães e, de OPPENHEIM²⁴ em macacos. Neste período, os autores analisavam as reações biológicas dos tecidos periodontais nos dentes movimentados, simulando o movimento dentário em modelos experimentais.

Até meados da década de 50 poucos trabalhos empregavam roedores em experimentos de movimentação dentária induzida. Cães e macacos eram os animais de escolha nos estudos microscópicos da biologia do movimento dentário induzido. Na época, justificava-se a utilização destes animais principalmente por razões técnicas, considerando o fato de que seus dentes eram mais próximos do tamanho dos dentes humanos e, por isto, forças comumente utilizadas na clínica ortodôntica poderiam ser facilmente empregadas nestes experimentos¹⁸.

Com a evolução nos estudos experimentais, inúmeros trabalhos, senão a maioria destes emprega ratos no movimento dentário induzido^{21,22,27,29,33}. Estes animais

oferecem algumas vantagens, dentre elas, manutenção com menor custo quando comparada aos primatas, gatos e cães e emprego em larga escala devido ao curto período de procriação e ninhadas com vários filhotes²⁷.

A biologia da movimentação dentária induzida tem seus aspectos morfológicos microscópicos repetidamente descritos em vários artigos, teses e livros^{2,5,7,8,13,14,21,23,25,32,33,35,36}. Ao microscópio óptico, as modificações biológicas são observadas no ligamento periodontal, no osso alveolar e nas raízes dos dentes movimentados. Dentre elas estão as áreas hialinas do ligamento periodontal, as reabsorções ósseas frontal e a distância e as reabsorções nas raízes dos dentes movimentados. Notam-se também alterações morfológicas e quantitativas das células clásticas no ligamento periodontal e em meio ao osso alveolar. No ligamento, estas alterações ocorrem principalmente nas lacunas de Howship, tanto na periferia do osso alveolar, quanto na periferia das raízes do dente movimentado. Em meio ao osso, as alterações ocorrem nas lacunas de Howship, no interior dos espaços medulares.

A biologia da movimentação dentária induzida modifica-se por uma série de condicionantes, por exemplo, a intensidade de força, o tipo de movimento, o período de observação, os dentes envolvidos, a morfologia radicular e da crista óssea, o plano dos cortes microscópicos e a influência de medicamentos^{9,16,19,20,21,31,34}.

Considerando as modificações biológicas referentes à movimentação dentária induzida e as condicionantes que alteram a biologia do movimento dentário, empregou-se o modelo experimental em ratos e a análise microscópica qualitativa para avaliar os fenômenos teciduais e celulares da movimentação dentária induzida em diferentes períodos de observação e nos planos dos cortes microscópicos transversais e longitudinais.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Delineamento experimental: distribuição dos animais

O estudo empregou 50 ratos machos, albinos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), com 90 dias de vida, pesando em média 300g. Os animais foram

distribuídos considerando-se as duas condicionantes avaliadas: período de observação e plano dos cortes microscópicos, como mostra o Quadro 1.

Quadro 1 - Distribuição dos animais por período de observação (0, 3, 5, 7 e 9 dias) e plano dos cortes microscópicos (transversal e longitudinal).

Cortes Períodos	Transversal	Longitudinal
0	5	5
3	5	5
5	5	5
7	5	5
9	5	5
TOTAL	25	25

2. Delineamento experimental: aparelho e intensidade de força

Utilizou-se inclinação mesial do primeiro molar superior esquerdo, empregando um dispositivo ortodôntico construído de acordo com Heller e Nanda em 1979¹⁴ e modificado por Martins-Ortiz em 2004²¹.

O *design* do aparelho constituiu-se de uma mola de aço inoxidável fechada de 4mm de comprimento. Esta mola foi amarrada no primeiro molar superior esquerdo com fio amarelo de 0,14mm de diâmetro, e então distendida 2mm, despendendo uma força de 75cN, sobre o primeiro molar superior esquerdo, medida e padronizada previamente com dinamômetro ortodôntico. Em seguida, a mola foi amarrada aos incisivos superiores com fio de amarelo de 0,25mm de diâmetro (Figura 1). Os incisivos e o fio de amarelo foram protegidos com resina composta quimicamente ativada de uso ortodôntico.

3. Delineamento experimental: dente movimentado

O primeiro molar superior do rato pode apresentar de 4 a 6 raízes, na maioria das vezes, cinco raízes, denominadas: mesiovestibular (MV), a mesiolingual (ML), intermediária vestibular (INT), distovestibular (DV) e distolingual (DL) (Figura 2). Considerando a presença das raízes, podem-se classificar a mesiovestibular, a distovestibular e a distolingual como raízes estáveis, enquanto a mesiolingual e a intermediária como raízes instáveis. A raiz mesiolingual geralmente está ausente nos molares com quatro raízes, enquanto uma segunda raiz intermediária está presente na lingual, nos molares de seis raízes.

A forma e o volume das raízes deste dente variam entre si. As raízes mesiais são maiores e mais volumosas que as distais (Figura 2). Além disto, a forma das raízes, analisando-as longitudinalmente ao longo do terço cervical, médio e apical, é semelhante a uma clava (especialmente a mesiovestibular) (Figura 3). Isto decorre da grande deposição de cemento no terço apical destas raízes.

Em cortes longitudinais, o primeiro molar superior do rato tem a forma semelhante a um trapézio, que é formado pelas retas tangentes às faces mesial, distal, mais as retas tangentes aos ápices e às cúspides deste dente.

Em cortes transversais, este dente também se apresenta com a forma de um trapézio. Neste caso, esta figura geométrica é formada pelas retas vestibular (tangente à face vestibular das raízes mesiovestibular, intermediária e distovestibular), lingual (tangente à face lingual das raízes distolingual, mesiolingual e intermediária, quando presente), mesial (tangente à face mesial das raízes mesiovestibular e mesiolingual) e distal (tangente à face distal das raízes distovestibular e distolingual).

4. Delineamento experimental: critérios qualitativos morfológicos para a análise microscópica

Os aspectos microscópicos da movimentação dentária induzida foram analisados no ligamento periodontal, no osso alveolar e nas raízes do primeiro molar, nos lados de pressão e tensão.

Nos cortes longitudinais a análise ocorreu nas raízes mesiovestibular e distovestibular. Nos cortes transversais a análise ocorreu nas raízes mesiovestibular (MV), mesiolingual (ML), intermediárias (INTs), distovestibular (DV) e a distolingual (DL).

A avaliação microscópica empregada foi qualitativa e consideraram-se os fenômenos teciduais e celulares decorrentes do movimento dentário induzido. Dentre estes fenômenos estão:

- A. Áreas hialinas do ligamento periodontal;
- B. Células clásticas;
- C. Reabsorção óssea frontal;
- D. Reabsorção óssea a distância;
- E. Reabsorção radicular;
- F. Distensão das fibras do ligamento periodontal.

A. Áreas hialinas do ligamento periodontal

A força aplicada no dente durante a movimentação dentária induzida comprime os vasos do ligamento periodontal, gera hipóxia¹⁰ e, conseqüentemente, fuga e/ou morte celular. A matriz extracelular altera a relação bioquímica e organizacional dos seus componentes (peptideoglicanas, glicoproteínas, fibras colágenas e elásticas), resultando em áreas de maior concentração protéica, com união de densos feixes de fibras colágenas. Isto resulta em áreas microscopicamente pobres em células e de aspecto eosinofílico homogêneo (fosco, do tipo vidro despolido), denominadas de áreas hialinas da matriz extracelular (Figura 4).

