



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

**Centro Biomédico**

**Faculdade de Odontologia**

**Myrela Galvão Cardoso Costa**

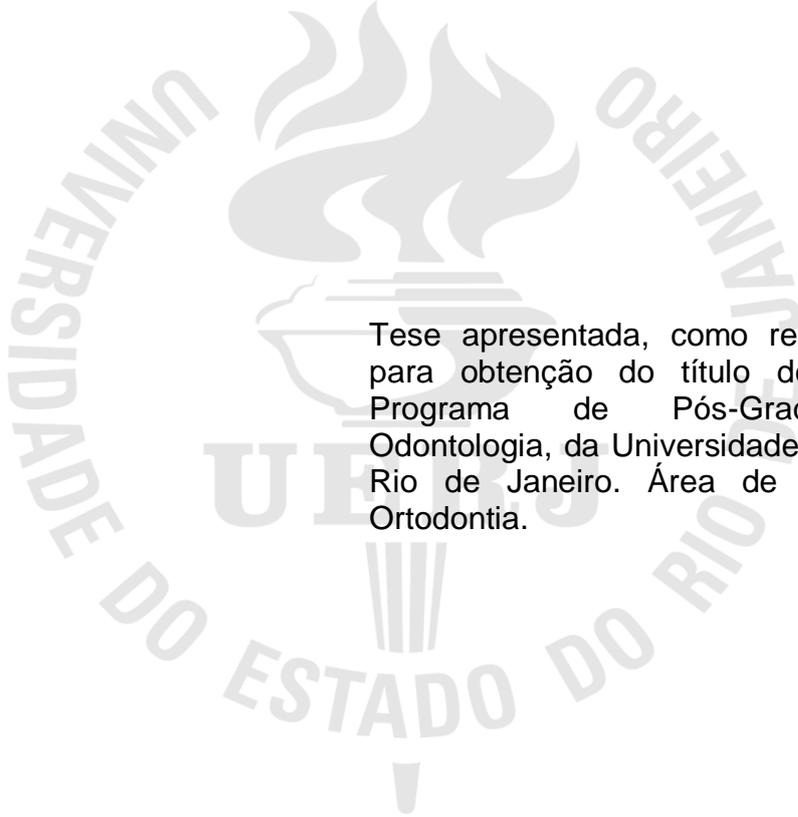
Efeitos de dois regimes de aplicação de clodronato dissódico na movimentação dentária e reabsorção radicular em *Rattus norvegicus*

Rio de Janeiro

2010

Myrela Galvão Cardoso Costa

**Efeitos de dois regimes de aplicação de clodronato dissódico na movimentação dentária e reabsorção radicular em *Rattus norvegicus***



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Ortodontia.

Orientadores: Prof. Dr. Alvaro de Moraes Mendes

Prof. Dr. Mickelson Rio Lima de Oliveira Costa

Rio de Janeiro

2010

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/CBB

C837	<p>Costa, Myrela Galvão Cardoso. Efeitos de dois regimes de aplicação de clodronato dissódico na movimentação dentária e reabsorção radicular em <i>Rattus norvegicus</i> / Myrela Galvão Cardoso Costa. – 2010. 77 f.</p> <p>Orientadores: Alvaro de Moraes Mendes, Mickelson Rio Lima de Oliveira Costa. Tese (doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.</p> <p>1. Ortodontia. 2. Dentes - Mobilidade. 3. Difosfonatos – Uso terapêutico. 4. Reabsorção da raiz. I. Mendes, Alvaro de Moraes. II. Costa, Mickelson Rio Lima de Oliveira. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU 616.314</p>
------	--

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Myrela Galvão Cardoso Costa

**Efeitos de dois regimes de aplicação de clodronato dissódico na movimentação dentária e reabsorção radicular em *Rattus norvegicus***

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Ortodontia.

Aprovada em 25 de agosto de 2010.

Orientadores:

---

Prof. Dr. Alvaro de Moraes Mendes  
Faculdade de Odontologia da UERJ

---

Prof. Dr. Mickelson Rio Lima de Oliveira Costa  
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. José Augusto Mendes Miguel  
Faculdade de Odontologia da UERJ

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Teresa de Andrade Goldner  
Faculdade de Odontologia da UERJ

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Ione Helena Vieira Portella Brunharo  
Faculdade de Odontologia da UERJ

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Maria Bolognese  
Faculdade de Odontologia da UFRJ

---

Prof. Dr. Lincoln Issamu Nojima  
Faculdade de Odontologia da UFRJ

Rio de Janeiro

2010

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Mike e Mariana por tornarem minha vida tão completa e feliz.  
Aos meus pais, Alba e Afrano pelo amor e dedicação de todos os momentos.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Dr. Alvaro de Moraes Mendes, pelo exemplo de seriedade e compromisso como pessoa, professor, ortodontista e pesquisador.

Ao meu orientador Professor Dr. Mickelson Costa, por todo tempo que passamos comprometidos com este trabalho.

Ao Professor Antonio Carlos Peixoto da Silva por ter iniciado a semente da Ortodontia na Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) e por todo carinho e conhecimento que me transmitiu nos anos que tive a honra de ser sua aluna.

À Professora Cátia Cardoso Abdo Quintão pela grande dedicação com que conduz o Doutorado em Ortodontia da UERJ, sempre preocupada em torná-lo melhor.

Aos Professores Dr. Marco Antonio Almeida, Dr. Jonas Capelli Júnior, Dr. Álvaro Francisco Carrielo Fernandes e Dr. José Augusto Mendes Miguel por todos os conhecimentos ortodônticos transmitidos ao longo desses anos.

Às Professoras Flávia Raposo Artese, Maria Tereza de Andrade Goldner e Ione Helena Portella Brunharo pela contribuição aos Cursos de Pós-graduação em Ortodontia da UERJ.

Ao Professor Dr. Marcos André Vanier por todo apoio e disponibilidade no uso do seu laboratório de microscopia eletrônica do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) – Bahia.

A Diego Menezes por toda ajuda, amizade e carinho.

À Carina Rodrigues por tudo que passamos juntas, desde as conversas no aeroporto até a contagem das células.

À funcionária da Associação dos ex-alunos da UERJ, Mônica Cristina de Souza Marques pela amizade e competência na realização do seu trabalho.

Aos Funcionários da Secretaria de Pós-graduação da UERJ, Antonio Dias da Silva, Denise Muniz da Cruz e José Carlos Barbosa de Medeiros pela disponibilidade e atenção.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), instituição de fomento, pela bolsa concedida durante o curso.

Não tema avançar lentamente, receie apenas ficar parado.

*Provérbio Chinês*

## RESUMO

COSTA, Myrela Cardoso. **Efeitos de dois regimes de aplicação de clodronato dissódico na reabsorção radicular e movimentação dentária em *Rattus norvegicus***. 2010. 77 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

O objetivo dos autores foi avaliar microscopicamente, a influência de dois regimes de aplicação do clodronato dissódico na movimentação dentária e reabsorção radicular de *Rattus norvegicus*. Foram utilizados 63 ratos, adultos, machos, com dentição permanente completa e peso aproximado de 300g. Os animais foram divididos em três grupos com 21 espécimes cada: Grupo Controle, animais submetidos à movimentação dentária induzida sem aplicação do medicamento; Grupo A, animais submetidos à movimentação com aplicação do Clodronato por via subcutânea em dias alternados; Grupo B, animais submetidos à movimentação e aplicação da droga por via subcutânea apenas no quinto e décimo segundo dias. Para avaliar os eventos celulares que ocorrem durante todo o ciclo de movimentação, os grupos foram subdivididos em três, com sete animais cada um e foi realizada a eutanásia no sétimo, décimo e décimo quarto dias. Este procedimento foi realizado com anestesia por inalação de dietil-éter e administração intra-abdominal de 40mg/Kg de pentobarbital sódico. As peças foram incluídas em parafina e os cortes teciduais (4-6µm), corados por Hematoxilina-Eosina, foram usados para observações gerais e avaliação quantitativa em microscópio de luz. A análise dos resultados foi feita utilizando análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey foi utilizado para comparações múltiplas entre as médias. Foi considerado o nível de significância em 5%. A taxa de movimentação foi menor no Grupo A quando comparado ao grupo controle sendo estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ). No Grupo B, a taxa de movimentação foi menor que no grupo controle e maior que no Grupo A, porém sem significância estatística. Para as variáveis lacunas de reabsorção e número de osteoclastos houve diferença estatisticamente significativa quando o grupo controle foi comparado aos dois outros grupos. De acordo com os resultados, o Clodronato reduz a reabsorção radicular e a movimentação dentária, mas este último aspecto pode ser minimizado a depender do regime de aplicação do medicamento.

Palavras-chave: Reabsorção radicular. Bisfosfonados. Movimento dentário. Ortodontia.

## ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate microscopically the influence of disodium clodronate in tooth movement and root resorption in *Rattus norvegicus* using two ways of applying the drug. We used 63 male Wistar rats, adults, with permanent dentition and approximate weight of 300g. The animals were divided into three groups with 21 specimens: control group, animals subjected to induced tooth movement without the application of the drug, Group A, animals subjected to induced tooth movement with application of Clodronate by subcutaneously every other day and Group B, animals subjected to induced tooth movement with application of the drug by subcutaneous only in the fifth and tenth-second days. To assess the cellular events that occur throughout the cycle of movement, the groups were subdivided into three, with seven animals each and after the experimental period, euthanasia was performed on the seventh, tenth and tenth to fourth days. This procedure was performed under anesthesia by inhalation of diethyl ether and intra-abdominal administration of 40 mg/kg of sodium pentobarbital. The obtained pieces were fixed and embedded in paraffin, stained with hematoxylin-eosin, then, tissue sections (4-6 $\mu$ m) were used for general observations and quantitative assessment by light microscopy. The statistical analysis was performed using analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test was used for multiple comparisons between means. The level of significance considered was 5%. The rate of movement was lower in Group A when compared to the control group ( $p < 0.01$ ). In Group B, the rate of turnover was lower than in the control group and higher than in Group A, but without statistical significance. For the variables of resorption lacunae and number of osteoclasts there was no statistical difference when the control group was compared to the other groups. According to the results, Clodronate reduces root resorption and tooth movement, but the latter aspect can be minimized depending on the application rate of the drug.

Keywords: Root resorption. Bisphosphonates. Tooth movement. Orthodontics.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1-	Identificação dos grupos estudados .....	44
Figura 1 –	Sequência da adaptação cervical do conjunto amarrilho-mola de NiTi .....	46
Figura 2 –	Orifício realizado nos incisivos superiores para passagem do conjunto amarrilho-mola de NiTi .....	46
Figura 3 –	Montagem do aparelho .....	47
Figura 4 –	Aparelho montado e desgaste nos incisivos inferiores .....	47
Figura 5 –	Ostac (solução injetável).....	48
Figura 6 –	Movimentação do primeiro molar.....	49
Figura 7 –	Osteotomia da maxila .....	49
Gráfico 1 –	Média e desvio padrão dos valores de taxas de movimentação dentária para todos os grupos estudados .....	53
Figura 8 –	Fotomicrografias de áreas de pressão .....	54
Figura 9 –	Fotomicrografias de áreas de pressão observadas no grupo controle .....	55
Gráfico 2 –	Mediana dos valores de número de osteoclastos para todos os grupos estudados .....	56
Gráfico 3 –	Média e desvio padrão das taxas de reabsorção radicular para todos os grupos estudados .....	57
Figura 10 –	Fotomicrografias de lacunas de reabsorção .....	58

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média (desvio-padrão) em mm, das taxas de movimentação dentária nos três grupos experimentais .....	52
Tabela 2 – Mediana do número de osteoclastos nos três grupos experimentais .....	56
Tabela 3 – Média (desvio-padrão) em $\mu\text{m}^2$ , de reabsorção radicular nos três grupos experimentais .....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP	Adenosina tri-fosfato
ANOVA	Análise de variância
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
EDTA	Etilodiamino-tetracético
FIOCRUZ	Fundação InstitutoOswaldo Cruz
HE	Hematoxilina- eosina
LR	Lacunas de reabsorção
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandina E <sub>2</sub>
PPI	Pirofosfato inorgânico
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear Kappa B
RRIOI	Reabsorção radicular inflamatória ortodonticamente induzida
TMD	Taxa de movimentação dentária
TNF $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
TRAP	Fosfatase ácida tártaro resistente
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFBA	Universidade Federal da Bahia

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	por cento
$\mu\text{m}$	micrometro, corresponde à milésima parte do milímetro
mm	milímetro
mOsm	miliosmol, corresponde à milésima parte do osmol
M	mol
$\text{PO}_3$	fosfato
g	grama
$^{\circ}\text{C}$	grau centigrado
mg	miligrama
kg	kilograma
cN	Centi-newton (1 cN equivale a 1gf- grama/força)
NaOH	hidróxido de sódio
NaCl	cloreto de sódio
NiTi	níquel-titânio
IL-1 $\beta$	interleucina 1 beta
ON	óxido nítrico
pH	potencial hidrogênio iônico
TM	trade mark
p	valor p
x	vezes
<	menor
=	igual
$\alpha$	alfa

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
1	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	17
1.1	<b>Periodonto de inserção</b> .....	17
1.1.1	<u>Cemento</u> .....	17
1.1.2	<u>Ligamento periodontal</u> .....	19
1.1.3	<u>Ossos alveolares</u> .....	20
1.2	<b>Movimentação dentária ortodôntica</b> .....	21
1.3	<b>Reabsorção radicular ortodonticamente induzida</b> .....	25
1.4	<b>Bisfosfonados</b> .....	29
1.5	<b>Osteonecrose dos maxilares</b> .....	36
1.6	<b>Modelo experimental</b> .....	38
2	<b>PROPOSIÇÃO</b> .....	42
3	<b>MATERIAL E MÉTODO</b> .....	43
3.1	<b>Condições ambientais</b> .....	43
3.2	<b>Caracterização da amostra</b> .....	43
3.3	<b>Manipulação da amostra</b> .....	44
3.3.1	<u>Anestesia</u> .....	44
3.3.2	<u>Montagem do aparelho</u> .....	45
3.3.3	<u>Administração do clodronato</u> .....	48
3.3.4	<u>Avaliação da quantidade de movimento</u> .....	48
3.4	<b>Eutanásia e processamento histológico</b> .....	49
3.4.1	<u>Microscopia de luz</u> .....	50
3.5	<b>Análise estatística</b> .....	50
4	<b>RESULTADO</b> .....	52
4.1	<b>Taxa de movimentação dentária</b> .....	52
4.2	<b>Microscopia de luz</b> .....	53
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	59
5.1	<b>Modelo experimental</b> .....	59
5.2	<b>Osteonecrose dos maxilares</b> .....	61
5.3	<b>Taxa de movimentação dentária</b> .....	63

5.4	<b>Efeito do clodronato na reabsorção radicular .....</b>	<b>65</b>
6	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>68</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>69</b>

## INTRODUÇÃO

Numerosos estudos vêm sendo desenvolvidos ao longo dos anos com o objetivo de se descobrir recursos através dos quais se consiga diminuir o risco de reabsorção radicular durante o tratamento ortodôntico, pois, apesar da relativa resistência do cimento, uma consequência inevitável e iatrogênica do tratamento ortodôntico é a reabsorção radicular, mesmo que em níveis subclínicos. Esta constitui um processo inflamatório estéril que pode estar relacionado a diversos aspectos, incluindo força, estrutura radicular, osso, células, tecidos adjacentes e alguns mediadores biológicos (BREZNIAK; WASSERSTEIN, 2002a).

O cimento radicular é um tecido mineralizado especializado que reveste as superfícies radiculares e, ocasionalmente, pequenas porções das coroas dos dentes. Possui muitas características em comum com o tecido ósseo. No entanto, o cimento não contém vasos sanguíneos e linfáticos, não tem inervação, não sofre remodelação e reabsorções fisiológicas, e se caracteriza pela formação contínua ao longo da vida. Sua porção mineral, formada principalmente por hidroxiapatita, constitui, em média, 65% do seu peso. Esse tecido desempenha diferentes funções, incluindo a inserção das fibras do ligamento periodontal na raiz e a contribuição para o processo de reparo após danos à superfície radicular (LINDHE, 1997). Na porção mais superficial da raiz, encontram-se os cementoblastos, que são células formadoras de cimento e que são responsáveis por manter a integridade radicular (CONSOLARO, 2005).

Durante o tratamento ortodôntico, a compressão dos vasos sanguíneos, à medida que a pressão no ligamento periodontal aumenta, provoca obliteração dos mesmos e necrose estéril de áreas deste tecido, conhecidas como zonas de hialinização. Esta alteração tecidual impede a movimentação dentária até que tanto o tecido necrótico quanto o osso adjacente sejam removidos pelos osteoclastos (PROFFIT; FIELDS JUNIOR, 2002; RODY JUNIOR; KING; GU, 2001).

A remoção do tecido hialinizado juntamente com cementóide, fibras colágenas e osteóide ocorre antes e durante o restabelecimento do ligamento periodontal. Uma vez que este tecido cementóide foi reabsorvido, a superfície radicular fica desprotegida podendo ser atacada por células clásticas como

osteoclastos ou odontoclastos, o que gera áreas de reabsorção na raiz (BREZNIAK; WASSERSTEIN, 2002a; FARREL et al., 1990; RYGH, 1977).

Essa perda de estrutura radicular na região apical é irreversível e muito comum após o tratamento ortodôntico. Por causa disso, as pesquisas estão sempre voltadas para o desenvolvimento de mecanismos capazes de impedir este processo. Alguns estudos demonstraram que os Bisfosfonados, uma classe de medicamentos que altera o *turnover* ósseo pela sua capacidade de inibir o processo de reabsorção neste tecido, também é capaz de reduzir a reabsorção radicular em consequência da movimentação dentária (FARREL et al., 1990; IGARASHI et al., 1996; LIU et al., 2004).