B. Células clásticas

A força aplicada para a movimentação dentária induzida comprime os vasos da microcirculação local, gera hipóxia e, conseqüentemente, morte celular¹⁰. Na morte celular há desintegração celular e tecidual, gerando especialmente proteínas livres que

desencadearão fenômenos vasculoexsudativos próprios do processo inflamatório. Os elementos plasmáticos derivados do exsudato inflamatório, principalmente, os derivados do ácido araquidônico, citocinas e fatores de crescimento induzirão a osteoclasia no local.

A presença da plasmina induz os osteoblastos justapostos na superfície óssea alveolar a produzirem collagenases. Estas enzimas irão digerir o tecido osteóide que protege a superfície óssea. Conseqüentemente, os cristais de hidroxiapatita ficam expostos e exercerão efeito quimiotático para as células clásticas, que irão se instalar na superfície óssea desnuda. Estas células podem ser mononucleadas ou multinucleadas²⁶. As células clásticas multinucleadas têm em média sete núcleos, podendo apresentar até 15 núcleos e, geralmente, apresentam-se microscopicamente próximas a vasos sanguíneos (Figura 5).

Simultaneamente, os produtos do ácido araquidônico, em especialmente a prostaglandina E₂, interagem com os receptores de membrana dos osteoblastos na superfície óssea e induzem a contração do citoesqueleto destas células¹¹. A redução do volume dos osteoblastos abre espaços entre estas células e expõe o tecido osteóide que recobre a superfície óssea ao meio tecidual. O tecido exposto é envolvido pelo exsudato e infiltrado inflamatório, ricos em enzimas proteolíticas. As condições locais, como o pH ácido, levam ao deslocamento dos osteoblastos da superfície óssea.

Desta maneira, a associação da collagenase liberada pelos osteoblastos com a collagenase do exsudato inflamatório promove a perda de uma extensa área de tecido osteóide, expondo ainda mais a superfície óssea à ação das células clásticas e indiretamente promovendo efeito quimiotático para estas células, devido à exposição dos cristais de hidroxiapatita.

Além disto, os produtos derivados do exsudato inflamatório, como citocinas, fatores de crescimento e prostaglandinas interagem nos receptores específicos na membrana dos osteoblastos e macrófagos. Esta interação induz a mobilização de mais células clásticas para a superfície óssea exposta.

O conjunto celular constituído por células clásticas, osteoblastos e macrófagos constitui as unidades de reabsorção ou osteorremodeladoras (do inglês Bone Modelling Units – BMUs), responsáveis pela reabsorção do tecido mineralizado ¹.

C. Reabsorção óssea frontal

A reabsorção óssea na superfície da cortical alveolar, nas áreas submetidas à pressão, que aparece frontalmente ao local de aplicação da força no ligamento periodontal, pode ser identificada como reabsorção óssea frontal ou direta (Figura 6). Esta reabsorção ocorre quando a força é moderada e gera o mínimo de áreas hialinas no ligamento periodontal.

Na reabsorção óssea frontal, não se observam alterações significantes na organização dos cementoblastos da superfície radicular e raramente ocorre exposição do cimento na raiz.

Microscopicamente há inúmeras lacunas de Howship na periferia da cortical óssea ora com células clásticas mononucleadas, ora com células clásticas multinucleadas.

D. Reabsorção óssea a distância

Quando a força aplicada ao dente é de grande intensidade, pode haver o colapso dos vasos sanguíneos do ligamento periodontal e ausência de oxigênio local (anoxia)¹⁰. Conseqüentemente, ocorrerá morte celular, migração de células e extensas áreas hialinas se formarão no local. A presença de áreas hialinas constitui um fenômeno indesejável, pois atrasa a movimentação dentária induzida. Estes elementos necessitam ser fagocitados, antes de haver a reposição celular por novas células migrantes das áreas vizinhas do ligamento periodontal.

A reorganização do ligamento periodontal e mesmo da superfície óssea alveolar está diretamente relacionada à atividade dos macrófagos durante a remoção dos restos celulares, em especial da matriz extracelular hialinizada. Durante a fagocitose, os macrófagos liberam citocinas e fatores de crescimento, exercendo quimiotaxia para as

células mesenquimais, células endoteliais, fibroblastos e osteoblastos, efetivando também estímulos à proliferação e síntese por parte destas células.

Os eventos inflamatórios começam a ocorrer ao redor das áreas hialinas, na periferia da área de pressão. As células clásticas iniciam a reabsorção óssea na superfície cortical periférica às áreas hialinas e nos espaços medulares adjacentes a estas áreas hialinas. Esta reabsorção vai solapando a parte óssea em contato com o seguimento hialino. Neste caso haverá dissipação e alívio do estresse mecânico, devido à descompressão do ligamento periodontal.

Microscopicamente, inúmeras lacunas de Howship estarão preenchidas por células clásticas, nos espaços medulares do osso alveolar e na cortical óssea, na periferia das áreas hialinas (Figura 7).

E. *Reabsorção radicular*

Concomitantemente à reabsorção óssea a distância pode haver reabsorção dentária associada. O excesso de força gera compressão dos vasos sanguíneos do ligamento periodontal e ausência de oxigênio no local, provocando a morte dos cementoblastos. Estas células formam a camada cementoblástica, que reveste a superfície radicular.

A resistência da superfície radicular à reabsorção resulta da propriedade dos cementoblastos não apresentarem, na sua membrana celular, receptores aos mediadores estimuladores da reabsorção óssea^{17,30}.

Para que ocorra a reabsorção radicular, previamente deve haver perda da camada cementoblástica. Mediante a isto, a superfície radicular fica desnuda e exposta à ação das células clásticas que respondem aos mediadores da reabsorção.

Microscopicamente, este fenômeno biológico é identificado pela presença de lacunas de Howship na superfície cementária, podendo atingir a camada dentinária, com presença ou não de células clásticas no interior. A área da superfície radicular no local apresenta perda da camada cementoblástica e exposição direta do tecido cementário e dentinário à ação reabsortiva das células clásticas (Figura 8).

F. Distensão das fibras do ligamento periodontal

As fibras do ligamento periodontal, nos lados de tensão, são estiradas (Figura 9) e os vasos sanguíneos parcialmente colabados durante a movimentação dentária induzida. As células são discretamente deformadas e há pequena redução na oxigenação local.

Os mediadores químicos aumentam em pequenos níveis e estimulam a aposição óssea nestas áreas. Microscopicamente, observa-se aumento da matriz osteóide no lado de tensão e reinserção das fibras locais.

Mediante forças excessivas, notam-se também áreas de reabsorção radicular e óssea nos locais de estiramento das fibras periodontais. Isto ocorre porque há o rompimento das fibras do ligamento periodontal, aumento nos níveis de mediadores ligados à inflamação e, conseqüente desencadeamento dos fenômenos reabsortivos.

5. Delineamento experimental: períodos de observação

Os períodos de observação empregados para a movimentação dentária induzida foram 3, 5, 7 e 9 dias. A análise microscópica qualitativa desta condicionante foi realizada em cortes transversais e longitudinais. Apesar de estudos pilotos mostrarem que o intervalo de 3 a 7 dias trouxe resultados comparativamente significantes entre as variáveis estudadas, neste trabalho implementou-se o período de nove dias, com o objetivo de certificar se neste período as reabsorções apresentam-se morfologicamente melhor delineadas, principalmente no que se refere às reabsorções radiculares.