Esses medicamentos são divididos em aminados e não aminados, sendo que o que os diferencia é a presença de um átomo de Nitrogênio em sua cadeia lateral. São drogas muito prescritas em todo o mundo e utilizadas em doenças graves como hipercalcemia maligna, múltiplo mieloma, metástases ósseas, doença de Paget e osteoporose, sendo bastante efetivos no combate destas condições sistêmicas (FLEISCH, 1998; GRIER; WISE, 1998; ITO et al., 2001; KIM et al., 1999; LIU et al., 2004; RODAN; FLEISCH, 1996; ZAHROWSKI, 2009). Os aminobisfosfonados são muito mais potentes na sua capacidade anti-reabsortiva, mas a partir de 2003 começaram a surgir relatos na literatura de casos de osteonecrose dos ossos maxilares em pacientes que faziam uso prolongado deste tipo de substância (ZAHROWSKI, 2009).

O clodronato é um bisfosfonado de segunda geração que apresenta dois átomos de Cloro em sua cadeia lateral e que de forma semelhante aos outros medicamentos deste grupo, inibe a função de osteoclastos e conseqüentemente a reabsorção óssea. Possui propriedades antiinflamatórias importantes (LIU et al., 2004), apresentando inclusive ação antinecrótica (OIZUMI et al., 2009). Os efeitos positivos destes fármacos podem ser aplicados na clínica ortodôntica e justificam as crescentes pesquisas nesta área. Segundo os trabalhos de Igarashi et al. (1996) e Liu et al. (2004), este medicamento restringe o deslocamento dentário e reduz a reabsorção radicular.

Acredita-se que o período de maior concentração de osteoclastos na superfície radicular não coincide com o de máxima atividade destas células na superfície óssea, período em que a movimentação é intensa (RODY JUNIOR; KING; GU, 2001), portanto é possível utilizar o Clodronato para diminuir o risco de

reabsorção radicular sem comprometer a taxa de movimentação dentária (TMD). O objetivo desta pesquisa foi avaliar microscopicamente a influência desta substância na movimentação dentária e na reabsorção radicular em ratos (*Rattus norvegicus*) utilizando-se dois regimes de aplicação.

# 1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

## 1.1 Periodonto de inserção

### 1.1.1 Cemento

O cemento é um tecido conjuntivo mineralizado que recobre a dentina radicular. Embora muitas vezes seja considerado como parte do dente, este não é uma estrutura dentária. Desenvolve-se a partir do folículo dentário, o qual não faz parte do órgão dentário propriamente dito (constituído pelo órgão do esmalte e pela papila dentária). Porém, por ser depositado sobre a raiz, uma vez mineralizado, permanece aderido firmemente (KATCHBURIAN; ARANA, 1999).

Apresenta extrema semelhança ao tecido ósseo (KATCHBURIAN; ARANA, 1999), sendo composto por 45-50% de substância inorgânica e 50-55% de matéria orgânica e água. A porção inorgânica é constituída basicamente por hidroxiapatita e a orgânica por colágeno tipo I e proteoglicanas (LINDHE, 1997). Suas células, cementoblastos e cementócitos são similares aos osteoblastos e osteócitos respectivamente. É um tecido avascular que depende do ligamento periodontal para se nutrir por difusão. Normalmente, não sofre remodelação, embora seja passível de reabsorção e neoformação em uma intensidade muito inferior ao osso. Sua espessura varia conforme a região, sendo muito fino no terço cervical da raiz com cerca de 30 a 50µm, aumentando gradualmente em direção ao ápice, alcançando de 180 a 200 µm (KATCHBURIAN; ARANA, 1999).

O cemento tem por função inserir as fibras do ligamento periodontal na superfície radicular e vedar os túbulos dentinários (AVERY, 2000; LINDHE, 1997). Este tecido pode ser dividido em: primário ou acelular, formado durante o processo de desenvolvimento radicular e irrupção dentária; e secundário ou celular, que se forma após o dente ter irrompido e em resposta às demandas funcionais. Este último apresenta uma composição muito semelhante a do tecido ósseo, todavia não possui vasos sanguíneos e linfáticos, nem inervação (AVERY, 2000; LINDHE, 1997).

O início do processo de formação do cimento, denominado cementogênese, coincide com o princípio da formação radicular. Antes da formação do cimento propriamente dito, ocorre a deposição de uma fina camada mista, denominada camada hialina, de material oriundo de células da bainha radicular epitelial de Hertwig e do ectomesênquima do folículo dentário. As células ectomesenquimais diferenciam-se em cementoblastos e fibroblastos, os quais imediatamente após sua diferenciação sintetizam e secretam matriz orgânica do cimento constituída principalmente por fibrilas colágenas e outras moléculas. A mineralização do cimento ocorre pela deposição de fosfato de cálcio na forma de hidroxiapatita. Sua formação ocorre por aposição, sendo que durante a formação das primeiras camadas, na altura do terço cervical da raiz, tanto os fibroblastos que formam os feixes de fibras colágenas extrínsecas quanto os cementoblastos recuam ao secretarem a matriz, não sendo aprisionados por ela. Por esse motivo, o cimento desta região é denominado acelular (KATCHBURIAN; ARANA, 1999).

Quando a formação da dentina alcança aproximadamente metade da raiz, os cementoblastos recém-diferenciados passam a secretar maior quantidade de matriz orgânica que na região cervical onde a secreção dessas células é mínima. Nessa fase, os cementoblastos ficam aprisionados na matriz, tornando-se cementócitos. Esse padrão de formação de cimento nos terços médio e apical da raiz é chamado de cimento celular (KATCHBURIAN; ARANA, 1999).

Os cementoblastos ativos apresentam forma arredondada ou ovalada, com citoplasma basófilo, semelhante aos osteoblastos. No dente formado, essas células ficam justapostas ao cementóide, porém em estado de repouso, apresentando, dessa maneira, forma achatada com quantidade reduzida de organelas. Os cementócitos são células com pouca atividade metabólica (KATCHBURIAN; ARANA, 1999).

Os cementoblastos são responsáveis pela proteção da superfície radicular. A reabsorção da raiz ocorre apenas quando estas células desaparecem da superfície do cimento. A resistência da superfície radicular à reabsorção resulta da propriedade dos cementoblastos não apresentarem, na sua membrana celular, receptores aos mediadores que estimulam a reabsorção óssea, em especial o paratormônio (CONSOLARO, 2005).

### 1.1.2 Ligamento periodontal

O ligamento periodontal é um tecido conjuntivo não mineralizado, situado entre o cemento que cobre a raiz do dente e o osso que forma a parede alveolar. Por ser um tecido não mineralizado, é capaz de amortecer as forças mastigatórias através dos seus receptores sensoriais proprioceptivos, desempenhando papel importante na acomodação dos arcos dentários durante os movimentos funcionais mastigatórios. Ele varia em espessura e, em geral, diminui com o avanço da idade ao longo da raiz. Assim sendo, em dentes de indivíduos jovens a espessura média é de 0,21mm. Em idosos, a espessura do ligamento diminui, tendo como média 0,15mm (TEN CATE, 2001).

Inicia seu desenvolvimento logo após a formação da raiz dentária e como qualquer tecido conjuntivo consiste em células e em um compartimento extracelular de fibras e de substância fundamental. As células incluem osteoblastos e osteoclastos (estruturalmente dentro do ligamento periodontal, mas funcionalmente associados ao osso), fibroblastos, células dos restos epiteliais de Malassez, macrófagos, células mesenquimais indiferenciadas e cementoblastos (também estruturalmente dentro do ligamento periodontal, mas funcionalmente associados ao cemento) (TEN CATE, 2001).

Os fibroblastos apresentam forma alongada, fusiforme, com núcleo ovóide e caracterizam-se por um nível extremamente alto de renovação do compartimento extracelular, particularmente do colágeno, sendo capazes de sintetizar e degradar colágeno simultaneamente. As células mesenquimais indiferenciadas são pequenas e consideradas progenitoras, apresentando aspecto fusiforme, semelhantes a fibroblastos inativos, e localizadas principalmente, próximas a vasos sanguíneos (TEN CATE, 2001).

Apesar de estruturalmente situadas no ligamento periodontal, as células próprias do osso e do cemento associam-se aos tecidos duros que elas formam. Os osteoblastos apresentam-se alinhados na superfície óssea do ligamento podendo encontrar-se funcionalmente ativos ou em repouso. Os osteoclastos também podem ser encontrados acoplados ao osso onde está ocorrendo reabsorção. Em geral, acredita-se, mas sem evidências definitivas, que os cementoblastos estejam alinhados na superfície do cemento celular e acelular (TEN CATE, 2001).

No tratamento ortodôntico, o ligamento periodontal é essencial para o dente mover-se dentro do processo alveolar ao ser submetido a um estresse mecânico. Tanto na movimentação dentária ortodôntica quanto fisiológica, o fenômeno reabsorção/aposição ocorre localmente e resulta em uma constante reconstrução do processo alveolar em três dimensões (DAVIDOVITCH; KRISHNAN, 2006).

### 1.1.3 Osso alveolar

O processo alveolar juntamente com o cemento e o ligamento periodontal constitui o periodonto de inserção. A superfície do osso alveolar voltada para o ligamento está recoberta por uma camada de osteoblastos ou células de revestimento ósseo justaposto (dependendo do estado funcional destas células). A movimentação ortodôntica é possível, principalmente, devido à maior plasticidade do tecido ósseo em relação ao cemento (KATCHBURIAN; ARANA, 1999).

Os osteoblastos são células uninucleadas que sintetizam tanto colágeno quanto a matriz orgânica osteóide. São responsáveis pela mineralização e geralmente, são considerados como uma diferenciação de uma célula precursora, o pré-osteoblasto. Quando o osso não se encontra mais em formação, os osteoblastos revestem a superfície óssea, tornando-se inativos. Neste estado, são denominados células de revestimento ósseo. Os osteoblastos secretam a matriz óssea, e alguns deles ficam aprisionados em lacunas, sendo, então, chamados osteócitos. Estas são células elipsóides e capazes de transmitir sinais para remodelação em resposta a fatores mecânicos (TEN CATE, 2001).

Os osteoclastos são células gigantes multinucleadas responsáveis pela degradação do tecido ósseo em condições fisiológicas e patológicas. Estas células se originam pela fusão de células mononucleares oriundas da medula óssea (origem hematopoiética). Ao serem examinados ao microscópio, mostram três regiões bastante diferenciadas no seu citoplasma: uma região basal, na qual estão localizados os núcleos, cujo número pode variar entre 6 e 50, uma região ativa, adjacente à superfície de reabsorção óssea, e uma região intermediária ou vesicular localizada entre as duas. Na região ativa, acoplada à matriz óssea, duas partes

podem ser observadas: a parte central denominada borda em escova, e em torno desta, a zona clara (KATCHBURIAN; ARANA, 1999).

A borda em escova é considerada a parte mais ativa do osteoclasto na sua função reabsortiva e consiste de numerosas e profundas reentrâncias e prolongamentos da membrana plasmática que se assemelham a vilosidades. A membrana da borda em escova é considerada de natureza lisossomal. A superfície que está sendo reabsorvida apresenta aspecto de cripta e recebe a denominação de Lacuna de Howship. Um dos marcadores característicos destas células é a enzima lisossomal fosfatase ácida tártaro-resistente (TRAP), o qual as distingue de outras células gigantes e macrófagos (KATCHBURIAN; ARANA, 1999; TEN CATE, 2001).

Durante o tratamento ortodôntico, a compressão dos vasos sanguíneos, à medida que a pressão no ligamento periodontal aumenta, provoca obliteração dos mesmos e necrose estéril de áreas deste tecido, conhecidas como zonas de hialinização (PROFFIT; FIELDS JUNIOR, 2002; RODY JUNIOR; KING; GU, 2001). No que diz respeito à velocidade de movimentação, esta hialinização do ligamento periodontal pode ser considerada como fator chave para a eficiência do movimento, sendo essencial a remoção deste tecido hialinizado para que o dente se desloque. Esta alteração tecidual impede a movimentação dentária até que tanto o tecido necrótico quanto o osso adjacente sejam removidos pelos osteoclastos (PROFFIT; FIELDS JUNIOR, 2002; RODY JUNIOR; KING; GU, 2001).

As células que estão inicialmente envolvidas na remoção deste tecido necrótico e hialinizado são negativas para o TRAP e possuem características semelhantes aos macrófagos. As células multinucleadas, as quais aparecem mais tarde reabsorvendo ativamente tanto cimento quanto dentina são positivas para o TRAP e são chamadas de Odontoclastos (JÄGER et al., 1993).

## **1.2 Movimentação dentária ortodôntica**

A movimentação dentária decorrente da aplicação de força ortodôntica é caracterizada por mudanças remodeladoras nos tecidos dentários e periodontais, incluindo a polpa dentária, o ligamento periodontal, osso alveolar e gengiva. Esses tecidos, uma vez expostos a variáveis níveis de magnitude, frequência e duração de

carga mecânica, expressam extensas mudanças macro e microscópicas. Essa força induzida altera a vascularização e fluxo sanguíneo no ligamento periodontal, resultando em síntese e liberação de várias moléculas chave tais como neurotransmissores, citocinas, fatores de crescimento e produtos do ácido aracdônico. Essas moléculas podem evocar diversas respostas celulares dentro e em volta dos dentes, propiciando um microambiente favorável para deposição ou reabsorção de tecidos (DAVIDOVITCH, 1991; DAVIDOVITCH; KRISHNAN, 2006).

Portanto, o movimento dentário induzido constitui o recurso clínico que o ortodontista utiliza para atingir seus objetivos estéticos e funcionais, proporcionando ao paciente uma oclusão ideal. As forças mecânicas aplicadas sobre o dente não são usadas para produzir movimento mecânico e sim para obter um estímulo biológico, capaz de produzir reações teciduais desejáveis modificando a posição dentária de forma estável e duradoura (CONSOLARO, 2005).

Este processo difere do movimento eruptivo e do deslocamento dentário fisiológico o qual ocorre de forma lenta e gradual. No entanto, o movimento dentário ortodôntico pode ser lento ou rápido a depender das características físicas da força aplicada e da resposta biológica no ligamento periodontal (DAVIDOVITCH; KRISHNAN, 2006).

Após a aplicação de uma força, o movimento dentário segue três estágios, que consistem em deslocamento do dente dentro do espaço periodontal, atraso no movimento devido ao fenômeno de hialinização e movimentação propriamente dita. Este processo é mediado pelo aparecimento de osteoclastos nas áreas de compressão. Estas células iniciam a remodelação, porém, em ratos, necessitam de três a cinco dias para aparecer, o que também contribui com a fase de atraso no movimento. Quando se aplica nova força durante o período de recrutamento de osteoclastos (apenas um dia após a ativação inicial) ou que coincide com a fase de pico de concentração destas células (cerca de quatro dias após a aplicação inicial em ratos), o atraso no aparecimento de osteoclastos e na movimentação, geralmente, é maior. No entanto, quando a reativação do aparelho ocorre na fase em que os osteoclastos estão desaparecendo e que a formação óssea já se iniciou (dez dias após a aplicação), o movimento acontece de forma linear e mais rápida. Dessa forma, o intervalo entre as ativações é uma questão crítica para se atingir maior eficiência na movimentação, sendo intervalos maiores considerados mais adequados (GU, 1999).

Reitan e Kvam (1971) demonstraram em suas investigações a complexidade das reações teciduais durante a movimentação ortodôntica. Segundo os autores, não se resume apenas a um simples fenômeno em que uma força externa é aplicada, gerando movimentação do dente dentro do espaço do ligamento periodontal através de áreas de compressão e tensão e subsequente reabsorção e neoformação óssea. Corresponde, na verdade, a uma série de eventos que envolvem profundas alterações nas funções celulares.

A literatura tem sugerido que a aplicação de força leve resultaria em reabsorção frontal da parede do osso alveolar no lado de pressão. Isso é apenas em parte verdadeiro. Reabsorção óssea direta implicaria na formação de osteoclastos diretamente na superfície óssea correspondente à compressão das fibras. Para que isso ocorra, é necessário que as fibras periodontais sejam comprimidas apenas uma quantidade que não permita hialinização. Como regra, isso não acontece nos estágios iniciais da movimentação dentária. Se a duração do movimento for dividida em período inicial e secundário, a reabsorção direta ou frontal será observada no segundo estágio, quando o tecido hialinizado já desapareceu em consequência de reabsorção solapante. No caso de forças mais pesadas, serão geradas novas áreas de hialinização e a reabsorção ocorrerá de forma indireta, nos espaços medulares vizinhos (REITAN; RYGH, 1994).

Segundo Consolaro (2005), o movimento dentário induzido, quando ocorre de forma planejada, mantendo a integridade funcional e morfológica dos tecidos envolvidos, pode ser dividido em três fases sequenciais: 1) fase imediata ou inicial: se realiza a custa da compressão do ligamento periodontal e da deformação óssea, deslocando o dente em 0,2 a 0,3mm do alvéolo; 2) fase ativa ou intermediária: em consequência do estresse mecânico e funcional no ligamento, aumenta a quantidade de citocinas, fatores de crescimento e produtos do ácido araquidônico na região de pressão. Em virtude da liberação destes mediadores químicos, associados à lesão tecidual induzida, poderá haver aumento na permeabilidade vascular e formação de exsudato e infiltrado inflamatório; 3) fase reparatória ou final: ocorre logo após a reabsorção óssea frontal dar lugar ao deslocamento do dente no alvéolo.

Henneman, Von den Hoff e Maltha (2008), baseando-se nos conhecimentos atuais, introduziram um novo modelo teórico para elucidar a complexa cascata de acontecimentos após a aplicação de uma força ortodôntica. Para estes autores, a

terminologia adequada para ser utilizada deve ser lado de aposição e lado de reabsorção, pois eles consideram os termos lado de pressão e lado de tensão, inadequados. Este modelo teórico não inclui a fase de hialinização e reação inflamatória subsequente e descreve quatro estágios na indução da movimentação dentária. A tensão na matriz do ligamento periodontal e no osso alveolar imediatamente após a aplicação da força resultam em: escoamento do fluido em ambos os tecidos; como resultado da tensão na matriz e escoamento do fluido, as células são deformadas; como resposta a esta deformação, os fibroblastos e osteoblastos no ligamento assim como os osteócitos no osso são ativados; a combinação de remodelação do ligamento periodontal juntamente com o processo localizado de aposição e reabsorção do osso alveolar permite que o dente se movimente.