6. Delineamento experimental: plano dos cortes microscópicos

Os planos de corte empregados na análise microscópica foram os longitudinais e os transversais. A análise microscópica qualitativa desta condicionante foi realizada comparando-se os cortes transversais e longitudinais, dentro do mesmo período de observação. Em um único plano de corte longitudinal pôde-se visualizar integralmente apenas duas raízes, em geral, a mesiovestibular (MV) e a distovestibular (DV)^{7,21,23,25,32} (**Figura 3**). No entanto, o plano de corte transversal possibilitaria visualizar todas as

raízes do primeiro molar superior simultaneamente (Figura 2). Esta característica associada à riqueza de detalhes anatômicos das raízes, ligamento periodontal e osso alveolar circunjacente e a maior facilidade de padronização na fase laboratorial dos cortes poderiam fazer das secções transversais as ideais para a análise microscópica da movimentação dentária induzida em murinos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Sobre o delineamento experimental: aparelho, intensidade de força e dente movimentado

O emprego de molas fechadas para inclinação mesial do primeiro molar superior possibilitou modificar a posição deste dente no alvéolo, por meio de fenômenos de reabsorção e de aposição óssea no ligamento periodontal. Neste modelo experimental, o real sentido da força está voltado para anterior, em direção à linha média, já que a ancoragem ocorre nos incisivos. A anatomia local possibilita um movimento dentário com pouca deflexão óssea, evitando, por exemplo, fraturas ósseas durante a movimentação. A maior espessura óssea na região mesiolingual pode explicar a menor deflexão observada durante a movimentação neste modelo experimental.

A inclinação mesial do primeiro molar superior com ancoragem nos incisivos superiores possibilita um movimento de inclinação efetivo^{3,14,15,21} já que os incisivos apresentam raízes curvas, longas e volumosas. Estas características fazem com que estes dentes possuam uma grande base de implantação óssea, conferindo-lhes boa ancoragem durante a inclinação mesial do primeiro molar.

O primeiro molar do rato é aproximadamente 50 vezes menor que o molar humano²⁷. Extrapolando esta proporção, uma força de 75cN em ratos corresponderia a aproximadamente 3.750cN em humanos. Clinicamente, esta força seria altíssima e provocaria reabsorções exuberantes no osso e nos dentes humanos. Desta maneira, a força aplicada no experimento não seria ideal para a clínica ortodôntica.

Considerando que o objetivo do trabalho é observar os aspectos microscópicos da movimentação dentária induzida com uma força contínua, em um período curto, de 3 a 9 dias, a utilização de uma força de 75cN para o experimento é pertinente. O estudo não evitou fenômenos biológicos exuberantes nos tecidos analisados. Ao contrário da clínica, o trabalho necessita da presença destes fenômenos para estudar algumas condicionantes que alterem as características microscópicas dos tecidos.

O dente ideal para o estudo experimental de movimentação dentária induzida em ratos, utilizando-se o movimento de inclinação mesial, é o primeiro molar superior. Este dente não apresenta rizogênese contínua e suas raízes não estão próximas das raízes dos incisivos superiores murinos. Estas características anatômicas favorecem a movimentação dentária induzida neste dente e o colocam em vantagem em relação aos incisivos, que apresentam rizogênese contínua, e aos molares inferiores, que podem sofrer interferência das raízes dos incisivos inferiores durante a inclinação mesial, por estarem muito próximos.

A diferença na forma e no volume das raízes do primeiro molar superior teve influência direta na distribuição da força utilizada no movimento. As raízes mesiais, que são maiores e mais volumosas que as distais, os fenômenos biológicos mostraram-se moderados. Nas raízes distais, que são menores e menos volumosas, estes fenômenos revelaram-se intensos. Portanto, neste modelo experimental, uma única força aplicada ao dente mostrou microscopicamente fenômenos biológicos intensos nas raízes distais e moderados nas raízes mesiais.

Com a aplicação da força, dois lados nas raízes foram mais afetados, o lado mesial da raiz mesiovestibular e o lado mesial da raiz distovestibular. Em ambas as raízes houve maior incidência de força no terço cervical, já que neste local o volume radicular é menor. Isto ajuda a explicar os fenômenos mais exuberantes encontrados no terço cervical deste dente. No entanto, o maior tamanho da raiz mesiovestibular permite melhor dissipação da força, de maneira que, mesmo na região cervical, os fenômenos biológicos encontrados foram moderados.

As raízes distais deslocaram-se a uma distância maior dentro do alvéolo que as raízes mesiais. As fibras periodontais, no lado de tensão, mostraram-se marcadamente

estiradas, principalmente nos períodos de 5, 7 e 9 dias. Isto ocorreu, provavelmente, pelo menor volume das raízes distais e pela maior distância destas raízes do local de incidência direta da força. As características anatômicas e a localização das raízes distais ajudam a explicar os fenômenos intensos microscopicamente observados no lado de pressão.

2. Sobre o delineamento experimental: critérios qualitativos morfológicos para a análise microscópica nos períodos de observação

Semelhante aos trabalhos de Yokoya et al. em 1997³⁷ e Martins-Ortiz em 2004²¹, nos molares com três dias de movimentação dentária induzida, os fenômenos biológicos mostraram-se menos marcantes que nos demais períodos analisados.

Nos molares com 3 e 5 dias de observação, a análise microscópica revelou reabsorção óssea frontal, no lado de pressão da raiz mesiovestibular. A superfície do osso alveolar apresentou pequenas lacunas de Howship com células clásticas. Nos molares com 7 e 9 dias, a superfície óssea periodontal no lado de pressão da raiz mesiovestibular mostrou lacunas sem células clásticas e reparadas por neoformação da matriz óssea.

Nos molares com três dias de movimentação, observaram-se áreas hialinas no ligamento periodontal e discreta reabsorção óssea a distância no lado de pressão das raízes intermediária, distovestibular e distolingual. Além disto, notou-se ligeiro estiramento das fibras periodontais no lado de tensão, em todas as raízes. Não se observaram áreas de reabsorção nas raízes analisadas no período de três dias.

Nos molares com cinco dias de movimentação, os fenômenos observados mostraram-se semelhantes aos do período de três dias, porém mais evidentes, principalmente no que se referia às áreas hialinas. Dos cinco molares analisados neste período, apenas dois apresentaram áreas pontuais e discretas de reabsorção radicular.

Conforme os trabalhos de Hamaya et al. em 2002¹² e Martins-Ortiz em 2004²¹, aos sete dias as áreas hialinas mostraram-se reduzidas (Figura 10B) e em franco processo de fagocitose pelos macrófagos, células da linhagem hematopoiética

responsáveis pela remoção do tecido hialinizado⁴. Estas áreas foram observadas no lado de pressão das raízes intermediária, distovestibular e distolingual, em todos os molares analisados neste período. Semelhante a Martins-Ortiz²¹, as células clásticas apresentaram-se nas lacunas de Howship da cortical óssea alveolar, na periferia das áreas hialinização⁴ (Figura 10B). Este fenômeno ocorreu no lado de pressão das raízes intermediária, distovestibular, distolingual e caracterizou uma acentuada reabsorção óssea a distância, em todos os molares analisados. Nestas mesmas raízes, as reabsorções revelaram-se marcantes no lado de pressão. Dos cinco molares analisados, dois não mostraram células clásticas no interior das lacunas de Howship nas áreas de reabsorção radicular. Neste período, notou-se acentuado estiramento das fibras periodontais, no lado de tensão em todas as raízes analisadas.

Nos molares com nove dias de movimentação, os achados microscópicos foram semelhantes aos de sete dias, com destaque para as reabsorções radiculares, que se mostraram mais exuberantes e bem demarcadas (Figura 11B).

Os fenômenos biológicos que sofreram maiores variações entre os períodos de observação foram as áreas hialinas do ligamento periodontal e as reabsorções radiculares, ambas no lado de pressão. As áreas hialinas tiveram expressão máxima no período de cinco dias (Figura 10) e as reabsorções radiculares apresentaram-se exuberantes e bem demarcadas no período de nove dias (Figura 11). Nos dois fenômenos as raízes mais afetadas foram as distais, especialmente a raiz distovestibular.

3. Sobre o delineamento experimental: critérios qualitativos morfológicos para a análise microscópica nos planos dos cortes microscópicos

Os cortes longitudinais revelaram o longo eixo das raízes mesiovestibular e distovestibular. Não foi possível visualizar mais que duas raízes neste corte. Em uma única secção, pôde-se notar o volume das raízes mesiovestibular e/ou distovestibular no sentido ocluso-apical. Neste sentido, pôde-se também observar o ligamento periodontal e o osso alveolar.

Os cortes transversais revelaram a circunferência e o volume de todas as raízes do primeiro molar superior. Neste corte, obteve-se a relação de todas as raízes com o ligamento periodontal e o osso alveolar.

A análise microscópica comparativa dos cortes transversais e longitudinais foi realizada nas raízes mesiovestibular e distovestibular, já que em cortes longitudinais somente estas raízes estavam presentes.

A análise comparativa da raiz distovestibular mostrou, em secções longitudinais, áreas hialinas mais extensas no longo eixo da raiz, principalmente nos terços cervical e médio. Em cortes transversais, este fenômeno biológico apresentou-se de maneira expressiva no perímetro da raiz distovestibular, ao longo da circunferência desta raiz.

A análise comparativa na raiz distovestibular também revelou, em cortes transversais, áreas mais extensas de reabsorção radicular. Este achado microscópico provavelmente ocorreu porque no terço cervical a força atua mais intensamente e provavelmente se distribui por toda circunferência radicular, principalmente do lado de pressão. O corte que permite melhor visualização do perímetro radicular é o transversal.

Na fase laboratorial, a confecção dos cortes transversais permitiu uma melhor padronização do plano de corte em relação às secções longitudinais. Além desta vantagem, este corte também facilita a análise histomorfométrica, conforme demonstrado por Fracalossi et al. em 2007*. Estes autores mostraram que na histomorfometria o percentual de reabsorção radicular, em cortes transversais, foi maior e revelou resultados estatisticamente significantes, em relação aos cortes longitudinais. O resultado foi atribuído à dificuldade de obter, em um plano de corte, o longo eixo das raízes mesiovestibular e distovestibular e, conseqüentemente, à dificuldade na obtenção dos parâmetros necessários para a análise histomorfométrica, por exemplo, altura das cristas e presença integral da polpa radicular.

* Trabalho enviado para publicação: Estudo comparativo das reabsorções radiculares em cortes transversais e longitudinais durante a movimentação dentária induzida em ratos.

CONCLUSÃO

O delineamento dos aspectos microscópicos da movimentação dentária induzida em ratos, considerando as condicionantes avaliadas, permite sugerir, aos próximos trabalhos desta mesma linha de pesquisa, períodos de observação de 5 a 9 dias, já que aos três dias, os fenômenos mostraram-se discretos e semelhantes ao período de cinco dias.

Verificou-se que a secção ideal para a análise simultânea das raízes e tecidos periodontais circunjacentes, em ratos, é a transversal. Considerando as reabsorções radiculares como um dos fenômenos de maior interesse no estudo da movimentação dentária induzida, e que este fenômeno mostrou-se mais exuberante em secções transversais, sugerem-se estas secções como cortes de escolha nestes tipos de trabalhos experimentais.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (04/12424-0). Agradecemos a histotécnica Sra. Fátima Aparecida Silveira, do serviço de Patologia, da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

REFERÊNCIAS

1. ARNETT, T. R.; DEMPSTER, D. W. Effect of pH on bone resorption by rat osteoclasts in vitro. **Endocrinology**, Springfield, v. 119, n. 1, p. 119-124, July 1986.
2. ASHIZAWA Y.; SAHARA N. Quantitative evaluation of newly formed bone in the alveolar wall surrounding the root during the initial stage of experimental tooth movement in the rat. **Arch Oral Biol**, v. 43, n. 6, p. 473-484, Jun. 1998.
3. BRIDGES, T. et al. The effect of age on tooth movement and mineral density in the alveolar tissues of the rat. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 93, n. 3, p. 245-250, Mar. 1988.

4. BRUDVIK, P.; RYGH, P. Non-clast cells start orthodontic root resorption in the periphery of hyalinized zones. **Eur J Orthod**, London, v. 15, n. 6, p. 467-480, Dec.1993.
5. CONSOLARO, A. Biologia da movimentação dentária: princípios básicos aplicados à clínica. In: INTERLANDI, S. (Coord.). **Ortodontia: bases para a iniciação**. 4. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1999. cap. 21, p. 435-449.
6. CONSOLARO, A. **Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas**. 2. ed. Maringá: Dental Press, 2005.
7. CONSOLARO, R. B. **Análise do complexo dentinopulpar em dentes submetidos à movimentação dentária induzida em ratos**. 2005. 138 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2005.
8. CUOGHI, O. A. **Avaliação dos primeiros momentos da movimentação dentária induzida: estudo microscópico em macacos da espécie *Cebus apella***. 1996. 138 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1996.
9. FURQUIM, L. Z. **Perfil endocrinológico de pacientes ortodônticos com e sem reabsorções dentárias: correlação com a morfologia radicular e da crista óssea alveolar**. 2002. 122 f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2002.
10. GAENGLER, P.; MERTE, K. Effects of force application on periodontal blood circulation: a vital microscopic study in rats. **J Periodontal Res**, Copenhagen, v. 18, n. 1, p. 86-92, Jan. 1983.
11. GRUBER, H. E. Bone and the immune system. **Proc Soc Exp Biol Med**, Malden, v. 197, n. 3, p. 219-225, July 1991.
12. HAMAYA M. et al. Cell death of osteocytes occurs in rat alveolar bone during experimental tooth movement. **Calcif Tissue Int**, v. 70, n. 2, p. 117-126, Feb. 2002.