A quantidade de movimentação depende das propriedades biomecânicas e da dimensão do ligamento. Esse movimento origina uma tensão positiva dentro do ligamento no futuro lado de aposição e, portanto um estiramento das fibras colágenas que conectam o dente ao osso. No futuro lado de reabsorção, uma pressão negativa é induzida dentro do ligamento periodontal e conseqüentemente, a fibras ficam relaxadas (REITAN, 1951).

A tensão exercida depende da força aplicada e das propriedades físicas do ligamento periodontal, as quais foram avaliadas através da medição da quantidade de deslocamento dentário em relação à força aplicada em modelos experimentais realizados tanto em animais como em humanos. Existem evidências crescentes de uma correlação não linear e tempo dependente entre a força aplicada e o deslocamento do dente, indicando que o ligamento periodontal tem comportamento visco-elástico (CRONAU et al., 2006; YOSHIDA et al., 2001). A aplicação de uma força externa também resulta em tensão no osso alveolar no lado de aposição através dos feixes de fibras colágenas que ligam o dente ao osso (CRONAU et al., 2006).

Segundo Melsen (2001), a literatura ortodôntica ainda é caracterizada por muitas controvérsias em relação à movimentação dentária. Em seu estudo, a autora avaliou o movimento de intrusão em dentes periodontalmente comprometidos e observou que as reações biológicas eram dependentes do nível de força e da distribuição da tensão. A avaliação histológica demonstrou que as fibras do ligamento periodontal, com exceção das apicais, estavam alongadas e atividade de

formação óssea foi encontrada ao longo da maior parte do alvéolo. O estiramento das fibras induz a flexão da parede alveolar. Essa flexão, como um aumento na curvatura da parede do alvéolo, já havia sido previamente descrita por Epker e Frost (1965) como responsável pela neoformação óssea. Segundo a autora a reabsorção direta é observada por remodelação induzida pela diminuição da carga funcional do ligamento periodontal e a reabsorção indireta é observada quando ocorre isquemia e hialinização de ligamento periodontal geradas pela aplicação de forças mais elevadas.

A reabsorção óssea é um processo bastante complexo que envolve mais do que número e tamanho de osteoclastos em um determinado sítio. Outros fatores podem ser incluídos como a capacidade de reabsorção individual dos osteoclastos, a adesão dessas células à superfície óssea, o transporte de íons de Hidrogênio e a secreção enzimática. Existem ainda questões não relacionadas aos osteoclastos como mobilidade dentária aumentada, resistência tecidual reduzida, vascularização aumentada do ligamento periodontal e reduções na densidade do osso alveolar (GU, 1999).

O movimento dentário ortodôntico pode ser influenciado pelo uso de medicamentos ou suplementos da dieta. Alguns medicamentos promovem aumento da taxa de movimentação enquanto outros causam diminuição. O paracetamol, por exemplo, não altera a taxa de movimentação, mas os corticosteróides e a vitamina D3 a estimulam. Os bisfosfonados diminuem o deslocamento do dente, de maneira sempre dose-dependente. É importante que exista uma preocupação neste sentido, uma vez que, um número cada vez maior de pacientes de todas as idades, faz uso de alguma substância (BARTZELA et al., 2009).

### **1.3 Reabsorção radicular ortodonticamente induzida**

A reabsorção radicular externa causa o encurtamento da raiz e pode ser considerada como uma consequência patológica inevitável do tratamento ortodôntico. A aplicação de forças ortodônticas induz um processo local que inclui todos os eventos de uma inflamação, a qual apesar de ser essencial para a

movimentação dentária, é verdadeiramente o componente fundamental envolvido no processo de reabsorção radicular (BREZNIAK; WASSERSTEIN, 2002a).

Brezniak e Wasserstein (2002a) sugeriram que a reabsorção radicular em consequência da movimentação dentária seria mais corretamente chamada de reabsorção radicular inflamatória ortodonticamente induzida (RRIOI). Esta constitui um processo inflamatório estéril extremamente complexo, cuja severidade pode estar relacionada a diversos aspectos, incluindo força, estrutura radicular, osso, células, tecidos adjacentes e alguns mediadores biológicos. Também são citados outros componentes como susceptibilidade individual, fatores sistêmicos e genéticos porque muitas vezes existe um dano radicular evidente, mesmo em tratamentos bem sucedidos.

Os fatores de risco para a reabsorção radicular ortodôntica têm sido extensivamente pesquisados e são, em geral, divididos em fatores relacionados ao paciente e fatores relacionados ao tratamento. Sendo, portanto, de natureza biológica ou mecânica. Dos fatores mecânicos estão envolvidos movimentos dentários extensos, torque radicular, forças intrusivas, magnitude e duração da força. Dos fatores biológicos existem doenças sistêmicas, algumas medicações, morfologia radicular e susceptibilidade genética individual que podem influenciar na reabsorção radicular. Os tratamentos ortodônticos de pacientes que fazem parte de grupos de risco devem ser planejados cuidadosamente (BREZNIAK; WASSERSTEIN, 1993a).

É extremamente importante que o ortodontista faça uma avaliação criteriosa do paciente considerando sua condição sistêmica. McNab et al. (1999) encontraram em seu trabalho, que pacientes asmáticos crônicos, medicados ou não, apresentavam maior incidência de RRIOI. Estes autores acreditam que este achado resulta da proximidade das raízes em relação ao seio maxilar constantemente inflamado e ou pela presença de mediadores inflamatórios nestes pacientes.

A causa mais comum para a reabsorção radicular externa parece ser o próprio o tratamento ortodôntico. Na maioria dos pacientes este fenômeno é mínimo e não compromete a saúde do sistema estomatognático. No entanto, um número reduzido de pessoas tratadas, desenvolve grandes perdas de estrutura radicular (WEILAND, 2003). Levander e Malmgren (1988) encontraram reabsorções superiores a metade do comprimento inicial da raiz em cerca de 1% dos dentes testados.

Segundo Brezniak e Wasserstein (2002a), existem três graus de severidade da RRIOI: 1) reabsorção cementária ou superficial com reparo, onde apenas as camadas mais superficiais são removidas e posteriormente ocorre regeneração; 2) reabsorção dentinária com reparo (reabsorção profunda), onde o cimento e as camadas mais externas da dentina são reabsorvidas e geralmente reparadas com material cementário; 3) reabsorção radicular circunferencial na qual existe reabsorção total dos tecidos duros formadores do ápice radicular e o encurtamento da raiz é evidente.

Existem muitos estudos que relacionam o início da reabsorção radicular à remoção das áreas de tecido necrótico hialinizado, ocorrendo mais frequentemente em casos de compressões maiores e mais duradouras (ADACHI; IGARASHI; SHINODA, 1994; BREZNIAK; WASSERSTEIN, 2002a; BRUDVIK; RYGH, 1995; REITAN, 1974). Os odontoclastos são responsáveis por este processo, e a hialinização antecede este fenômeno. A remoção do tecido hialinizado juntamente com cementóide, fibras colágenas e osteóide ocorre antes e durante o restabelecimento do ligamento periodontal. Com isto, algumas áreas da superfície radicular tornam-se menos protegidas e, portanto, mais susceptíveis à reabsorção. Tais áreas são prontamente atacadas por odontoclastos ou osteoclastos (BREZNIAK; WASSERSTEIN, 2002a; FARREL et al., 1990; RYGH, 1977).

As primeiras células envolvidas neste processo de remoção de tecidos necróticos são negativas para fosfatase ácida tartarato resistente (TRAP) e não apresentam borda em escova. Estas células são semelhantes aos macrófagos e provavelmente são ativadas por sinais provenientes do tecido necrótico estéril resultante da aplicação da força ortodôntica (BREZNIAK; WASSERSTEIN, 1993b).

Os macrófagos são células de linhagem hematopoética cuja função, neste processo, é eliminar tecidos necróticos. Conforme descrito por Brudvik e Rygh (1995), o processo inicial de eliminação ocorre na periferia da zona hialina, onde o suprimento de sangue para o ligamento periodontal existe ou está até aumentado. Durante a remoção da área de hialinização próximo à superfície externa da raiz, a qual consiste na camada de cementoblastos que cobre o cementoide, esta pode ser danificada, expondo assim o tecido subjacente altamente mineralizado, o cimento (BREZNIAK; WASSERSTEIN, 2002b).

Estudos em humanos que fizeram associação entre reabsorção radicular e tratamento ortodôntico mostraram resultados consistentes no sentido de que forças

pesadas e constantes induzem maiores níveis de reabsorção que forças leves e intermitentes (HARRIS; JONES; DARENDELILER, 2006; OWMAN-MOLL; KUROL; LUNDGREN, 1996; WEILAND, 2003). No entanto, pesquisas sobre a associação entre reabsorção radicular e quantidade de deslocamento dentário/ duração do tratamento ortodôntico demonstraram resultados inconsistentes, considerando-se que alguns trabalhos revelaram correlação positiva entre estes aspectos avaliados, enquanto outras pesquisas não. A falta de correlação significativa é muitas vezes referida como variações genéticas na suscetibilidade à reabsorção radicular (KUROL; OWMAN-MOLL; LUNDGREN, 1996). Estudos experimentais com um modelo de tratamento ortodôntico padronizado demonstraram que mesmo em animais geneticamente similares ou homogêneos, existem grandes variações interindividuais na velocidade da movimentação dentária, no recrutamento de osteoclastos e na incidência e severidade da reabsorção radicular (HARRIS; KINERET; TOLEY, 1997; PILON; KUIJPERS-JAGTMAN; MALTHA, 1996). Portanto, variações individuais existem, mas não podem ser atribuídas exclusivamente a questões genéticas (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2007).

Os fatores reguladores responsáveis pela interrupção da reabsorção, pelo recrutamento e ativação de células reparadoras do periodonto e pela secreção do cimento de reparação são largamente conhecidos (JÄGER et al., 2008). O fenômeno destrutivo da reabsorção radicular é normalmente acompanhado por atividade reparadora dos tecidos do ligamento periodontal. No momento em que não existe mais a presença de tecido hialinizado e os níveis de força diminuem, o processo de reabsorção é interrompido e o cimento começa a ser reparado (BRUDVICK; RYGH, 1995). Inicialmente, os odontoclastos perdem sua atividade de reabsorção e se destacam da superfície reabsorvida. Esses odontoclastos desconectados, provavelmente, morrem por apoptose assim como ocorre com os osteoclastos no osso alveolar. Após essa desconexão dos odontoclastos, uma fina matriz inicial de reparação não calcificada, é depositada por células semelhantes a fibroblastos e também células cementoblásticas. O cimento de reparação inicialmente secretado por estas células é do tipo intrínseco celular em humanos e do tipo acelular em roedores (OWMAN-MOLL; KUROL, 1998).

Ren, Maltha e Kuijpers-Jagtman (2007), através de um estudo experimental em ratos *wistar*, avaliaram a influência da idade na correlação entre velocidade, quantidade e duração de movimentação e reabsorção radicular. Estes autores

observaram que houve correlação positiva entre estes fatores apenas no grupo de animais adultos, mas no grupo de animais jovens, nenhuma correlação estatisticamente significativa foi encontrada. Os achados sugerem que grupos com idades variadas apresentam fatores de risco diferentes para reabsorção radicular.

Considerando-se que a perda de substância radicular é consequência indesejável do tratamento ortodôntico e de caráter irreversível, o desenvolvimento de mecanismos capazes de preveni-la tem grande importância clínica. Os bisfosfonados despontam como alternativa provável para o controle da reabsorção radicular, uma vez que funcionam como bloqueadores ou inibidores da ação dos osteoclastos (FARREL et al, 1990; IGARASHI et al., 1994; ZAHROWSKI, 2007).

#### 1.4 Bisfosfonados

Os bisfosfonados vêm sendo estudados desde o século XIX, tendo sido sintetizados pela primeira vez em 1865 na Alemanha. No início dos anos 60, Fleish provou que o pirofosfato inorgânico (PPi) prevenia a calcificação de fluidos corporais pela ligação aos cristais de hidroxiapatita porém, as formas orais de PPi eram inativadas pelas pirofosfatases secretadas pela mucosa gastrointestinal. Na tentativa de encontrar análogos estáveis desses pirofosfatos inorgânicos, os bisfosfonados foram bastante pesquisados ao longo dos anos (GUTTA; LOUIS, 2007).

Os bifosfonatos são análogos sintéticos do pirofosfato inorgânico e apresentam em sua estrutura química dois grupamentos fosfato ( $\text{PO}_3$ ) ligados covalentemente a um carbono central, acrescidos de duas cadeias denominadas genericamente de R1 e R2. A primeira cadeia, curta (R1), é responsável pelas propriedades químicas e farmacocinéticas destes medicamentos, além de conferir, em conjunto com os grupamentos fosfato, alta afinidade ao tecido ósseo. Já a cadeia longa (R2) determina a potência anti-reabsortiva e o mecanismo de ação farmacológico. Ambas as cadeias são de suma importância para a efetividade destes medicamentos (GUTTA; LOUIS, 2007).

Embora sejam estruturalmente análogos dos PPi, eles diferem destes, por possuírem um átomo de carbono substituindo o átomo central de oxigênio (P-C-P) (ZAHROWSKI, 2009), o que lhes confere estabilidade e resistência à hidrólise

podendo ser administrados por via oral sem serem inativados (GUTTA; LOUIS, 2007). Todos os bisfosfonados possuem propriedades físico-químicas e farmacocinéticas similares. A sua farmacologia clínica se caracteriza por baixa absorção intestinal, pelo fato de serem pouco lipofílicos, são excretados pelos rins sem alteração metabólica e possuem alta afinidade por cristais de hidroxiapatita (GUTTA; LOUIS, 2007; ZAHROWSKI, 2009).

Aproximadamente 50% da dose absorvida se liga ao tecido ósseo. A meia vida dos bisfosfonados no plasma é de poucas horas, mas dura cerca de dez anos no osso, sendo considerados como drogas de alta persistência (ZAHROWSKI, 2009). Após serem depositados no esqueleto devido à sua alta afinidade pela hidroxiapatita, só são liberados quando o osso é destruído no curso da renovação (GUTTA; LOUIS, 2007). Durante o processo de remodelação óssea, a droga é fagocitada pelos osteoclastos e internalizada no citoplasma celular, onde inibe a função osteoclástica e induz apoptose (GRAHAM, 2006; MIGLIORATI et al., 2005)

Quanto ao seu mecanismo de ação, vários estudos pré-clínicos sugerem que estes medicamentos apresentam efeitos diretos contra tumores, além da habilidade para reduzir a reabsorção óssea mediada por osteoclastos. Esses efeitos incluem inibição da adesão de células tumorais ao osso, indução de apoptose de células tumorais, antagonismo a fatores de crescimento e efeitos anti-angiogênicos. A angiogênese é essencial para a metástase e sobrevivência de tumores sólidos (PATERSON, 2006). Os bisfosfonados inibem várias metaloproteinases envolvidas no crescimento tumoral e o surgimento de metástases (GUTTA; LOUIS, 2007).

Os bisfosfonados podem inibir a reabsorção óssea pelo estímulo da produção de fatores inibidores de osteoclastos por osteoblastos. Esses medicamentos parecem ser potentes inibidores da proliferação de macrófagos, células da mesma linhagem dos osteoclastos. Inibem as ATPases, fosfatases e outras enzimas lisossomais de osteoclastos (GUTTA; LOUIS, 2007).

Após a descoberta da sua eficácia na formação e dissolução de fosfato de cálcio *in vitro*, bem como na mineralização e reabsorção óssea *in vivo*, estes medicamentos passaram a ser utilizados no tratamento de distúrbios ósseos tais como a Doença de Paget, a hipercalcemia maligna, a displasia fibrosa, múltiplo mieloma e a osteoporose (FLEISCH, 1998; GRIER; WISE, 1998; ITO et al., 2001; KIM et al., 1999; LIU et al., 2004, RODAN; FLEISCH, 1996; ZAHROWSKI, 2009). O uso destes fármacos em diversos tipos de câncer resultou em redução

estatisticamente significativa de complicações esqueléticas, incluindo fraturas, compressão da espinha dorsal, necessidade de radioterapia e cirurgias ósseas (ZAHROWSKI, 2009.)

Estes compostos podem ser divididos em dois subgrupos dependendo da presença ou não de um átomo de Nitrogênio. Bisfosfonados não aminados, os primeiros a serem usados clinicamente (etidronato e clodronato), são metabolizados para formar análogos citotóxicos de adenosina tri-fosfato (ATP) que se acumulam intracelularmente nos osteoclastos e induzem apoptose (FRITH et al., 1997; ZAHROWSKI, 2009).

Investigações recentes têm demonstrado que bisfosfonados aminados como pamidronato, alendronato, ibandronato e zoledronato são mais potentes que aqueles que não possuem esta característica (WOO; HELLSTEIN; KALMAR, 2006). No entanto, a maioria dos aminobisfosfonados parece ter efeitos inflamatórios secundários como febre, perturbações gastrointestinais e inflamações oftálmicas. As reações febris são muito comuns nos pacientes em que estes aminobisfosfonados são administrados pela primeira vez por via intravenosa e mesmo em um número significativo de pacientes que fazem uso oral. Além disso, recentemente muitos trabalhos foram publicados descrevendo eventos de osteonecrose dos maxilares associados a este tipo de bisfosfonados (RUGGIERO et al., 2004; WOO; HELLSTEIN; KALMAR, 2006).

Os aminobisfosfonados apresentam duas ações: indução de outro análogo de adenosina tri-fosfato que provoca apoptose e inibição da farnesyl difosfato sintase, que é parte da via do mevalonato da síntese do colesterol. Esta inibição resulta no desequilíbrio do transporte intracelular, desorganização do citoesqueleto e da proliferação celular, levando à inibição da ação dos osteoclastos. Além disso, os aminobisfosfonados reduzem o recrutamento de osteoclastos e induzem os osteoblastos a produzir um fator de inibição destas células (WOO; HELLSTEIN; KALMAR, 2006). Como são capazes de inibir a produção de compostos isoprenóides (farnesil pirofosfato e geranylgeranyl pirofosfato) da via do mevalonato, previnem a prenilação de proteínas importantes para a manutenção do citoesqueleto, induzindo apoptose. (FRITH et al., 2001).

A apoptose ou morte celular programada foi descrita em osteoclastos há muitos anos e talvez seja a via normal de morte dessas células (RODAN; FLEISCH, 1996). O seu tempo de vida, estimado a partir de estudos histológicos, é de duas a

quatro semanas *in vivo* e de no máximo duas semanas *in vitro*. Já foi descrito que os bisfosfonados aumentam a apoptose de osteoclastos, tanto *in vivo* quanto *in vitro* (HUGHES et al., 1995).

Atualmente, é aceito que muitos fatores que estimulam a reabsorção óssea mediada por osteoclastos, tais como paratormônio, prostaglandina E, interleucina-1 e fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) agem indiretamente via osteoblastos. Na ausência de osteoblastos, a concentração de bisfosfonados necessária para a redução da atividade dos osteoclastos é maior, sugerindo que o mecanismo de ação destes compostos também se dá via inibição da ativação de osteoclastos por osteoblastos. Existem ainda evidências de que os osteoblastos produzem fatores que estimulam a atividade de osteoclastos maduros (RODAN; FLEISCH, 1996).

A inibição direta da atividade dos osteoclastos é sugerida por observações *in vivo* pelo desaparecimento da borda em escova, que é a membrana convoluta dos osteoclastos associada a sua atividade. Essa membrana parece ser o sítio do tráfego bidirecional: enzimas lisossomais e prótons são liberados no hemivacúolo de reabsorção, que age como um lisossomo gigante, enquanto o cálcio e os produtos de degradação da matriz são internalizados e transportados via transcitose para a membrana baso-lateral da célula (SATO et al., 1991). O mecanismo através do qual o bisfosfonado penetra no osteoclasto não está claro, mas pode ocorrer tanto por difusão passiva como durante a reabsorção, graças às características endocíticas destas células (IGARASHI et al., 1996; SAHNI et al., 1993). Estes processos são creditados a estas bordas em escova. Alguns autores sugerem, todavia, a existência de outra via absorptiva (ITO et al., 2001).

Osteoclastos examinados em microscópio eletrônico após administração de alendronato não possuíam a membrana convoluta e pareciam latentes (SATO et al., 1991). Essa observação é uma forte indicação da inativação de osteoclastos por bisfosfonados *in vivo* (RODAN; FLEISCH, 1996).

Os mecanismos de ação dos bisfosfonados podem ser considerados em três níveis: tecidual, celular, e molecular. Em nível tecidual, a ação de todos os bisfosfonados aparenta ser semelhante: redução da renovação óssea, o que resulta numa reabsorção diminuída (FLEISCH, 1998; RODAN; FLEISCH, 1996); em nível celular, os osteoclastos constituem o principal alvo da ação dos bisfosfonados. Estes podem ter sua ação reduzida através da inibição do recrutamento de osteoclastos para a superfície óssea; da inibição da atividade destas células na superfície óssea;

da diminuição do ciclo celular dos osteoclastos, os quais, após desligarem-se da superfície óssea, sofreriam um processo de apoptose; e da alteração óssea ou do mineral ósseo, reduzindo o grau de sua dissolução e em nível molecular, a cadeia de eventos que leva à inativação de osteoclastos, ainda não foi totalmente elucidada (ADACHI; IGARASHI; SHINODA, 1994; ITO et al., 2001; MURAD et al., 1997; RODAN; FLEISCH, 1996; RUSSEL; ROGERS, 1999).

A ação farmacológica dos bisfosfonados no uso clínico é a inibição da reabsorção óssea (FUJIMURA et al., 2009; MURAD et al., 1997). Entretanto, há estudos que sugerem a possibilidade de estimulação da formação óssea quando a droga é administrada em doses mais baixas do que aquelas necessárias para prevenir a reabsorção. Isto pode ser atribuído ao efeito positivo no processo de diferenciação dos osteoblastos (HORIE et al., 2003). Diversos estudos têm atribuído uma ação específica destes medicamentos sobre os osteoblastos, especialmente do clodronato, que em doses relativamente menores que as redutoras ou preventivas da reabsorção óssea podem apresentar um efeito na diferenciação de osteoblastos, estimulando a neoformação óssea (CONSOLARO, 2005).

Bradaschia-Correa, Massa e Arana-Chavez (2007), em uma pesquisa realizada em ratos administrando alendronato desde o nascimento até o trigésimo dia de vida, encontraram que este medicamento é capaz de inibir a erupção dentária e a formação radicular. Sabe-se ainda que, em determinadas concentrações, os bisfosfonados provocam suaves alterações na formação da dentina e do esmalte. Tais agentes, portanto, devem ser avaliados criticamente antes de serem usados em crianças e adolescentes, uma vez que a sua interferência no crescimento e no desenvolvimento dentário ainda não foi totalmente elucidada. Em adultos, por sua vez, não são encontrados relatos de efeitos colaterais significativos (GRIER; WISE, 1998).

A relação direta entre a renovação óssea e a função inibitória dos bisfosfonados sobre os osteoclastos não pode ser aplicada diretamente à superfície radicular, uma vez que tal fenômeno não é observado neste local. Isto sugere que ali, concentrações mais altas de tais compostos poderão ser observadas por mais tempo o que, supostamente, pode comprometer a reabsorção radicular sem alterar o movimento ortodôntico (IGARASHI et al., 1996). Por outro lado, acredita-se que o período de maior concentração de osteoclastos na superfície radicular não coincide com o de máxima atividade destas células na superfície óssea e, conseqüentemente,

com o de movimentação ortodôntica mais intensa. De fato, este pico de concentração de osteoclastos na raiz ocorre posteriormente, o que pode viabilizar a utilização de bisfosfonados para diminuir o risco de reabsorção radicular sem comprometer a taxa de movimentação dentária (RODY JUNIOR; KING; GU, 2001).

Um estudo desenvolvido para avaliar o efeito dos bisfosfonados, administrados sistemicamente, sobre a ancoragem e a contenção ortodônticas mostrou que tais compostos podem ser úteis para que a recidiva e a perda de ancoragem sejam evitadas (IGARASHI et al., 1994). Outra pesquisa realizada com administração tópica dos bisfosfonados em ratos mostrou que esta forma de aplicação também pode desencadear tais efeitos (ADACHI; IGARASHI; SHINODA, 1994; KELES et al., 2007). Igarashi et al. (1996) sugerem que o risedronato aplicado topicamente pode inibir a reabsorção radicular decorrente da movimentação dentária e não impede o processo de reparação radicular que ocorre após cessada a força.

O clodronato é um bisfosfonado não aminado que contém dois átomos de cloro em sua cadeia lateral. Devido à sua grande similaridade estrutural aos pirofosfatos, ele inibe a função osteoclástica por ser metabolizado em um análogo de ATP não hidrolisável (LIU et al., 2004). Foi o primeiro bisfosfonado a ser usado no tratamento das metástases ósseas, em formulações orais para o tratamento de lesões osteolíticas, hipercalcemias e dor óssea em pacientes com câncer de mama e mieloma múltiplo (GRIDELLI, 2007; ÖSTERMAN et al., 1998).

Como qualquer bisfosfonado, inibe o recrutamento de osteoclastos e também promove apoptose destas células, parecendo ser este último mecanismo, a maior fonte de inibição da reabsorção óssea por estes medicamentos. Por ligar-se de maneira eficiente a hidroxiapatita, pode ter efeito direto no tratamento ortodôntico no que diz respeito à diminuição da movimentação dentária e da reabsorção radicular. No entanto, o mecanismo de ação destes medicamentos ainda não foi claramente determinado (LIU et al., 2004).

Em estudo realizado por Liu et al. (2004), utilizando-se aplicação local de clodronato em ratos, observou-se que esta substância reduziu a movimentação dentária induzida pelo stress ortodôntico, sendo seu efeito inibitório, dose-dependente. Houve significativa redução do número de osteoclastos e diminuição na reabsorção radicular no lado em que o medicamento foi injetado em relação ao lado controle. Os autores sugeriram que o uso localizado do clodronato pode ser um agente benéfico no tratamento ortodôntico, mas que são necessárias maiores

pesquisas neste sentido. Por possuir propriedades antiinflamatórias, pode ser útil em casos de reabsorção óssea aumentada associada a doenças inflamatórias como artrite reumatóide e periodontites.

Para elucidar de que maneira o clodronato afeta as respostas celulares no ligamento periodontal, especialmente no que se refere à reabsorção óssea, Liu et al. (2006), em estudo *in vitro*, utilizaram culturas de células do ligamento periodontal humano e avaliaram a hipótese deste medicamento ser capaz de prevenir a produção de moléculas pró-inflamatórias como a prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), a interleucina 1β (IL-1β) e óxido nítrico (ON), as quais tem importante papel nos efeitos reabsortivos decorrentes da estimulação mecânica ortodôntica. Estes autores encontraram que esta substância foi capaz de inibir a produção da PGE<sub>2</sub>, uma das principais moléculas sinalizadoras nas respostas do ligamento periodontal após aplicação de força ortodôntica. Em relação à interleucina 1β (IL-1β) e ao óxido nítrico, os efeitos foram menos evidentes. Eles concluíram que o efeito inibidor do clodronato na movimentação ortodôntica e no número de osteoclastos, deve-se em parte pela inibição severa de uma molécula que é dependente da produção de PGE<sub>2</sub>, o que gera diminuição na expressão do ligante do receptor ativador do fator nuclear Kappa B (RANKL), fator essencial na diferenciação e ativação de osteoclastos e na prevenção de apoptose destas células.

Endo et al. (1999) demonstraram que o clodronato previne os efeitos inflamatórios decorrentes da aplicação de bisfosfonados aminados podendo ser aplicado em conjunto com os mesmos, para diminuir os efeitos indesejáveis destes medicamentos em ratos. Em termos de efeito protetor, o clodronato é superior tanto a aspirina (uma droga antiinflamatória não esteróide) quanto à dexametasona (um antiinflamatório esteróide sintético).

Oizumi et al. (2009), em modelo experimental de necrose em ratos encontraram resultados que, comparados com outros já publicados na literatura, sugeriram que: o clodronato inibe as ações inflamatórias e necróticas de aminobisfosfonados reduzindo a incorporação dos mesmos em células relacionadas a estas reações; clodronato pode ser usado como uma droga de combinação com aminobisfosfonados para limitar ou impedir as ações de necrose destes medicamentos, mas mantendo a capacidade anti-reabsortiva; e clodronato também pode ser útil como uma droga de substituição para aminobisfosfonados em pacientes com risco de osteonecrose dos ossos maxilares. No entanto, ainda não

está claro como o clodronato inibe as ações inflamatórias de aminobisfosfonados (OIZUMI et al., 2009).

### 1.5 Osteonecrose dos maxilares

A osteonecrose dos maxilares tem sido identificada como um potencial efeito adverso de bisfosfonados aminados. Os bisfosfonados usados inicialmente não apresentavam cadeia lateral de nitrogênio e por isso, eram menos efetivos. O risco de osteonecrose em pacientes que fazem uso destes medicamentos ainda não está claramente definido, mas estudos epidemiológicos e a experiência clínica demonstram que existe maior ocorrência de casos, em pacientes que fazem uso intravenoso que naqueles que fazem uso deste medicamento por via oral (RUGGIERO et al., 2004).

A partir de 2003, alguns autores começaram a relatar aparente associação entre a administração de bisfosfonados principalmente intravenosos e osteonecrose dos maxilares (ZAHROWSKI, 2009) A osteonecrose foi definida como exposição óssea espontânea ou regiões sem cicatrização provenientes de extrações dentárias podendo ou não envolver infecção, fistulação ou fratura. A presença destas lesões complica o manejo oncológico, nutricional e bucal dos pacientes afetados e, prejudica a qualidade de vida dos pacientes (MIGLIORATI et al., 2005). Considera-se osteonecrose quando estiverem presentes as seguintes condições: atual ou prévio tratamento com bisfosfonados; osso necrótico na região maxilo-mandibular persistindo por mais de oito semanas; nenhuma história de radioterapia na maxila/mandíbula (DANNEMANN et al., 2007). Muitos fatores podem contribuir para a osteonecrose após a administração intravenosa destes medicamentos tais como quimioterapia, uso de glicocorticóides ou antiangiogênicos, desordens vasculares periféricas e infecções (GRAHAM, 2006).

Os estágios iniciais da osteonecrose dos maxilares exibem pequena ou nenhuma modificação no osso que possa ser percebida em radiografias periapicais ou panorâmicas, tomografia computadorizada ou ressonância magnética. Osteonecrose relacionada ao uso de bisfosfonados deve ser incluída como um possível diagnóstico diferencial para qualquer paciente com história de exposição a

este medicamento, apresentando dor em região edêntula da maxila ou mandíbula e sem nenhuma evidência clínica ou radiográfica de patologia inflamatória, cística ou neoplásica (FANTASIA, 2009).

Em pacientes que receberam bisfosfonado intravenoso, a apresentação típica da osteonecrose se faz por dentes doloridos e com abscessos que ao serem extraídos expõem osso necrótico. Apresenta-se por osso exposto (68%), pelo menos uma unidade dentária com mobilidade (23%) e fístulas (17%). Pacientes em estágio avançado desta condição podem desenvolver fraturas mandibulares. A mucosa circunjacente ao osso alveolar necrótico não se encontra intacta, estando frequentemente dolorida, inflamada e suscetível a infecções severas o que pode resultar em uma condição debilitante em longo prazo. Em pacientes que fazem uso destes medicamentos, os sintomas imitam doença periodontal; portanto, a osteonecrose deve ser considerada como possível diagnóstico diferencial (ZAHROWSKI, 2009).

A lesão inicial observada nos casos de osteonecrose dos maxilares associada aos bisfosfonados é uma deiscência da mucosa, com exposição do osso subjacente na mandíbula ou maxila. Embora a lesão em si seja declaradamente dolorida, alguns pacientes notam, inicialmente, irritação das estruturas adjacentes como, por exemplo, a borda lateral da língua em decorrência do contato constante com o osso exposto. O fato mais preocupante destas lesões, é que elas não respondem bem a nenhum tipo de tratamento conhecido. A intervenção cirúrgica normalmente resulta em mais osso necrótico e mais deterioração. A interrupção do uso do medicamento, não melhora a condição do paciente, provavelmente pela persistência do composto nos ossos. Mesmo o tratamento com oxigênio hiperbárico, o qual é benéfico no tratamento de osteoradionecrose, não é eficiente nestes casos (GRAHAM, 2006).

A osteonecrose induzida por bisfosfonados é decorrente de uma osteopetrose na qual a microcirculação sanguínea no osso encontra-se tão diminuída que em um determinado momento a necrose é alcançada. Se a matriz mineral não é absorvida pelos osteoclastos, o crescimento de novo osso e a formação de capilares não serão estimulados adequadamente, isso eventualmente leva à formação de osso acelular e avascular. Nos estudos em animais, os bisfosfonados têm demonstrado propriedades antiangiogênicas, o que pode explicar parcialmente o desenvolvimento da osteonecrose, uma vez que o osso tem sua capacidade de cicatrização limitada pela vascularização diminuída. Reid, Bolland e Grey (2007) acreditam que os

bisfosfonados ficam acumulados no osso em uma concentração tão elevada, sendo muitas vezes citotóxicos para os tecidos moles, ou seja, para o epitélio oral, gerando estas lesões.

O uso prolongado de bisfosfonados é capaz de suprimir o *turnover* ósseo, fazendo com que estes danos sejam acumulados. Embora a atividade osteoblástica esteja diminuída, a contínua mineralização origina um osso quebradiço, com aspecto osteopetrótico e com risco aumentado de fraturas. Na homeostase óssea normal, a reabsorção osteoclástica está intimamente ligada à deposição óssea osteoblástica e ambas as funções são essenciais para os reparos de pequenos danos fisiológicos (ZAHROWSKI, 2009).

Os eventos que precipitam a exposição de osso necrótico são extrações dentárias (37%), doença periodontal pré-existente (28%), cirurgia periodontal (11%), colocação de implantes (3%), apicectomia (1%) e ocorrências espontâneas (25%). Apenas os bisfosfonados mais potentes contendo nitrogênio (ácido zoledronico, pamidronato, alendronato, risedronato e ibandronato) têm sido relacionados com osteonecroses nos ossos alveolares (ZAHROWSKI, 2009).

## 1.6 Modelo experimental

Apesar de mais de um século de experiência da Ortodontia em mover dentes através da aplicação de uma força, o mecanismo básico por trás deste processo ainda não é totalmente conhecido. As abordagens utilizadas na prática diária são baseadas muito mais na experiência clínica que em dados experimentais. Embora a excelente eficiência na movimentação dentária seja o objetivo final na clínica ortodôntica, nenhuma evidência baseada no regime de aplicação de força pode ser recomendada (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004).

Na tentativa de ampliar a visão sobre a resposta biológica frente às forças ortodônticas, são realizados numerosos de experimentos com variadas espécies animais como ratos, cães, gatos e primatas (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2003). Uma das principais preocupações ao se realizar experimentos em animais, é se os resultados obtidos podem ser extrapolados para situação semelhante em humanos. Como a maioria destes trabalhos é realizada em ratos, é importante que

sejam consideradas algumas diferenças morfológicas e fisiológicas entre o osso alveolar e o ligamento periodontal de ratos e humanos (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004). Estudos histológicos clássicos têm revelado algumas diferenças no arranjo das fibras periodontais e estruturas de suporte. O desenvolvimento tecidual durante a formação radicular e as reações tissulares decorrentes do tratamento ortodôntico parecem ser mais rápidas em ratos que em humanos, embora, os mecanismos principais sejam os mesmos (RYGH et al., 1986). Portanto, apesar das diferenças, ratos são considerados, em geral, como um bom modelo para estudar movimento dentário ortodôntico por apresentarem uma série de vantagens práticas (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004).