13. HATAI T. et al. Apoptosis of periodontal ligament cells induced by mechanical stress during tooth movement. **Oral Dis**, v. 7, n.5, p. 287-290, Sep. 2001.
14. HELLER, I. J.; NANDA, R. Effect of metabolic alteration of periodontal fiber on orthodontic movement: an experimental study. **Am. J. Orthod**, St. Louis, v. 75, n. 3, p.239-257, Mar. 1979.
15. KONOO T. et al. Intermittent force in orthodontic tooth movement. **J Dent Res**, Chicago, v. 80, n. 2, p. 457-460, Feb. 2001.
16. KRISHNAN V.; DAVIDOVITCH Z. The effect of drugs on orthodontic tooth movement. **Orthod Craniofac Res**, Oxford, v. 9, n. 4, p. 163-171, Nov. 2006.
17. LINDSKOG, S.; BLOMLÖF, L.; HAMMARSTRÖM, L. Cellular colonization of denuded root surfaces in vivo: cell morphology in dentin resorption and cementum repair. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 14, n. 7, p. 390-395, Aug. 1987.
18. MACAPANPAN, L. C.; WEINMANN J. P.; BRODIE A. G. Early tissue changes following tooth movement in rats. **Angle Orthod**, Appleton, v. 24, n. 2, p. 79-95, Apr. 1954.
19. MALMGREN, O. et al. Root resorption after orthodontic treatment traumatized teeth. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 82, n. 6, p. 487-491, Dec. 1982.
20. MALTHA, J. C. et al. Incidence and severity of root resorption in orthodontically moved premolars in dogs. **Orthod Craniofac Res**, Oxford, v. 7, n. 2, p.115-121, May 2004.
21. MARTINS-ORTIZ M. F. **Influência dos bisfosfonatos na movimentação dentária induzida, na frequência e nas dimensões das reabsorções radiculares associadas**. 2004. 191 f. Tese (Doutorado Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2004.
22. MAVRAGANI M.; BRUDVIK P.; SELVIG K. A. Orthodontically induced root and alveolar bone resorption: inhibitory effect of systemic doxycycline

- administration in rats. **Eur J Orthod**, London, v. 27, n. 3, p. 215-225, Jun. 2005.
23. MAZZIEIRO, E. T. **Bisfosfonato e movimentação dentária induzida: avaliação microscópica de seus efeitos**. 1999. 154 f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1999.
24. OPPENHEIM, A. Tissue changes, particularly of the bone incident to tooth movement. **Am J Orthod**, St. Louis, v.3, n. 2, p.57-67, Oct. 1911.
25. PEREIRA, A. C. **Influência da gravidez e dos anticoncepcionais na reabsorção radicular e na remodelação óssea, consequente à movimentação dentária induzida: avaliação microscópica**. 1995. 141 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1995.
26. PIERCE, A. M.; LINDSKOG S.; HAMMARSTRÖM L. et al. Osteoclasts: structure and function. **Electron Microsc Rev**, Oxford, v. 4, n. 1, p. 1-45, 1991.
27. REN Y.; MALTHA J. C.; KUIJPERS-JAGTMAN A. M. The rat as model for orthodontic tooth movement - a critical review and a proposed solution. **Eur J Orthod**, London, v. 26, n. 5, p. 483-490, Oct. 2004.
28. SANDSTEDT, C. 1901. [*Nagra bidrag til tandregleringens teori*, P. A. Nordstedt & Stoner, Stockholm] apud DAVIDOVITCH, Z. Tooth movement. **Crit Rev Oral Biol Med**, Columbus, v. 2, n. 4, p. 411-450, 1991.
29. SANTAMARIA M. Jr.et al. Initial changes in pulpal microvasculature during orthodontic tooth movement: a stereological study. **Eur J Orthod**, London, v. 28, n. 3, p. 217-220, Jun. 2006.
30. TENORIO, T.; CRUCHLEY, A.; HUGHES, F. J. Immunocytochemical investigation of the rat cementoblast phenotype. **J Periodontal Res**, Copenhagen, v. 28, n. 6, p. 411-419, Nov. 1993.

31. TOMISUKA R. et al. Histological evaluation of the effects of initially light and gradually increasing force on orthodontic tooth movement. **Angle Orthod**, Appleton, v. 7, n. 3, p. 410-416, May 2007.
32. VASCONCELOS, M. H. F. **Análise morfológica comparativa do periodonto de sustentação submetido a forças biologicamente excessivas em ratas adultas sem e sob o uso de anticoncepcionais em ratas prenhas**. 1996. 148 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1996.
33. VASCONCELOS, M. H. F. et al. A histological study of tooth movement in rats under contraceptive use. In: DAVIDOVITCH, Z.; MAH, J. (Ed.). **Biological mechanisms of tooth eruption, resorption and replacement by implants**. Boston: Harvard Society or the Advancement of Orthodontics, 1998. p. 539-543.
34. VERNA C. et al. Influence of steroid drugs on orthodontically induced root resorption. **Orthod Craniofac Res**, Oxford, v. 9, n. 1, p. 57-62, Feb. 2006.
35. VERNA C.; ZAFFE D.; SICILIANI G. Histomorphometric study of bone reactions during orthodontic tooth movement in rats. **Bone**, Elmsford, v. 24, n. 4, p. 371-379, Apr. 1999.
36. WILLIAMS, S. A histomorphometric study of orthodontically induced root resorption. **Eur J Orthod**, London, v. 6, n. 1, p. 35-47, Feb. 1984.
37. YOKOYA, K.; SASAKI, T.; SHIBASAKI, Y. Distributional changes of osteoclasts and preosteoclasts cells in periodontal tissues during experimental tooth movement as revealed by quantitative immunohistochemistry of H⁺-ATPase. **J Dent Res**, Chicago, v. 76, n. 1, p. 580-587, Jan. 1997.

Figura 1 - (A) Esquema de corte transversal das raízes do primeiro molar superior esquerdo. (B) Dispositivo ortodôntico instalado para a inclinação mesial do primeiro molar superior esquerdo, ancorado nos incisivos superiores, despendendo uma força de 75cN. Observa-se a direção da força (seta); (1°, 2° e 3°: primeiro, segundo e terceiro molares superiores); (I: incisivo).

Figura 2 - Corte transversal do primeiro molar superior com cinco dias de movimentação dentária induzida. Observa-se a raiz mesiovestibular (MV), a mesiolingual (ML), a intermediária vestibular (INT), a distovestibular (DV) e a distolingual (DL). Nota-se que as raízes mesiais são mais volumosas que as distais. Observa-se a direção da força (seta), cortical óssea vestibular e cortical óssea lingual. (MB: mucosa bucal; TO: trabeculado ósseo).

Figura 3 - Corte longitudinal do primeiro molar superior com cinco dias de movimentação dentária induzida. Observa-se a raiz mesiovestibular (MV) e a distovestibular (DV). Nota-se o formato de clava da raiz mesiovestibular e a exuberante espessura do cimento (C) no terço apical. Observa-se a direção da força (seta). (P: polpa; D: dentina; LP: ligamento periodontal; MB: mucosa bucal; COM: crista óssea mesial; COD: crista óssea distal; SI: septo inter-radicular).

Figura 4 - Corte transversal de raiz intermediária do primeiro molar superior com três dias de movimentação dentária induzida. (A) Nota-se a direção da força (seta vermelha). (A) e (B) Área hialina (H) no lado de pressão da raiz intermediária (setas amarelas). (P: polpa; D: dentina; C: cimento; LP: ligamento periodontal).

Figura 5 - Células clásticas multinucleadas (setas) em (A) com nove núcleos aparentes e em (B) com seis núcleos aparentes. As células clásticas apresentam-se próximas a vasos sanguíneos (V).

Figura 6 - Corte transversal de raiz mesiovestibular do primeiro molar superior com três dias de movimentação dentária induzida. Nota-se reabsorção óssea frontal no lado de pressão da raiz (setas). (P: polpa; D: dentina; C: cimento; LP: ligamento periodontal).

Figura 7 - Cortes transversais de raízes intermediárias (lado de pressão) do primeiro molar superior (A) com cinco dias de movimentação dentária induzida e (B) com sete dias de movimentação dentária induzida. (A) Notam-se inúmeras células clásticas nos espaços medulares do osso alveolar (elipse). (B) Observam-se células clásticas multinucleadas nas lacunas de Howship na superfície do osso alveolar (elipse), periférica às áreas hialinas (H). (P: polpa; D: dentina; C: cimento; LP: ligamento periodontal; TO: trabeculado ósseo).