O primeiro ponto a ser considerado é o custo relativamente baixo desses animais, o que facilita a utilização de amostras maiores e que podem ser acondicionadas por períodos de tempo mais longos. Em segundo lugar, a preparação histológica do material de ratos é mais fácil que, por exemplo, do material de cães. Outra vantagem considerável é que a maioria dos anticorpos necessários para técnicas biológicas celulares e moleculares são disponíveis apenas para ratos e camundongos. Finalmente, linhagens transgênicas são quase que exclusivamente desenvolvidas em pequenos roedores. Uma vez que camundongos são muito pequenos para que aparelhos ortodônticos efetivos sejam montados, os ratos se tornam a primeira escolha nestes experimentos (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004).

Todos os ratos domésticos e de laboratório descendem de uma única espécie, a *Rattus norvegicus* (CONSOLARO, 2005). A linhagem de ratos mais utilizada neste tipo de trabalho é a de ratos Wistar. Um rato de noventa dias corresponde a um adulto jovem, sem crescimento e sexualmente maduro. A utilização de animais do sexo masculino elimina as variações decorrentes do ciclo hormonal das fêmeas. É muito importante que a idade e o peso dos animais sejam considerados, sendo mais utilizados na literatura animais de 90 a 120 dias e peso médio de 350g. Essas características equivalem à fase adulta jovem do homem (CONSOLARO, 2005).

O dente movimentado experimentalmente é o primeiro molar superior pela ativação de uma mola ancorada nos incisivos. Os molares murinos superiores apresentam um volume bem menor que os incisivos e sua formação se completa em cerca de setenta dias. Os incisivos são monorradiculares e apresentam erupção

contínua ao longo da vida para compensar o constante desgaste ocasionado pela função de roer. Sua raiz é longa, curva para trás e a sua extensa base de implantação óssea, permite que sejam utilizados como ancoragem para movimentar o primeiro molar (CONSOLARO, 2005).

Os molares não apresentam rizogênese contínua, possuem cinco raízes das quais a mesiovestibular e a distoventibular são as maiores e mais utilizadas nas análises microscópicas. Devido à localização das raízes em planos diferentes, não é possível a obtenção de todas em um mesmo corte longitudinal (CONSOLARO, 2005).

O osso alveolar em ratos é mais denso. O tecido osteóide junto à superfície do osso alveolar é geralmente menos abundante nesses animais (REITAN; KVAM, 1971). A matriz extracelular do osso de ratos contém relativamente poucos ácidos mucopolissacarídeos e o equilíbrio de cálcio parece ser controlado mais por absorção intestinal do que pelo tecido ósseo (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004). O modelo experimental de movimentação dentária induzida em ratos foi descrito, pioneiramente, por Heller e Nanda (1979). As principais variações nos vários dispositivos ortodônticos apresentados na literatura dizem respeito ao tipo de fio utilizado, à extensão da mola e à forma de fixação da mesma no molar e no incisivo (CONSOLARO, 2005). Os dentes de ratos são muito pequenos, cerca de 50 vezes menores que os dentes humanos, o que dificulta a colocação de um aparelho ortodôntico adequado para produzir força contínua e constante (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004).

O efeito nos tecidos a partir de uma determinada força aplicada depende do tamanho do dente a ser movimentado. Portanto, a magnitude da desta carga tem que estar de acordo com a área da superfície radicular (ISAACSON; LINDAUER, 1993). Tanto trabalhos clínicos como experimentais tem demonstrado que existem várias fases durante o movimento dentário. É preciso de alguns dias a algumas semanas para se atingir a chamada fase linear, onde o movimento real do dente ocorre através do osso. Portanto, estudos que visam descrever as características e a resposta biológica na fase linear da movimentação, devem ter um período experimental de no mínimo duas semanas. Além do mais, como a interrupção da força aplicada ou a modificação da sua magnitude dificultam a interpretação da relação entre força e deslocamento dentário, forças contínuas e constantes são

recomendadas em pesquisas experimentais (VAN LEEUWEN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 1999).

## 2 PROPOSIÇÃO

Após o exposto, a autora se propôs a:

- a) avaliar a ação de dois regimes de aplicação de clodronato dissódico no periodonto de inserção de ratos (*Rattus norvegicus*), durante duas semanas de movimento dentário ortodôntico; considerando-se os seguintes aspectos:
  - número de osteoclastos,
  - áreas de reabsorção radicular;
- b) comparar as taxas de movimentação dentária neste mesmo período;
- c) avaliar se a aplicação diferenciada deste medicamento pode reduzir a reabsorção radicular sem afetar significativamente a movimentação dentária induzida ortodonticamente.

### 3 MATERIAL E MÉTODO

Esta pesquisa constituiu estudo experimental *in vivo*. Foram seguidas as normas de conduta para experimentação animal do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) – Bahia (Protocolo nº 023/09) após aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Bahia (UFBA), de acordo com as normas para prática didático-científica da vivisseção de animais, recomendadas pela Lei nº 6638/79 revogada pela Lei nº 11.794/08 (Brasil, 2008). Foram utilizados 63 ratos da espécie *Rattus norvegicus*, adultos, machos, apresentando dentição permanente completa, com peso aproximado de 300g, cerca de 100 dias de nascidos e clinicamente saudáveis.

#### 3.1 Condições ambientais

Durante o período experimental, os animais foram mantidos no biotério do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz - FIOCRUZ com temperatura entre 22 e 26°C e iluminação dia e noite. A alimentação consistiu em ração Purina Labina™ e água *ad libitum*, sendo os animais, pesados no início da pesquisa e no dia do sacrifício, com o objetivo de se observar quaisquer alterações de peso relacionadas às condições experimentais.

#### 3.2 Caracterização da amostra

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em grupo controle (GC) e grupos experimentais A (GA) e B (GB). O grupo controle foi submetido à movimentação dentária ortodôntica sem administração de qualquer medicamento e avaliado de acordo com o dia da eutanásia, que ocorreu no sétimo (GC7), décimo (GC10) e décimo quarto dias (GC14). Cada um desses subgrupos era constituído por sete animais. O grupo experimental foi submetido à movimentação dentária e

aplicação do medicamento, sendo dividido em Grupo A (GA) (fármaco aplicado por via subcutânea em dias alternados) e Grupo B (GB) (fármaco aplicado por via subcutânea no quinto e/ou décimo segundo dia). Estes dois grupos experimentais também foram subdivididos e avaliados de acordo com os mesmos dias de eutanásia do grupo controle (GA7, GA10, GA14, GB7, GB10, e GB14).

Os animais foram mantidos separadamente em gaiolas adequadas, identificadas e organizados de acordo com o quadro abaixo.

Grupo /Dia	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
GC7	Ap mo	mo	mo	mo	mo	mo	mo	E							
GC10	Ap mo	mo	E												
GC14	Ap mo	mo	mo	mo	mo	mo	E								
GA7	Ap mo C	mo	C mo	mo	C mo	mo	mo	E							
GA10	Ap mo C	mo	C mo	mo	C mo	mo	C mo	mo	C mo	mo	E				
GA14	Ap mo C	mo	C mo	mo	C mo	mo	E								
GB7	Ap mo	mo	mo	mo	C mo	mo	mo	E							
GB10	Ap mo	mo	mo	mo	C mo	mo	mo	mo	mo	mo	E				
GB14	Ap mo	mo	mo	mo	C mo	mo	mo	mo	mo	mo	mo	C mo	mo	mo	E

Quadro 1- Identificação dos grupos estudados

Legenda: (GC) Grupo controle; (GA) Grupo experimental; (GB) Grupo experimental; (Ap) montagem de aparelho; (mo) movimento ortodôntico; (E) eutanásia; (C) aplicação de clodronato.

### 3.3 Manipulação da amostra

#### 3.3.1 Anestesia

Todos os procedimentos foram realizados sob anestesia geral obtida pela associação de 1,33mg/kg de cloridrato de quetamina e 0,67mg/kg de xylazina por via subcutânea com auxílio de seringa descartável.

### 3.3.2 Montagem do aparelho

Na maxila, o aparelho, em cada hemi-arco, consistiu em fio de amarrilho metálico 0,08 polegadas (Dental Morelli Ltda, Sorocaba, São Paulo, Brasil) para adaptação na cervical do primeiro molar superior esquerdo (Figura 1, Legendas A e B). A estes acessórios foram adaptadas molas de secção fechada de Níquel-Titânio (NiTi) (TP Orthodontics Inc., Lodi, California, USA), cujas extremidades anteriores foram fixadas nos incisivos (Figura 1, Legendas C e D). A força desenvolvida por esta mola foi de 40g (40cN). Para ativá-la, os animais foram posicionados, com auxílio de um dispositivo de contenção, em decúbito dorsal, com o plano oclusal perpendicular ao solo. Foi preso à mola de NiTi um fio de amarrilho 0,08 polegadas (Dental Morelli Ltda, Sorocaba, São Paulo, Brasil) que transpassou um orifício criado entre os incisivos superiores, no terço cervical (Figura 2). A este fio, foi amarrado um peso de chumbo de 40g que ficou suspenso, criando distensão na mola que produziu força equivalente (Figura 3). Esta, então, foi fixada à superfície vestibular dos incisivos com resina composta fotopolimerizável (Vigodent S.A., São Paulo, São Paulo, Brasil) após condicionamento com ácido fosfórico a 37%, lavagem com água e secagem (Figuras 3 e 4, f. 47), removendo-se o excesso de fio de amarrilho com alicate de corte de amarrilho.

Os orifícios criados nos incisivos foram confeccionados com ponta diamantada esférica nº1/4 (K.G. Sorensen, São Paulo, São Paulo, Brasil), montada em contra-ângulo (Kavo do Brasil Ind. e Com. Ltda, Joinville, Santa Catarina, Brasil) adaptado a um motor elétrico de baixa rotação (Dentec Ind. e Com. Ltda, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) (Figura 2, a seguir).

Na mandíbula, os procedimentos limitaram-se à extração dos primeiros molares inferiores e ao desgaste dos incisivos, para evitar danos ao aparelho (Figura 4, Legenda C).

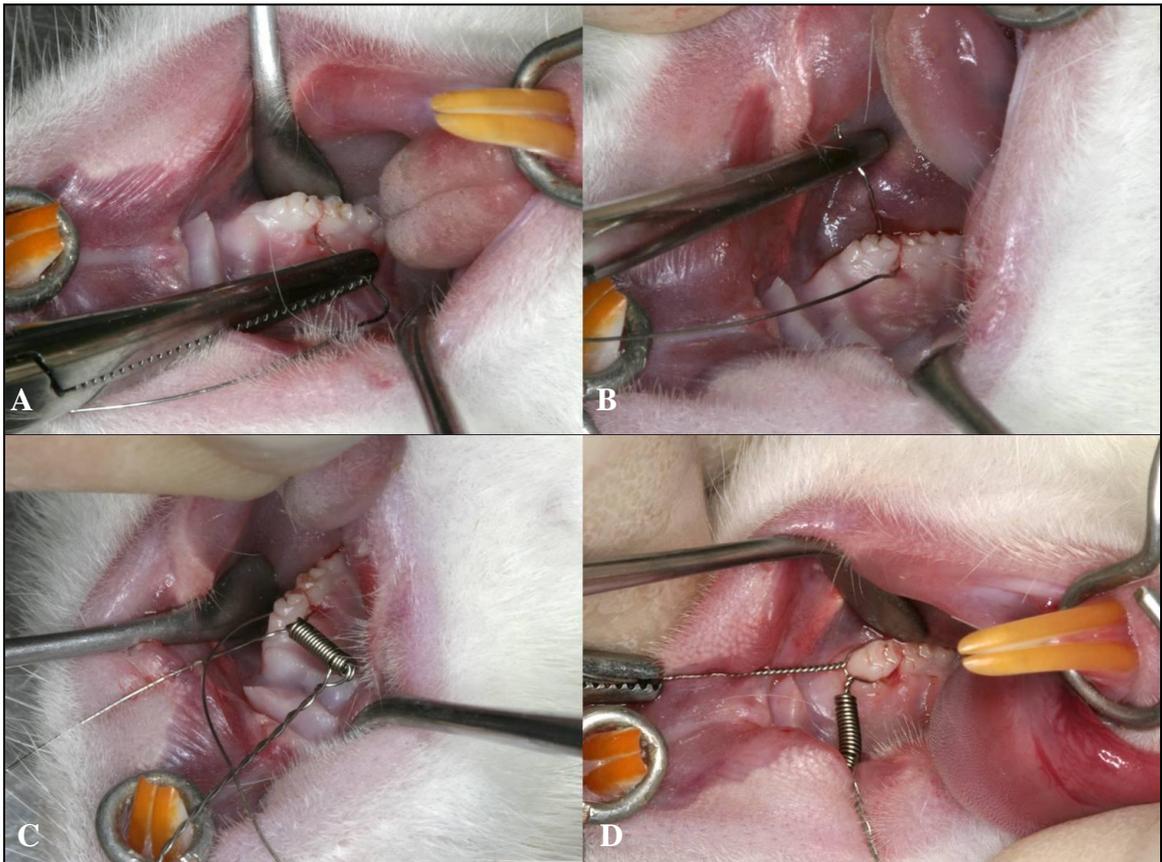


Figura 1 – Sequência da adaptação cervical do conjunto amarrilho-mola de NiTi  
Legenda: A e B) adaptação na cervical do primeiro molar superior esquerdo; C e D) extremidades anteriores fixadas nos incisivos.



Figura 2 - Orifício realizado nos incisivos superiores para passagem do conjunto amarrilho-mola de NiTi

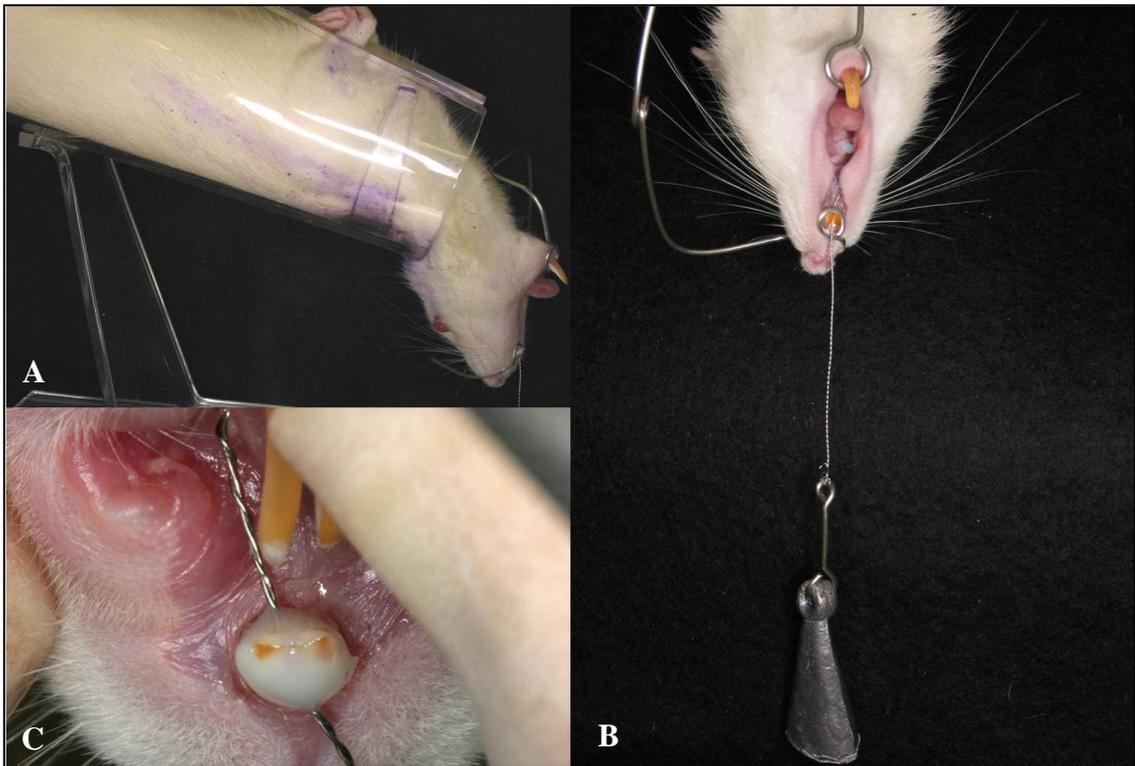


Figura 3 – Montagem do aparelho

Legenda: A) Posicionamento do animal no suporte; B) Padronização da força;  
C) Fixação nos dentes anteriores.

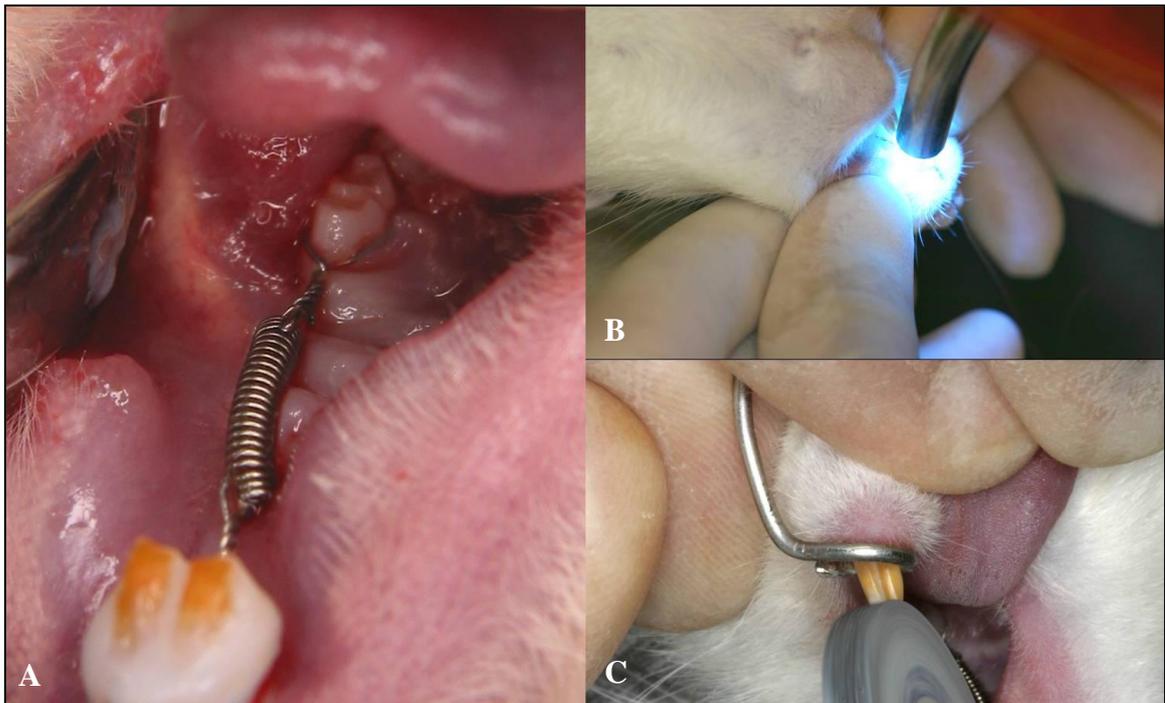


Figura 4 – Aparelho montado e desgaste nos incisivos inferiores

Legenda: A) Aparelho montado; B) Fotopolimerização da resina na região anterior;  
C) Desgaste dos incisivos inferiores.

### 3.3.3 Administração do clodronato

O fármaco foi administrado por via subcutânea na concentração de 10mg/Kg, em horário e dia pré-estabelecidos. A solução de Clodronato foi preparada diluindo-se o Ostac em água destilada até a concentração de  $2 \times 10^{-3} \text{M}$ , sendo o Potencial hidrogênio iônico (ph) ajustado a 7,4 com NaOH e a osmolaridade a 310mOsm com NaCl.

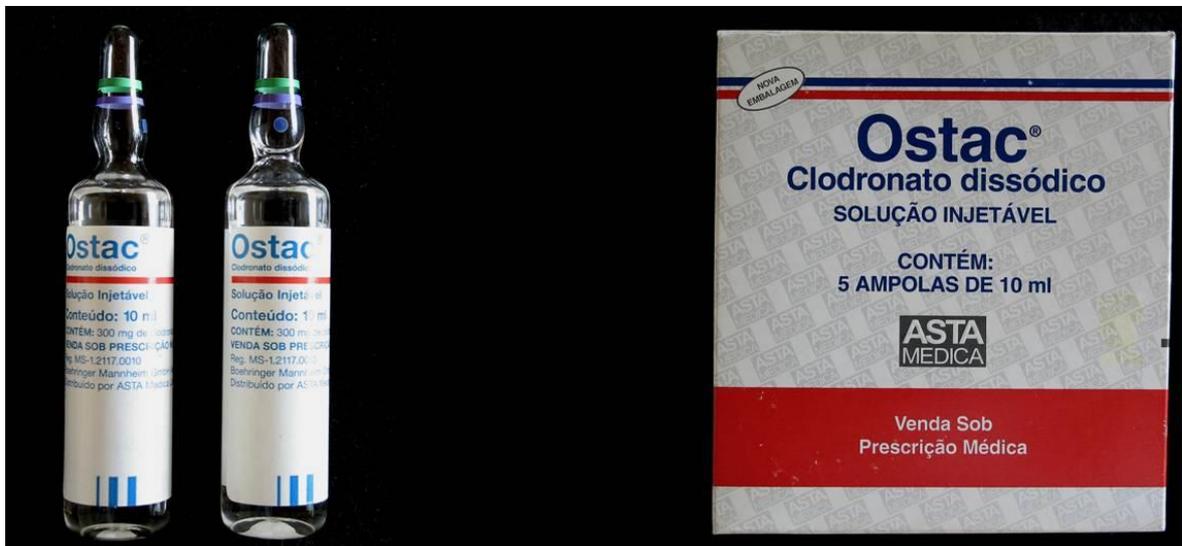


Figura 5 – Ostac (solução injetável)

### 3.3.4 Avaliação da quantidade de movimento

A avaliação clínica da movimentação dentária foi realizada por um único pesquisador (taxa de movimentação dentária) e consistiu na diferença das medidas iniciais e finais durante o período experimental, realizadas com o auxílio de paquímetro de precisão (Beerendonk Caliper 78532 – Aesculap, Tuttlingen, Baden-Württemberg, Germany), tendo como referências cavidades confeccionadas na face vestibular dos incisivos superiores e a face mesial do primeiro molar (Figura 6).

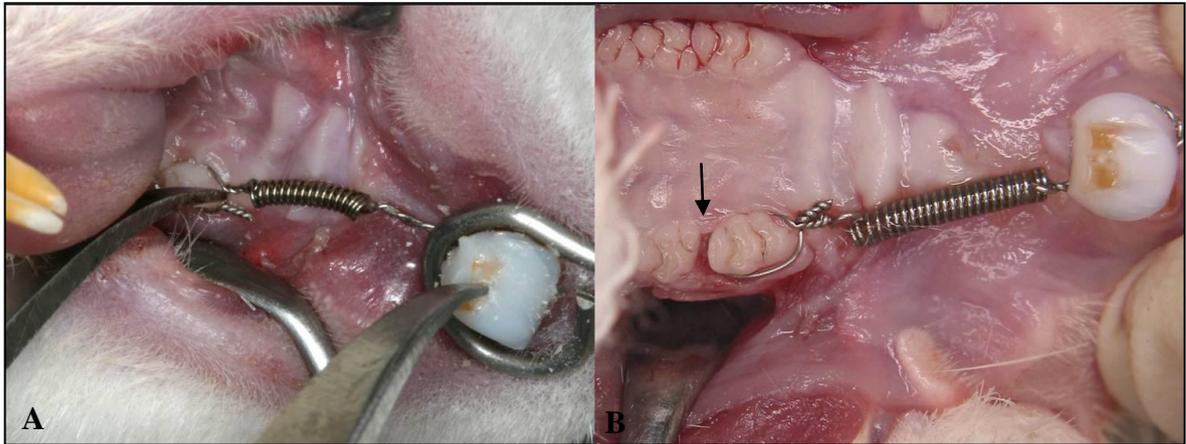


Figura 6 – Movimentação do primeiro molar

Legenda: A) Mensuração da distância entre as cavidades de referência; B) espaço criado na distal do primeiro molar pelo deslocamento mesial deste durante uma semana de aplicação de força (seta).

### 3.4 Eutanásia e processamento histológico

Os animais foram anestesiados por inalação de dietil-éter e sacrificados através de administração intra-abdominal de 40mg/Kg de pentobarbital sódico (ITO et al., 2001). Em seguida, os ossos maxilares foram dissecados e osteotomizados para a obtenção de secções teciduais das regiões mesial e distal aos primeiros molares superiores (ambos os lados), englobando estruturas periodontais e dentárias (Figura 7).



Figura 7 - Osteotomia da maxila

### 3.4.1 Microscopia de luz

A fixação das peças foi realizada em solução de paraformaldeído a 4% em PBS 0,1M por duas semanas. Subsequentemente, foram descalcificadas por quatro semanas em solução de Etilodiamino-tetracético (EDTA) a 5%.

As peças foram incluídas em parafina e os cortes teciduais (4-6  $\mu\text{m}$ ), corados por Hematoxilina-Eosina (HE), foram usados para observações gerais em microscópio de luz (Olympus BX 51) e avaliação quantitativa (histomorfometria).

A área considerada para análise foi a região de furca, mais especificamente a metade cervical da superfície mesial da raiz distal.

Sob aumento de 400x, foram considerados os seguintes aspectos: área de reabsorção radicular e número de osteoclastos, compreendendo células multinucleadas localizadas no ligamento periodontal, aderidas à superfície radicular ou ao osso alveolar. A avaliação foi realizada por um único operador com auxílio de um analisador e processador de imagens LEICA 500MC (Leica Cambridge, Cambridge, Uk) e um software de análise e processamento de imagens, Image J (Research Services Branch, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland).

### 3.5 **Análise estatística**

Os valores de taxa de movimentação dentária, número de osteoclastos e lacunas de reabsorção (LR), obtidos nos três grupos experimentais (controle, grupo A e grupo B) foram tabulados para a análise estatística. As três variáveis de resposta foram mensuradas em três tempos (7, 10 e 14 dias). Inicialmente, foi realizada a análise exploratória dos dados para verificar a homogeneidade das variâncias e para determinar se os erros experimentais apresentavam distribuição normal (Teste de Kolmogorov-Smirnov).

Apenas a variável Número de Osteoclastos não apresentou adequação aos parâmetros e foi analisada de forma não-paramétrica.

A análise estatística das variáveis taxa de movimentação dentária e lacunas de reabsorção foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) em esquema

fatorial 3 x 3, sendo os fatores representados pelos grupos (três níveis) e tempo (três níveis). As interações foram incluídas no modelo e o teste de Tukey foi utilizado para comparações múltiplas entre as médias. Os dados foram analisados no programa estatístico SAS 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, EUA) com nível de significância fixado em 5%.

Para a variável número de osteoclastos, o teste de Kruskal-Wallis/Dunn foi utilizado na comparação entre grupos e tempos. Esta análise foi feita no programa BioEstat, versão 5.0, com nível de significância de 5%.

## 4 RESULTADO

A análise de variância indicou que a interação entre os fatores Grupos e tempo não foi significativa para as variáveis Taxa de movimentação dentária ( $p=0,75$ ) e Lacunas de reabsorção ( $p=0,83$ ). Portanto, o efeito de cada fator foi estudado isoladamente.

A análise não paramétrica dos valores de Número de osteoclastos indicou diferenças significativas entre níveis dos fatores Grupo e Tempo ( $p<0,05$ ).

### 4.1 Taxa de movimentação dentária

As médias e desvios-padrão das taxas de movimentação dentária para todos os grupos podem ser vistas na Tabela 1. Considerando-se cada grupo isoladamente, entre 7 e 10 dias não houve alteração significativa na taxa de movimentação. Porém, a mesma, foi significativamente maior aos 14 dias, para todos os grupos estudados.

A avaliação do efeito do medicamento sobre a taxa de movimentação dentária mostrou diferença estatisticamente significativa ( $p<0,0001$ ) somente entre o grupo Controle e o grupo A (Tabela 1, Gráfico 1) em todos os tempos estudados.

Tabela 1 - Média (desvio-padrão) em mm, das taxas de movimentação dentária nos três grupos experimentais

Grupos n=7	Tempo			
	7 dias	10 dias	14 dias	
Controle	1,05 (0,37)	1,09 (0,11)	1,26 (0,22)	A
A	0,70 (0,16)	0,79 (0,19)	0,98 (0,36)	B
B	0,85 (0,27)	0,88 (0,35)	1,24 (0,26)	AB
	b	B	a	

Nota: Letras distintas representam significância estatística (ANOVA 2-critérios / Teste de Tukey,  $\alpha=5\%$ ). Letras maiúsculas comparam grupos e letras minúsculas comparam tempos.

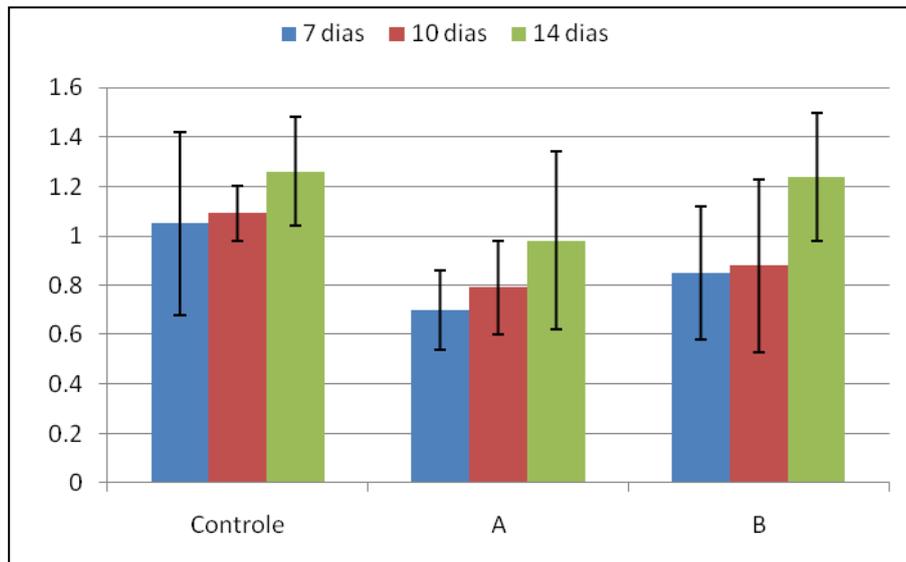


Gráfico 1 - Média e desvio padrão dos valores de taxas de movimentação dentária para todos os grupos estudados

## 4.2 Microscopia de luz

Padrão característico de movimento dentário ortodonticamente induzido foi observado em todos os grupos estudados, com áreas de tração e compressão bem definidas no ligamento periodontal. Grande número de osteoblastos em torno da superfície do osso neoformado e fibras de Sharpey orientadas na direção do movimento, nos animais avaliados em etapas sequenciais, foram aspectos frequentemente encontrados nas áreas de tração (Figura 8, Legenda A e B, a seguir), não sendo observada diminuição na formação óssea nos animais submetidos à aplicação de bisfosfonados (Figura 8, Legenda C, a seguir).

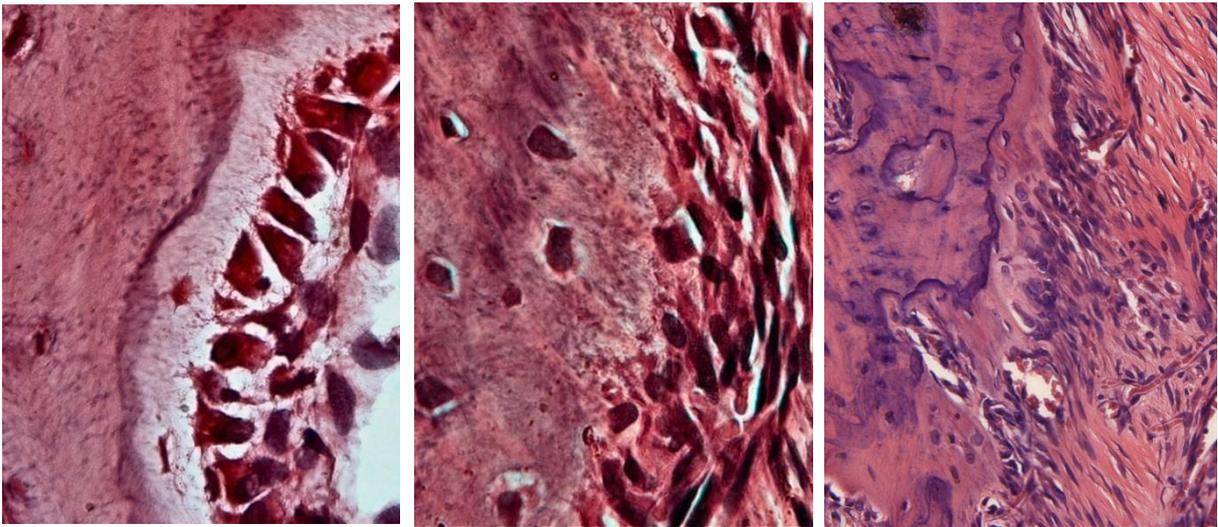


Figura 8 – Fotomicrografias de áreas de pressão

Legenda: A) Animais do grupo Controle com sete dias de movimentação ortodôntica: Osteoblastos alinhados (OB) na superfície do osso alveolar neo-formado; B) Fibras de Sharpey (setas) orientadas na direção do movimento; e C) osteoblastos envolvidos pela matriz óssea (setas) recentemente mineralizada em animais do grupo A com quatorze dias de movimentação. H.E. 400X.

As áreas de compressão apresentaram regiões características de inflamação crônica, com aumento do infiltrado linfo-plasmocitário e hiperemia, especialmente nos animais do grupo Controle, para todos os tempos estudados (Figura 9, f. 55).

Observaram-se, ainda, eventos bem definidos ao longo do período estudado. O terceiro dia de movimentação ortodôntica não foi incluído na avaliação estatística em virtude do tamanho da amostra, mas pode ser observado na Figura 9, Legenda A (f. 55).

No grupo Controle, aos três dias, observou-se extensa área de hialinização e presença de osteoclastos na periferia destas áreas e nos espaços medulares caracterizando padrão de reabsorção indireta (Figura 9, Legenda A, f. 55).

Aos sete dias de movimentação ortodôntica, observou-se remoção completa ou parcial destas áreas de hialinização, aumento no espaço do ligamento periodontal, presença de osteoclastos dispersos no ligamento periodontal e em lacunas de reabsorção na superfície radicular (Figura 9, Legenda B, a seguir). Com dez dias, houve diminuição significativa do número de osteoclastos (Tabela 2, em seguida e Gráfico 2, f. 56) que foram observados, em sua grande maioria, nas lacunas de

reabsorção na superfície radicular (Figura 9, Legenda C, a seguir). Algumas destas células foram localizadas na periferia do osso alveolar e em espaços medulares. Aos quatorze dias de movimentação ortodôntica, observou-se a presença de osteoclastos dispersos no ligamento periodontal e em lacunas de reabsorção na superfície radicular, semelhante às lâminas de sete dias, porém, sem o aumento característico no espaço do ligamento periodontal (Figura 9, Legenda D, a seguir).