Figura 8 - Corte transversal de raiz intermediária do primeiro molar superior com sete dias de movimentação dentária induzida. Nota-se reabsorção radicular, exposição de dentina e presença de células clásticas na periferia da raiz no lado de pressão (elipse). (P: polpa; D: dentina; C: cimento; LP: ligamento periodontal; TO: trabeculado ósseo).

Figura 9 - Corte transversal de raiz distovestibular (lado de tensão) do primeiro molar superior com cinco dias de movimentação dentária induzida. Nota-se estiramento das fibras periodontais, vasos sanguíneos (elipse) e organização osteoblástica superficial pré-aposição óssea (setas). (LP: ligamento periodontal; TO: trabeculado ósseo).

Figura 10 - Cortes transversais de raízes intermediárias (lado de pressão) do primeiro molar superior, (A) com cinco dias de observação e (B) com sete dias de observação. Em (A) observa-se maior área hialina (H) que em (B). Em (B) notam-se lacunas de Howship com células clásticas multinucleadas (elipse). (P: polpa; D: dentina; C: cimento; LP: ligamento periodontal; TO: trabeculado ósseo).

Figura 11 - Cortes transversais de raiz distovestibular (lado de pressão) do primeiro molar superior, **(A)** com sete dias de observação e **(B)** com nove dias de observação. Observa-se que a área de reabsorção radicular (*) em **(B)** apresenta-se mais exuberante que em **(A)**. (P: polpa; D: dentina; C: cimento; LP: ligamento periodontal; TO: trabeculado ósseo).

6 Conclusões

6 Conclusões

Com base nos resultados obtidos, na literatura analisada e considerando as limitações inerentes à metodologia:

Capítulo I - Influência do alendronato nas reabsorções dentárias durante a movimentação dentária induzida: estudo histomorfométrico em cortes transversais.

Pôde-se concluir que a administração do bisfosfonato, tipo alendronato, durante a odontogênese e sua provável incorporação às estruturas dentárias, mostrou redução no percentual de reabsorções radiculares associadas ao movimento dentário induzido em ratos.

Capítulo II - Estudo comparativo das reabsorções radiculares em cortes transversais e longitudinais durante a movimentação dentária induzida em ratos.

Permite-se indicar secções transversais como melhor método para as análises histomorfométrica e semiquantitativa das reabsorções radiculares durante a movimentação dentária induzida em ratos. Este corte possibilitou visualizar a relação de todas as raízes do primeiro molar superior com os tecidos circunjacente e mostrou maior percentual de reabsorção radicular.

Capítulo III - Movimentação dentária experimental em murinos: período de observação e plano dos cortes microscópicos.

Permite-se sugerir, aos próximos trabalhos desta mesma linha de pesquisa, períodos de observação de 5 a 9 dias, já que aos três dias, os fenômenos mostraram-se discretos e semelhantes ao período de cinco dias.

Verificou-se que a secção ideal para a análise simultânea das raízes e tecidos periodontais circunjacentes, em ratos, é a transversal. Considerando as reabsorções radiculares como um dos fenômenos de maior interesse no estudo da movimentação dentária induzida, e que este fenômeno mostrou-se mais exuberante em secções transversais, sugerem-se estas secções como cortes de escolha nestes tipos de trabalhos experimentais.

Referências

Referências*

ADACHI, H. et al. Effects of topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on orthodontic tooth movement in rats. **J Dent Res**, Chicago, v. 73, n. 8, p. 1478-1486, Aug. 1994.

ALAKANGAS, A. et al. Alendronate disturbs vesicular trafficking in osteoclasts. **Calcif Tissue Int**, Berlin, v. 70, n. 1, p. 40-47, Jan. 2002.

AMIN, D. et al. Bisphosphonates used for the treatment of bone disorders inhibit squalene synthase and cholesterol biosynthesis. **J Lipid Res**, Memphis, v. 33, n. 11, p. 1657-1663, Nov. 1992.

ARNETT, T. R.; DEMPSTER, D. W. Effect of pH on bone resorption by rat osteoclasts in vitro. **Endocrinology**, Springfield, v. 119, n. 1, p. 119-124, July 1986.

ASHIZAWA, Y.; SAHARA, N. Quantitative evaluation of newly formed bone in the alveolar wall surrounding the root during the initial stage of experimental tooth movement in the rat. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 43, n. 6, p. 473-484, June 1998.

BERENSON, J. R. et al. Zoledronic acid reduces skeletal-related events in patients with osteolytic metastases. **Cancer**, New York, v. 91, n. 7, p. 1191-1200, Apr. 2001.

BERGSTROM, J. D. et al. Alendronate is a specific, nanomolar inhibition of farnesyl disphosphate synthase. **Arch Biochem Biophys**, New York, v. 373, n. 1, p. 231-241, Jan. 2000.

BOYCE, R. W. et al. The effects of risedronate on canine cancellous bone remodeling: three-dimensional kinetic reconstruction of the remodeling site. **J Bone Miner Res**, New York, v. 10, n. 2, p. 211-221, Feb. 1995.

* O modelo de referências segue as normas das “Diretrizes básicas para apresentação de dissertações e teses na FOB/USP, normalizados de acordo com NBR 6023 da ABNT, elaboradas em agosto de 2002.

BREZNIAK, N.; WASSERSTEIN, A. Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part II: the clinical aspects. **Angle Orthod**, Appleton, v. 72, n. 2, p. 180-184, Apr. 2002.

BRIDGES, T. et al. The effect of age on tooth movement and mineral density in the alveolar tissues of the rat. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 93, n. 3, p. 245-250, Mar. 1988.

BRUDVIK, P.; RYGH, P. Root resorption after local injection of prostaglandin E₂ during experimental tooth movement. **Eur J Orthod**, London, v. 13, n. 4, p. 255-263, Aug. 1991.

BRUDVIK, P.; RYGH, P. Root resorption beneath the main hyalinized zone. **Eur J Orthod**, London, v. 16, n. 4, p. 249-263, Aug. 1994.

BRUDVIK, P.; RYGH, P. Non-clast cells start orthodontic root resorption in the periphery of hialinized zones. **Eur J Orthod**, London, v. 15, n. 6, p. 467-480, Dec. 1993.

CHAIAMNUAY, S.; SAAG, K. G. Postmenopausal osteoporosis. What have we learned since introduction of bisphosphonates? **Rev Endocr Metab Dis**, Boston, v. 7, n. (1-2), p. 101-112, Jun. 2006.

CONSOLARO, A. **Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas**. 2 ed. Maringá, Dental Press, 2005.

CONSOLARO, A. Biologia da movimentação dentária: princípios básicos aplicados à clínica. In: INTERLANDI, S. (Coord.). **Ortodontia: bases para a iniciação**. 4. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1999. cap. 21, p. 435-449.

CONSOLARO, R. B. **Análise do complexo dentinopulpar em dentes submetidos à movimentação dentária induzida em ratos**. 2005. 138 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2005.

CUOGHI, O. A. **Avaliação dos primeiros momentos da movimentação dentária induzida: estudo microscópico em macacos da espécie *Cebus apella***. 1996. 138 f.

Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1996.

DUNFORD, J. E. et al. Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl diphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. **J Pharmacol Exp Ther**, Baltimore, v. 296, n. 2, p. 235-242, Feb. 2001.

FLEISH, H. Bisphosphonates: mechanisms of action. **Endocr Rev**, Baltimore, v. 19, n. 1, p. 80-100, Feb. 1998.