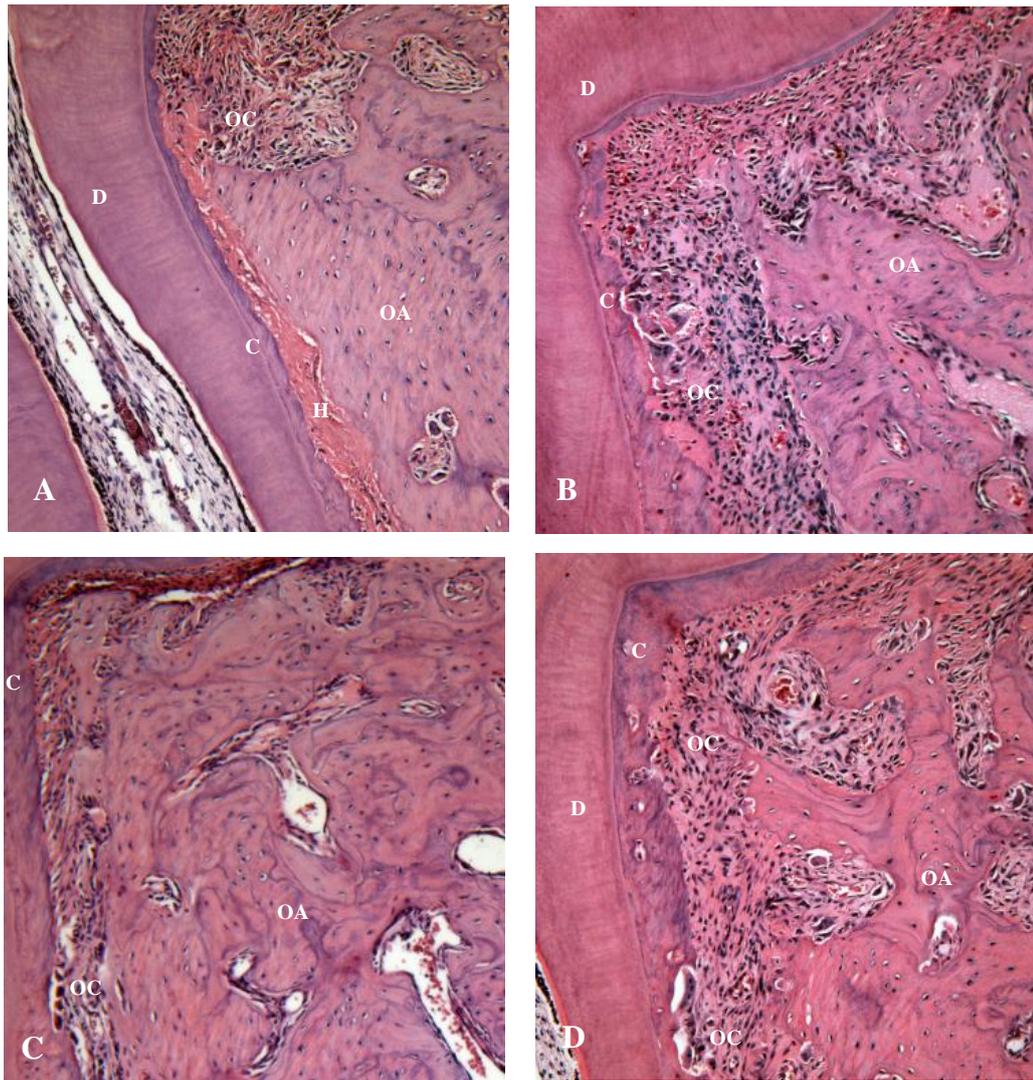


Figura 9 – Fotomicrografias de áreas de pressão observadas no grupo controle

Legenda: A) três dias de movimentação ortodôntica; B) Sete dias de movimentação ortodôntica; C) Dez dias de movimentação ortodôntica; D). Quatorze dias de movimentação ortodôntica. Áreas de hialinização (H): Osteoclastos (Oc); Dentina (D), Cimento (C); Osso alveolar (OA). H.E. 200X.

Tabela 2 - Mediana do número de osteoclastos nos três grupos experimentais

Grupos	Tempo		
	7 dias	10 dias	14 dias
<b>Controle</b>	9,5 Aa	4,5 Ab	12,5 Aa
<b>A</b>	2 Ba	4 Aa	1 Ba
<b>B</b>	3,5 Ba	4 Aa	2 Ba

Nota: Letras distintas representam significância estatística (Kruskal-Wallis/Dunn,  $\alpha=5\%$ ). Letras maiúsculas comparam grupos e letras minúsculas comparam tempos.

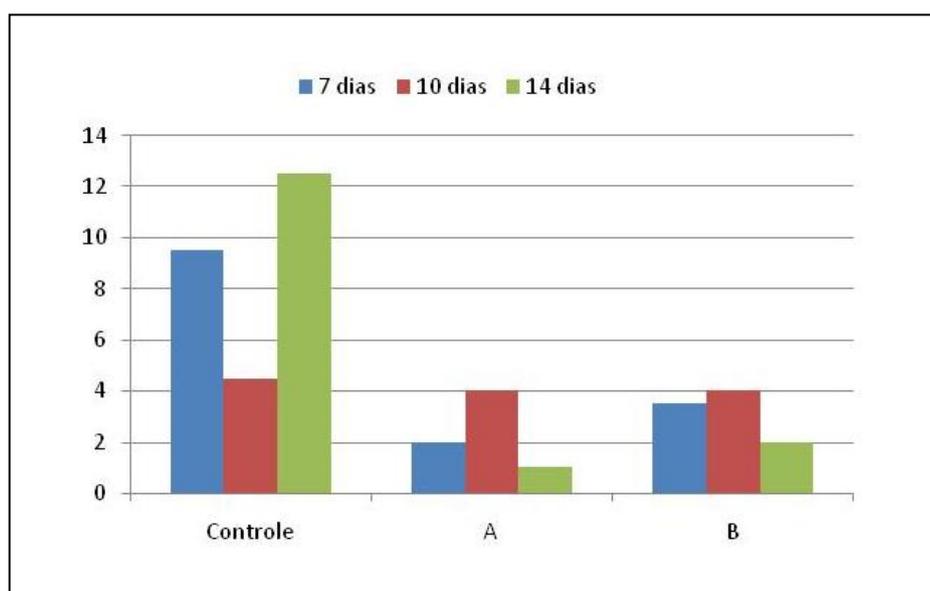


Gráfico 2 - Mediana dos valores de número de osteoclastos para todos os grupos estudados

O grupo Controle apresentou maior concentração de osteoclastos. A análise não-paramétrica mostrou diferença estatística somente para o grupo Controle, com exceção do tempo 10 dias, quando a contagem para todos os grupos foi semelhante (Tabela 2 e Gráfico 2).

Comparando-se os grupos estudados, observou-se que o grupo Controle apresentou grau intenso de reabsorção radicular, estatisticamente diferente dos demais grupos, em todos os tempos estudados (média e desvio padrão das áreas avaliadas na Tabela 3, a seguir). A maior parte dessas lacunas de reabsorção apresentou osteoclastos ativos no seu interior (Figura 10, Legenda A, f. 58).

Nos grupos A e B, o padrão de reabsorção radicular foi mais suave, sem diferença estatística entre os mesmos (média e desvio padrão das áreas avaliadas na Tabela 3 e Gráfico 3). As diferenças com relação ao grupo Controle incluíram:

menor tamanho das lacunas de reabsorção; ausência de células multinucleadas na maioria das lesões e sinais evidentes de reparo (Figura 10, Legendas B e C, f. 58).

Tabela 3 - Média (desvio-padrão) em  $\mu\text{m}^2$ , de reabsorção radicular nos três grupos experimentais

Grupos	Tempo			
	7 dias	10 dias	14 dias	
<b>Controle</b>	4045,70 (3332,51)	5469,60 (4482,57)	4869,75 (3561,83)	A
<b>A</b>	363,43 (246,31)	1034,74 (900,02)	945,95 (723,41)	B
<b>B</b>	1048,66 (591,32)	996,08 (938,67)	1559,93 (2651,75)	B
	a	a	a	

Nota: Letras distintas representam significância estatística (ANOVA 2-critérios / Teste de Tukey,  $\alpha=5\%$ ). Letras maiúsculas comparam tratamentos e letras minúsculas comparam tempos.

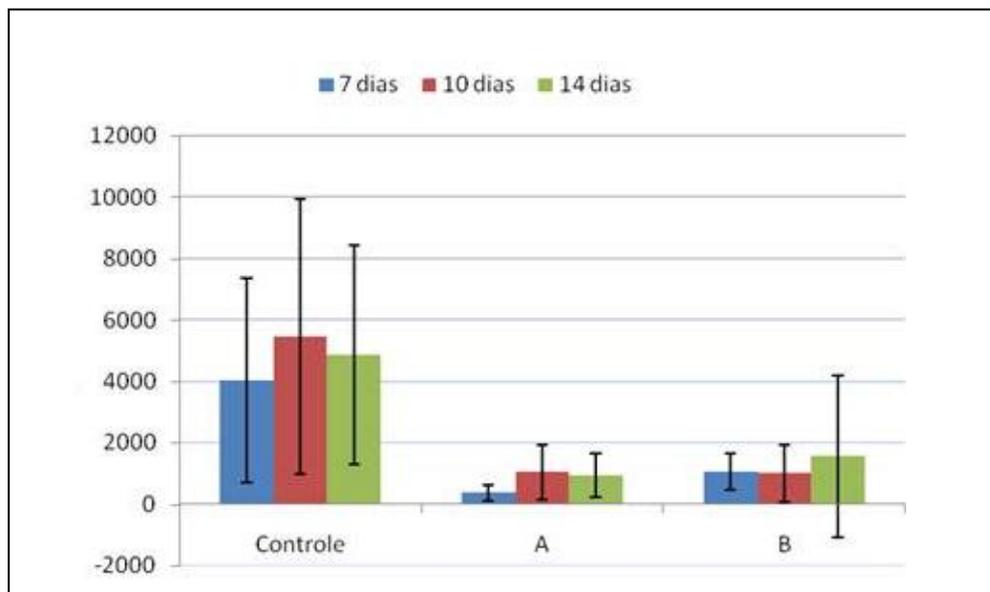


Gráfico 3 - Média e desvio padrão das taxas de reabsorção radicular para todos os grupos estudados

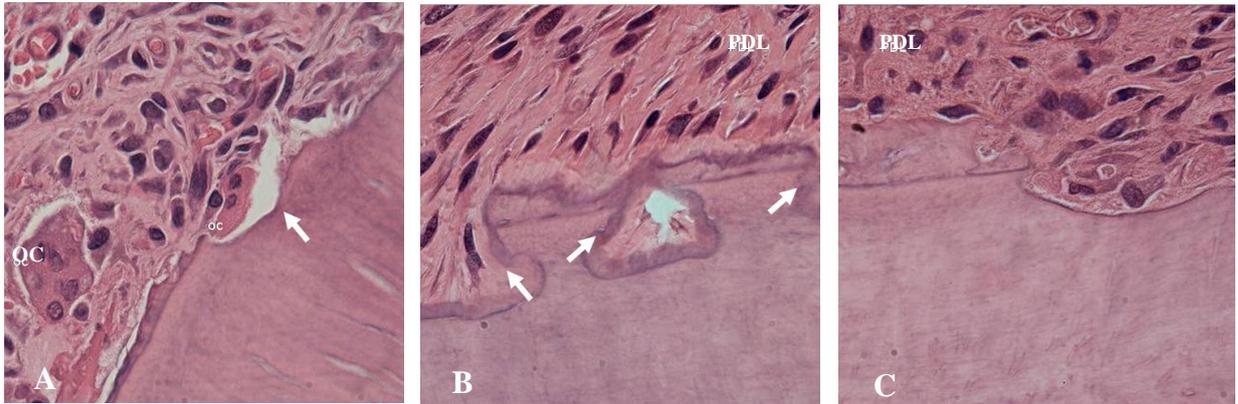


Figura 10 – Fotomicrografias de lacunas de reabsorção

Legenda: A) Grupo Controle aos sete dias de movimentação: Lacuna de reabsorção radicular ativa (seta) contendo osteoclastos (OC) no seu interior; B) Grupo B: Lacunas de reabsorção radicular com visível processo de reparo (setas); C) Grupo A: Lacuna de reabsorção inativa.

Nota: Ligamento Periodontal (PDL). H.E. 1000X.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Modelo experimental

A utilização de ratos em trabalhos de movimentação dentária induzida oferece vantagens, como facilidade de obtenção dos animais devido ao curto período de procriação, padronização na alimentação e fácil manuseio quando comparados a gatos, primatas e cães. Todas essas características permitem melhor controle genético, facilidade de repetições e amostras com maior número de espécimes (CONSOLARO, 2005; REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004).

Os incisivos de ratos possuem fisiologia diferente dos dentes humanos por apresentarem a característica de crescimento contínuo. Sua implantação profunda permite que sejam utilizados como unidade de ancoragem para movimentação dos primeiros molares, os quais são os dentes de escolha para se efetuar movimento ortodôntico nestes animais. Apesar dessas diferenças, ratos são considerados, em geral, como um bom modelo para estudo do movimento dentário ortodôntico (CONSOLARO, 2005; REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004).

Embora seja possível o movimento de expansão no sentido vestibular (LIU et al., 2004), nesta região, a quantidade de osso é muito limitada, apresentando-se também mais compacto (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004). Portanto, no presente trabalho, a movimentação foi realizada no sentido mesial como descrito por diversos autores (CONSOLARO, 2005; FUJIMURA et al., 2009; KING; ARCHER; ZHOU, 1998; REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2003).

De acordo com Ren, Maltha e Kuijpers-Jagtman (2004), 27.5% das publicações realizadas com movimentação dentária em ratos, fazem uso de elásticos para produzir a força desejada nos molares. O uso de ligas elásticas para separar molares de ratos foi descrito inicialmente por Waldo e Rothblatt (1954). No entanto, este tipo de material não é o mais indicado para promover um sistema de forças com liberação controlada por ser complicado estabelecer e medir o declínio da força aplicada. Portanto, para ativação do aparelho, foram selecionadas molas de níquel-titânio com o objetivo de eliminar os efeitos do tempo, da temperatura, do pH salivar, da absorção de água e da deformação permanente, inerentes aos recursos

elastoméricos (CONSOLARO, 2005; DREVENŠEK et al., 2006; FUJITA et al., 2008; HELLER; NANDA, 1979; KAWASAKI; SHIMIZU, 2000; KING; ARCHER; ZHOU, 1998; MADAN et al., 2007; REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2003).

Para que seja alcançada uma movimentação dentária mais rápida e indolor com mínimo efeito danoso aos tecidos periodontais e à raiz, deve-se aplicar força leve. A força para atingir estes objetivos, precisa ser proporcional à área da superfície radicular. Neste trabalho, a força foi padronizada em 40cN. De acordo com King, Archer e Zhou (1998), Noxon et al. (2001) e Rody Junior, King e Gu (2001), esta quantidade de ativação, é capaz de estimular a diferenciação de osteoclastos bem como a reabsorção radicular, sem prejudicar a movimentação dentária.

Segundo Ren, Maltha e Kuijpers-Jagtman (2004), os molares dos ratos são cerca de cinquenta vezes menores que os molares humanos e, a força ideal para se utilizar neste modelo experimental seria de no máximo 20cN. No entanto, existe uma variação muito grande na carga aplicada nos diversos trabalhos que usam ratos como cobaias. Algumas pesquisas utilizam 50cN (GONZALES et al., 2009) enquanto outras chegam até 75cN (CONSOLARO, 2005) o que corresponderia a uma força extremamente pesada. Para se alcançar precisamente essa informação a respeito do que seria a chamada força ótima, é importante que sejam realizados estudos padronizados com sistemas de força reprodutíveis. Esse conhecimento juntamente com a descrição correta das propriedades morfológicas e biomecânicas do dente e sua estrutura de suporte, irá permitir uma estimativa da pressão/tensão no ligamento periodontal durante a movimentação dentária, podendo ser validada por modelos de elemento finito simulando a movimentação (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004).

Algumas fases podem ser observadas durante o ciclo biológico da movimentação ortodôntica. Em ratos, este processo se completa em cerca de sete dias, tempo em que ocorrem mudanças celulares suficientes para promover o deslocamento da unidade dentária. Para se alcançar a chamada fase linear, onde o deslocamento real do dente ocorre, é necessário mais alguns dias. Estudos que pretendem descrever as respostas celulares e biológicas precisam ser de no mínimo quatorze dias, pois dessa forma, é possível avaliar reações histológicas tardias (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004). No presente estudo optou-se pelo tempo máximo de observação de quatorze dias avaliando-se as reações celulares

também no sétimo e décimo dias, de maneira que fases importantes do ciclo de remodelação óssea pudessem ser observadas.

## 5.2 Osteonecrose dos maxilares

Os relatos de osteonecroses induzidas por bisfosfonados começaram a surgir na literatura a partir de 2003 (ZAHROWSKI, 2009). Embora milhares de casos tenham sido documentados nos últimos anos, a exata etiopatologia permanece desconhecida (OIZUMI et al., 2009) e ainda não houve demonstração clara de uma relação entre bisfosfonados e osteonecrose dos maxilares (HIKITA; MIYAZAWA; TABUCHI, 2009).

Os casos mais severos e intratáveis (4% a 10%) de osteonecrose foram relatados em pacientes com câncer que haviam recebido doses altas e contínuas de zoledronato ou pamidronato por via intravenosa. A grande incidência e severidade dessas osteonecroses em tratamentos de múltiplo mieloma ou de metástases por câncer de mama ocorrem, provavelmente, porque a dosagem de bisfosfonados indicada nestes casos é por volta de 12 a 50 vezes maior que a dose sistêmica utilizada para osteoporose (WOO; HELLSTEIN; KALMAR, 2006). Esses pacientes graves tratados com bisfosfonados intravenosos e que são normalmente os mais acometidos por essas lesões, não representam efetivamente uma preocupação na clínica ortodôntica uma vez que, a ortodontia ou procedimentos cirúrgicos na cavidade oral, estão totalmente contra-indicados nestes casos (ZAHROWSKI, 2007).