FURQUIM, L. Z. **Perfil endocrinológico de pacientes ortodônticos com e sem reabsorções dentárias**: correlação com a morfologia radicular e da crista óssea alveolar. 2002. 122 f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2002.

GAENGLER, P.; MERTE, K. Effects of force application on periodontal blood circulation: a vital microscopic study in rats. **J Periodontal Res**, Copenhagen, v. 18, n. 1, p. 86-92, Jan. 1983.

GRUBER, H. E. Bone and the immune system. **Proc Soc Exp Biol Med**, Malden, v. 197, n. 3, p. 219-225, July 1991.

HAMAYA, M. et al. Cell death of osteocytes occurs in rat alveolar bone during experimental tooth movement. **Calcif Tissue Int**, Berlin, v. 70, n. 2, p. 117-126, Feb. 2002.

HATAI, T. et al. Apoptosis of periodontal ligament cells induced by mechanical stress during tooth movement. **Oral Dis**, Copenhagen, v. 7, n. 5, p. 287-290, Sep. 2001.

HELLER, I. J.; NANDA, R. Effect of metabolic alteration of periodontal fiber on orthodontic movement: an experimental study. **Am. J. Orthod**, St. Louis, v. 75, n. 3, p. 239-257, Mar. 1979.

HUGHES, D. E. et al. Inhibition of osteoclast-like cell formation by bisphosphonates in long-term cultures of human bone marrow. **J Clin Invest**, New Haven, v. 83, n. 6, p. 1930-1935, Jun. 1989.

IGARASHI, K. et al. Inhibitory effect of topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on root resorption incident to orthodontic tooth movement in rats. **J Dent Res**, Chicago, v. 75, n. 9, p. 1644-1649, Sep. 1996.

IGARASHI, K. et al. Anchorage and retentive effects of a bisphosphonate (AHBuBP) on tooth movements in rats. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 106, n. 3, p. 279-289, Sep. 1994.

KATONA, T. R. et al. Stress analysis of bone modeling response to rat molar orthodontics. **J Biomech**, New York, v. 28, n. 1, p. 27-38, Jan. 1995.

KEIDEL, W. D. **Fisiologia**. Salvat. Barcelona, 1971.

KIM, T. W. et al. An ultrastructural study of the effects of bisphosphonate administration on osteoclastic bone resorption during relapse of experimentally moved rat molars. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 115, n. 6, p. 645-653, Jun. 1999.

KING, G. J.; ARCHER, L.; ZHOU, D. Later orthodontic appliance reactivation simulates immediate appearance of osteoclasts and linear tooth movement. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 114, n. 6, p. 692-697, Dec. 1998.

KONOO, T. et al. Intermittent force in orthodontic tooth movement. **J Dent Res**, Chicago, v. 80, n. 2, p. 457-460, Feb. 2001.

KRISHNAN, V.; DAVIDOVITCH, Z. The effect of drugs on orthodontic tooth movement. **Orthod Craniofac Res**, Oxford, v. 9, n. 4, p. 163-171, Nov. 2006.

LEHENKARI, P. P. et al. Further insight into mechanism of action of clodronate: inhibition of mitochondrial ADP/ATP translocase by a nonhydrolyzable, adenine-containing metabolite. **Mol Pharmacol**, New York, v. 61, n. 5, p. 1255-1262, May 2002.

LEIKER, B. J. et al. The effects of exogenous prostaglandins on orthodontic tooth movement in rats. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 108, n. 4, p. 380-388, Oct. 1995.

LINDSKOG, S.; BLOMLÖF, L.; HAMMARSTRÖM, L. Cellular colonization of denuded root surfaces in vivo: cell morphology in dentin resorption and cementum repair. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 14, n. 7, p. 390-395, Aug. 1987.

LIPTON, A. et al. Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. **Cancer**, New York, v. 88, n. 5, p. 1082-1090, Mar. 2000.

LIU, L. et al. Effects of local administration of clodronate on orthodontic tooth movement and root resorption in rats. **Eur J Orthod**, London, v. 26, n. 5, p. 469-473, Oct. 2004.

MACAPANPAN, L. C.; WEINMANN, J. P.; BRODIE, A. G. Early tissue changes following tooth movement in rats. **Angle Orthod**, Appleton, v. 24, n. 2, p. 79-95, Apr. 1954.

MALMGREN, O. et al. Root resorption after orthodontic treatment traumatized teeth. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 82, n. 6, p. 487-491, Dec. 1982.

MALTHA, J. C. et al. Incidence and severity of root resorption in orthodontically moved premolars in dogs. **Orthod Craniofac Res**, Oxford, v. 7, n. 2, p. 115-121, May 2004.

MARTINS-ORTIZ, M. F. **Influência dos bisfosfonatos na movimentação dentária induzida, na frequência e nas dimensões das reabsorções radiculares associadas**. 2004. 191 f. Tese (Doutorado Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2004.

MAVRAGANI, M.; BRUDVIK, P.; SELVIG, K. A. Orthodontically induced root and alveolar bone resorption: inhibitory effect of systemic doxycycline administration in rats. **Eur J Orthod**, London, v. 27, n. 3, p. 215-225, Jun. 2005.

MAZZIEIRO, E. T. **Bisfosfonato e movimentação dentária induzida: avaliação microscópica de seus efeitos**. 1999. 154 f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1999.

MCCARUS, D. C. Fracture prevention in postmenopausal osteoporosis: a review of treatment options. **Obstet and Gynecol Surv**, Baltimore, v. 61, n. 1, p. 39-50, Jan. 2006.

MEIKLE, M. C. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. **Eur J Orthod**, London, v. 28, n. 3, p. 221-240, Jun. 2006.

MIYOSHI, K. et al. Tooth movement and changes in periodontal tissue in response to orthodontic force in rats vary depending on the time of day the force is applied. **Eur J Orthod**, London, v. 23, n. 4, p. 329-338, Aug. 2001.

NAKANISHI, H. et al. Changes in response properties of periodontal mechanoreceptors after experimental orthodontic tooth movement in rats. **Angle Orthod**, Appleton, v. 74, n. 1, p. 93-99, Feb. 2004.

OPPENHEIM, A. Tissue changes, particularly of the bone incident to tooth movement. **Am J Orthod**, St. Louis, v.3, n. 2, p. 57-67, Oct. 1911.

OTT, S. M. Clinical effects of bisphosphonates in involutional osteoporosis. **J Bone Miner Res**, New York, v. 8, Supl. 2, p. s597-606, Dec. 1993.

PEREIRA, A. C. **Influência da gravidez e dos anticoncepcionais na reabsorção radicular e na remodelação óssea, consequente à movimentação dentária induzida**: avaliação microscópica. 1995. 141 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1995.

PIERCE, A. M.; LINDSKOG, S.; HAMMARSTRÖM, L. et al. Osteoclasts: structure and function. **Electron Microsc Rev**, Oxford, v. 4, n. 1, p. 1-45, 1991.

PLATAS, N. et al. Transplacental effects of bisphosphonates on fetal skeletal ossification and mineralization in rats. **Teratology**, New York, v. 60, n. 2, p. 68-73, Aug. 1999.

PORTER, G. The norway rat (*Rattus norvegicus*). In: LANNÉ-PETTE, W. et al. **The UFAW handbook on the care and manegement of laboratory animals**. 3ed. London, Livingstone; 1967.

REITAN, K. Effects of force magnitude and direction of tooth movement on different alveolar bone types. **Angle Orthod**, Appleton, v. 34, p. 244-255, 1964.

REN, Y.; MALTHA, J. C.; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M. The rat as model for orthodontic tooth movement - a critical review and a proposed solution. **Eur J Orthod**, London, v. 26, n. 5, p. 483-490, Oct. 2004.

RIDLEY, A. J.; HALL, A. The small GTP-binding protein Rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. **Cell**, Cambridge, v. 70, n. 3, p. 389-399, Aug. 1992.

RODAN, G. A. Mechanisms of action of bisphosphonates. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, Polo Alto, v. 38, p. 375-388, Apr. 1998.

RODAN, G. A.; FLEISH, H. A. Bisphosphonates: mechanisms of action. **J Clin Invest**, New Haven, v. 97, n. 12, p. 2692-2696, Jun. 1996.

ROELOFS, A. J. et al. Molecular mechanisms of action of bisphosphonates: current status. **Clin Cancer Res**, Denville, v. 12, p. 6222- 6230, Oct. 2006.

ROGERS, M. J. New insights into the molecular mechanisms of action of bisphosphonates. **Curr Pharm Des**, Schiphol, v. 9, n. 32, p. 2643-2658, 2003.

ROGERS, M. J. et al. Bisphosphonates are incorporated into adenine nucleotides by human aminoacyl-tRNA synthetase enzymes. **Biochem Biophys Res Commun**, New York, v. 224, n. 3, p. 863-869, Jul. 1996.

RUSSELL, R. G. Bisphosphonates: mode of action and pharmacology. **Pediatrics**, Springfield, v. 119, Suppl. 2, p. s150-162, Mar. 2007.

RUSSELL, R. G.; ROGERS, M. J. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. **Bone**, Elmsford, v. 25, n. 1, p. 97-106, Jul. 1999.

SAHNI, M. et al. Bisphosphonates act on rat bone resorption through the mediation of osteoblasts. **J Clin Invest**, New Haven, v. 91, n. 5, p. 2004-2011, May 1993.

SANDSTEDT, C. 1901. [*Nagra bidrag til tandregleringens teori*, P. A. Nordstedt & Stoner, Stockholm] apud DAVIDOVITCH, Z. Tooth movement. **Crit Rev Oral Biol Med**, Columbus, v. 2, n. 4, p. 411-450, 1991.

SANTAMARIA, M. Jr. et al. Initial changes in pulpal microvasculature during orthodontic tooth movement: a stereological study. **Eur J Orthod**, London, v. 28, n. 3, p. 217-220, Jun. 2006.

SATO, Y. et al. Bisphosphonate administration alters subcellular localization of vacuolar-type H(+)-ATPase and cathepsin K in osteoclasts during experimental movement of rat molars. **Anat Rec**, Hoboken, v. 260, n. 1, p. 72-80, Sep. 2000.

STORM, T. et al. Changes in bone histomorphometry after long-term treatment with intermittent, cyclic etidronate for postmenopausal osteoporosis. **J Bone Miner Res**, New York, v. 8, n. 2, p. 199-208, Feb. 1993.

TENORIO, T.; CRUCHLEY, A.; HUGHES, F. J. Immunocytochemical investigation of the rat cementoblast phenotype. **J Periodontal Res**, Copenhagen, v. 28, n. 6, p. 411-419, Nov. 1993.

TOMISUKA, R. et al. Histological evaluation of the effects of initially light and gradually increasing force on orthodontic tooth movement. **Angle Orthod**, Appleton, v. 7, n. 3, p. 410-416, May 2007.

VAN BEEK, E. et al. Farnesyl pyrophosphate synthase is the molecular target of nitrogen-containing bisphosphonates. **Biochem Biophys Res Commun**, New York, v. 264, n. 1, p. 108-111, Oct. 1999.

VASCONCELOS, M. H. F. **Análise morfológica comparativa do periodonto de sustentação submetido a forças biologicamente excessivas em ratas adultas sem e sob o uso de anticoncepcionais em ratas prenhas**. 1996. 148 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1996.

VASCONCELOS, M. H. F. et al. A histological study of tooth movement in rats under contraceptive use. In: DAVIDOVITCH, Z.; MAH, J. (Ed.). **Biological mechanisms of tooth eruption, resorption and replacement by implants**. Boston: Harvard Society or the Advancement of Orthodontics, 1998. p. 539-543.

VERNA, C.; MELSEN, B. Tissue reaction to orthodontic tooth movement in different bone turnover conditions. **Orthod Craniofac Res**, Oxford, v. 6, n. 3, p. 155-163, Aug. 2003.

VERNA, C. et al. Influence of steroid drugs on orthodontically induced root resorption. **Orthod Craniofac Res**, Oxford, v. 9, n. 1, p. 57-62, Feb. 2006.

VERNA, C.; ZAFFE, D.; SICILIANI, G. Histomorphometric study of bone reactions during orthodontic tooth movement in rats. **Bone**, Elmsford, v. 24, n. 4, p. 371-379, Apr. 1999.

VITTE, C. et al. Bisphosphonates induce osteoblasts to secrete an inhibitor of osteoclast-mediated resorption. **Endocrinology**, Springfield, v. 137, n. 6, p. 2324-2333, Jun. 1996.

WALDO, C. M.; ROTHBLATT, J. M. Histologic response to tooth movement in the laboratory rat. **J Dent Res**, Chicago, v. 33, n. 4, p. 481-486, Aug. 1954.

WILLIAMS, S. A histomorphometric study of orthodontically induced root resorption. **Eur J Orthod**, London, v. 6, n. 1, p. 35-47, Feb. 1984.

WOO, S. B.; HELLSTEIN, J. W.; KALMAR, J. R. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. **Ann Intern Med**, Philadelphia, v. 144, n. 10, p. 753-761, May 2006.

YOKOYA, K.; SASAKI, T.; SHIBASAKI, Y. Distributional changes of osteoclasts and preosteoclasts cells in periodontal tissues during experimental tooth movement as revealed by quantitative immunohistochemistry of H⁺-ATPase. **J Dent Res**, Chicago, v. 76, n. 1, p. 580-587, Jan. 1997.

ZERIAL, M.; STENMARK, H. Rab GTPases in vesicular transport. **Curr Opin Cell Biol**, Philadelphia, v. 5, n. 4, p. 613-620, Aug. 1993.

ZHANG, D. et al. The small GTP-binding protein, *Rho* p21, is involved in bone resorption by regulating cytoskeletal organization in osteoclasts. **J Cell Sci**, London, v. 108, p. 2285-2292, Jun. 1995.

ZHANG, F. L.; CASEY, P. J. Protein prenylation: molecular mechanisms and functional consequences. **Annu Rev Biochem**, Palo Alto, v. 65, p. 241-269, July 1996.

Anexo

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

CEEPA-Proc. Nº 03/2005

Bauru, 29 de março de 2005.

Senhor Professor,

Informamos que após nova análise do projeto de pesquisa "**Análise da movimentação dentária induzida e reabsorções radiculares em ratos normais e sob administração de bisfosfonato. Estudo comparativo em cortes longitudinais e transversais**", de autoria da aluna Ana Carolina Cuzzuol Fracalossi, desenvolvido sob sua orientação, esta Comissão considerou o projeto **APROVADO**, "*ad referendum*" na data de 28 de março de 2005.

Sendo o que nos apresenta para o momento, despedimo-nos

Atenciosamente,

Profª Drª Marília Afonso Rabelo Buzalaf
Presidente da Comissão de Ética no
Ensino e Pesquisa em Animais

Ilmº Sr. Prof. Dr. **Alberto Consolaro**
DD. Docente do Departamento de Estomatologia