No entanto, muitos pacientes do consultório apresentam-se com osteoporose ou até mesmo osteopenia e fazem uso de bisfosfonados orais aminados. Existem trabalhos na literatura que já relacionam o uso deste medicamento oral a casos de osteonecrose. Pazianas et al. (2007) fizeram uma revisão da literatura onde incluíram artigos que descreviam pacientes adultos, usando bisfosfonados orais exclusivamente para osteoporose e que haviam apresentado osteonecrose. Estes autores encontraram onze publicações com vinte e seis casos descritos. O sítio mais afetado foi mandíbula, a idade dos pacientes foi em geral maior que sessenta anos e mulheres. Cerca de 80% dos pacientes havia sido submetido à cirurgia ou trauma

dental. Então, considerando-se que milhões de pacientes fazem uso deste medicamento, a prevalência pode ser considerada pequena.

O trabalho de Hikita, Miyazawa e Tabuchi (2009) avaliou a cicatrização em ratos normais tratados previamente com aledronato e posteriormente submetidos a extrações dentárias. Os autores encontraram que esta substância afeta diretamente a função osteoclástica no que diz respeito à cicatrização do sítio de extração, dado o atraso observado neste processo. Eles acreditam que em pacientes com condições sistêmicas já debilitadas, a cicatrização em locais de exodontias será mais demorada que em pacientes saudáveis. Infecções iniciais durante a cicatrização podem resultar em sítios não cicatrizados que iniciam a osteonecrose. Os resultados desta pesquisa demonstram que ao invés de prevenir a osteonecrose dos maxilares como um efeito da administração dos bisfosfonados, é preciso atenção especial no controle das condições sistêmicas dos pacientes.

O clodronato é um bisfosfonado não aminado, que não possui relatos de associação com casos de osteonecrose. De acordo com Endo et al. (1999), este fármaco apresenta propriedades antiinflamatórias e pode inibir as ações inflamatórias e necróticas de bisfosfonados aminados, podendo ser útil como droga de substituição em pessoas com risco de osteonecrose dos maxilares. Oizumi et al. (2009) aplicaram este medicamento associado a aminobisfosfonados para pesquisar o seu efeito anti-necrótico. Estes autores encontraram que o Clodronato é capaz de manter a sua capacidade anti-reabsortiva, ao mesmo tempo em que inibe os efeitos de necrose deste outro grupo. Esses achados são de extrema importância uma vez que, em diversas patologias ósseas graves, é imperativo que a reabsorção no osso seja controlada, mas os relatos de osteonecrose assustaram bastante os profissionais de saúde que passaram a ficar temerosos quanto ao uso destes fármacos.

Baseando-se neste aspecto e também nos indícios de que este medicamento possui capacidade de prevenir a reabsorção radicular (IGARASHI et al., 1996; LIU et al., 2004), optou-se pela utilização desta substância no presente estudo.

### 5.3 Taxa de movimentação dentária

Apesar de muitos anos de pesquisas em Ortodontia a respeito da movimentação dentária a partir da aplicação de uma determinada força, ainda é necessário um maior conhecimento sobre a relação entre o sistema de força aplicado e as reações tissulares em termos da remodelação óssea e das respostas celulares no ligamento periodontal (MELSEN, 2001).

É bem estabelecido que a reabsorção óssea por osteoclastos seja crucial para movimentação ortodôntica. Este processo altamente ativo envolve a formação óssea pelos osteoblastos e reabsorção por osteoclastos. Os bisfosfonados possuem influência direta sobre este mecanismo devido aos seus efeitos principalmente em osteoclastos, embora o mecanismo exato da ação destes medicamentos sobre estas células, ainda não esteja completamente elucidado (HIKITA; MIYAZAWA; TABUCHI, 2009).

Os bisfosfonados se unem fortemente a hidroxiapatita e são seletivamente internalizados para o interior de osteoclastos maduros (SATO et al., 1991). Estas células então perdem sua atividade de reabsorção óssea e são induzidas a apoptose. Existem fortes evidências que estes medicamentos causam inibição da formação e diminuição do recrutamento dessas células (ADACHI; IGARASHI; SHINODA, 1994; FUJIMURA et al., 2009; HIKITA; MIYAZAWA; TABUCHI, 2009; IGARASHI et al., 1994; LIU et al., 2004), mas também interferem na função de osteoblastos induzindo-os a produzir fatores de inibição de osteoclastos e macrófagos (ROGERS et al., 1996; RUSSEL; ROGERS, 1999).

No presente estudo, esses efeitos do clodronato sobre osteoclastos justificam a diminuição na taxa de movimentação dentária estatisticamente significativa entre o grupo que recebeu o medicamento em dias alternados e o grupo controle (Tabela 1, f. 52 e Gráfico 1, f. 53). Estes achados estão de acordo com artigos previamente publicados (ADACHI; IGARASHI; SHINODA, 1994; FUJIMURA et al., 2009; IGARASHI et al., 1994; KIM et al., 1999; LIU et al., 2004) e demonstram que os bisfosfonados podem ser úteis em casos onde se considere necessário um reforço de ancoragem ou prevenção de recidivas da movimentação dentária (IGARASHI et al., 1994).

Após a aplicação de uma força ortodôntica em ligamentos periodontais de ratos, o pico de concentração de osteoclastos na superfície alveolar ocorre entre o terceiro e quinto dias indicando intensa atividade óssea reabsortiva nesta fase (RODY JUNIOR; KING; GU, 2001). Para que o clodronato tivesse mínima influência na taxa de movimentação dentária optou-se pela menor frequência de aplicação do medicamento, sendo o mesmo administrado apenas no quinto e no décimo-segundo dias no grupo B, época posterior ao pico de osteoclastos. Os animais do Grupo A, os quais receberam clodronato em dias alternados, apresentaram taxa de movimentação diminuída em relação ao grupo controle sendo este resultado estatisticamente significativo ( $p < 0,0001$ ) (Tabela 1, f. 52). Esses achados sugerem que este medicamento quando aplicado dessa maneira é realmente capaz de provocar alterações celulares e teciduais que dificultam o deslocamento de dentes (ADACHI; IGARASHI; SHINODA, 1994; FUJIMURA et al., 2009; IGARASHI et al., 1994; KIM et al., 1999, LIU et al., 2004).

Alguns autores propõem o uso deste regime de aplicação em casos onde o sistema de ancoragem necessita de um reforço adicional (ADACHI; IGARASHI; SHINODA, 1994; IGARASHI et al., 1994; LIU et al., 2004). No entanto, na atualidade existem alguns dispositivos para ancoragem esquelética como miniplacas e miniparafusos que podem ser utilizados para reforço deste aspecto do tratamento com resultados mais previsíveis e menor efeito colateral que os bisfosfonados. É difícil limitar o efeito deste medicamento a um sítio-específico de ancoragem, uma vez que sua absorção é sistêmica. Portanto, acredita-se que a aplicação mais adequada deste fármaco seja a prevenção da reabsorção radicular

Na comparação da taxa de movimentação dentária entre o grupo controle e o grupo B (medicamento no quinto e décimo dias) não houve diferença estatisticamente significativa, embora a taxa de movimentação tenha sido levemente menor no segundo grupo (Tabela 1, f. 52). Esse resultado demonstra que é possível fazer uso deste bisfosfonado, obtendo-se as vantagens da sua utilização para controle da reabsorção radicular, sem prejuízo do deslocamento dentário, desde que a aplicação do mesmo seja realizada posterior a fase do pico de concentração dos osteoclastos na superfície alveolar, que em ratos ocorre entre o terceiro e o quinto dias de acordo com os achados de Rody Junior, King e Gu (2001).

Durante todos os estágios de erupção dentária, estão envolvidas tanto formação quanto reabsorção de osso, sendo, portanto um evento biológico que

oferece um modelo excelente para se pesquisar os efeitos de drogas que interferem no metabolismo ósseo, como é o caso dos bisfonados. Em um estudo de Grier e Wise (1998), acerca dos efeitos do pamidronato na erupção dentária em ratos, foi observada uma média de oito dias de atraso na erupção dos molares. Porém, uma pesquisa realizada por Bradaschia-Correa, Massa e Arana-Chavez (2007) com o uso do alendronato em ratos recém-nascidos, demonstrou se anquilose, falta de erupção dentária e de formação radicular além de injúrias ao folículo dentário. Este medicamento é utilizado no tratamento de doenças ósseas em crianças, apesar de sua possível interferência tanto no crescimento ósseo quanto na erupção dentária. Este aspecto torna-se muito importante quando se considera o uso destes fármacos em Ortodontia, uma vez que muitos pacientes encontram-se em período de crescimento ativo.

#### **5.4 Efeito do clodronato na reabsorção radicular**

Histologicamente, existem evidências consideráveis indicando que a maior parte das reabsorções radiculares resultantes do tratamento ortodôntico estão associadas com a compressão exagerada do ligamento periodontal durante a movimentação dentária. Estas reabsorções, em geral, estão ligadas com a remoção por macrófagos perivasculares do tecido necrótico nas zonas de hialinização (RYGH, 1977).

A reabsorção radicular ortodônticamente induzida tem como fator iniciador a perda do recobrimento da raiz pelos cementoblastos. Essas células desaparecem, principalmente, pela falta de oxigenação local gerada por um estresse excessivo. As zonas que ficaram descobertas por cementoblastos muitas vezes, são recobertas por osteoblastos os quais participam juntamente com os osteoclastos do processo de reabsorção óssea (CONSOLARO, 2005).

A maneira como os bisfosfonados interferem na absorção radicular parece ser igual aos mecanismos pelos quais estes fármacos estão relacionados à diminuição da absorção óssea e conseqüente redução na taxa de deslocamento dentário. Esses medicamentos provocam a diminuição do número de osteoclastos pela inibição do seu recrutamento, pela indução de apoptose ou por ambos (ADACHI;

IGARASHI; SHINODA, 1994; IGARASHI et al., 1994; 1996; LIU et al., 2004). Uma vez que os clastos são células da mesma linhagem (BREZNIACK; WASSERSTEIN, 2002a; CONSOLARO, 2005) com características morfológicas e funcionais similares (IGARASHI et al., 1994) é provável que estes efeitos também ocorram nos odontoclastos responsáveis pela absorção radicular.

Segundo Rody Junior, King e Gu (2001), em ratos, observa-se grande concentração de osteoclastos na raiz e menor número destas células na superfície alveolar por volta do sétimo dia de movimentação dentária, ou seja, quando se completa um ciclo deste processo nestes animais.

No presente estudo, na avaliação do grupo controle, foi encontrado maior número de osteoclastos na superfície radicular no sétimo e no décimo-quarto dias e significativamente menor no décimo (Tabela 2, f. 56 e Gráfico 2, f. 56). Este resultado é justificado pela cinética e recrutamento dos osteoclastos que é diferente a depender da fase em que a movimentação se encontra (RODY JUNIOR; KING; GU, 2001). Como o sétimo e décimo quarto dias equivalem ao final de um ciclo de eventos celulares gerados no periodonto de ratos, pela aplicação de força, não houve diferença estatisticamente significativa quando esses dois períodos foram comparados entre si.

Em relação ao número de osteoclastos, quando comparados os três grupos, houve diferença estatisticamente significativa entre o controle e os demais ( $p < 0,05$ ) sendo maior a quantidade dessas células no grupo controle corroborando com os achados de Liu et al. (2004). Já entre os dois grupos onde o medicamento foi administrado, não houve diferença estatisticamente significativa no número de osteoclastos quando comparados entre si e nem quando foram comparados os diversos períodos de tempo (Tabela 2, f. 56). Estes resultados sugerem que a diminuição da absorção radicular relacionada aos bisfosfonados não é dependente da inibição do movimento dentário, e sim consequência da redução do número de osteoclastos na superfície radicular nas fases finais do ciclo de remodelação óssea induzida por força ortodôntica.

Para Fujimura et al. (2009), os bisfosfonados podem ser úteis na prevenção da reabsorção radicular durante o tratamento ortodôntico embora promovam a inibição da movimentação dentária induzida, justamente por modificarem o turn over ósseo.

As áreas das lacunas de reabsorção também apresentaram diferença estatisticamente significativa quando se comparou o grupo controle e os grupos que receberam medicamento ( $p < 0,0001$ ), sendo maiores no grupo controle (Tabela 3, f. 57 e Gráfico 3, f. 57). Diante do fato de que o número de osteoclastos também apresentou este comportamento, e como essas células são as unidades formadoras das chamadas Lacunas de reabsorção (Lacunas de Howship) presentes no processo de reabsorção radicular, este resultado era esperado.

Apesar de tantas publicações relacionando a ocorrência de casos de osteonecroses dos maxilares a estes medicamentos, o efeito positivo dos mesmos em diversas patologias ósseas graves é inquestionável, fazendo com que essas drogas estejam entre as mais prescritas no mundo. O clodronato oferece a possibilidade de diminuir os danos teciduais gerados pela movimentação ortodôntica sendo capaz de reduzir a reabsorção radicular, fator sempre preocupante para ortodontistas. Pode ainda ser efetivo no controle da quantidade de movimentação dentária a depender do regime de aplicação utilizado, sendo útil em situações de ancoragem crítica. Logicamente, a sua possível utilização em ortodontia fica na dependência direta da viabilidade de sua aplicação local e restrita apenas às células alvo da movimentação e reabsorção radicular, os clastos. Essa possibilidade suscita a realização de novos trabalhos.

## 6 CONCLUSÃO

O clodronato dissódico, nos dois regimes de aplicação testados, foi capaz de induzir as seguintes alterações no periodonto de inserção de ratos (*Rattus norvegicus*), durante duas semanas de movimento dentário ortodôntico:

- a) redução significativa do número de osteoclastos nas áreas de compressão do ligamento periodontal;
- b) alteração do padrão de reabsorção radicular, tornando-o mais suave, com menor tamanho de lacunas de reabsorção sendo observada ausência de células multinucleadas em grande parte das lesões e sinais evidentes de reparo.

A avaliação do efeito do medicamento sobre a taxa de movimentação dentária mostrou diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ) somente entre o grupo Controle e o grupo A (aplicação de clodronato em dias alternados durante todo o período experimental) em todos os tempos estudados.

O uso do clodronato no quinto e décimo segundo dias do ciclo de remodelação alveolar durante a movimentação dentária induzida foi capaz de controlar de forma efetiva a reabsorção radicular com pouca influência na taxa de movimentação ortodôntica em ratos.

## REFERÊNCIAS

- ADACHI, H.; IGARASHI, K.; SHINODA, H. Effects of topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on orthodontic tooth movement in rats. **J. Dent. Res.**, v. 73, n. 8, p. 1478-1484, Aug. 1994.
- AVERY, J. K. Cimento. In: \_\_\_\_\_. **Fundamentos de histologia e embriologia bucal: uma abordagem clínica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 114-121.
- BARTZELA, T. et al. Medication effects on the rate of orthodontic tooth movement: a systematic literature review. **Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.**, v. 135, n. 1, p. 16-26, Jan. 2009.
- BRADASCHIA-CORREA, V.; MASSA, L. F.; ARANA-CHAVEZ, V. E. Effects of alendronate on tooth eruption and molar root formation in young growing rats. **Cell Tissue Res.**, v. 330, n. 3, p. 475-485, Dec. 2007.
- BRASIL. Lei nº 11.794/08. Regulamenta o inciso vii do par. 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; Revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 09 out. 2008. Seção 1, p. 1.
- BREZNIAK, N.; WASSERSTEIN, A. Orthodontically induced inflammatory root resorption: Part I: The basic science aspects. **Angle Orthod.**, v. 72, n. 2, p.175-179, Oct. 2002a.
- \_\_\_\_\_. Orthodontically induced inflammatory root resorption: Part II: The clinical aspects. **Angle Orthod.**, v. 72, n. 2, p. 180-184, Oct. 2002b.
- \_\_\_\_\_. Root resorption after orthodontic treatment: Part 1: Literature review. **Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.**, v. 103, n. 1, p. 62-66, Jan. 1993a.
- \_\_\_\_\_. Root resorption after orthodontic treatment: Part 2: Literature review. **Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.**, v. 103, n. 2, p. 138-146, Feb. 1993b.
- BRUDVICK, P.; RYGH, P. Transition of orthodontic root resorption-repair sequence. **Eur. J. Orthod.**, v. 17, n. 3, p. 177-188, June 1995.

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

CRONAU, M. et al. Biomechanical features of the periodontium: an experimental pilot study *in vivo*. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 129, n. 5, p. 599.e13-599.e21, May 2006.

DANNEMANN, C. et al. Jaw osteonecrosis related to bisphosphonate therapy: a severe secondary disorder. **Bone**, v. 40, n. 4, p. 828-834, Apr. 2007.

DAVIDOVITCH, Z. Tooth movement. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v. 2, n. 4, p. 411-450, 1991.

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

DREVENŠEK, M. et al. Effects of endothelin antagonist tezosentan on orthodontic tooth movement in rats. **Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.**, v. 129, n. 4, p. 555-558, Apr. 2006.

ENDO, Y. et al. Inhibition of inflammatory actions of aminobisphosphonates by dichloromethylene bisphosphonate, a non-aminobisphosphonate. **Br. J. Pharmacol.**, v. 126, n. 4, p. 903-910, 1999.

EPKER, B. N.; FROST, H. M. Correlation of bone resorption and formation with the physical behavior of loaded bone. **J. Dent. Res.**, v. 44, p. 33-41, Jan./Feb. 1965.

FANTASIA, J. Bisphosphonates: what the dentist needs to know practical considerations. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 63, n. 5, p. 53-60, May 2009.

FARREL, L. et al. Identification of orthodontically induced root resorption cells using TRAP stain (abstract). **J. Dent. Res.**, v. 69, p. 201, 1990.

FLEISCH, H. Bisphosphonates: mechanisms of action. **Endocrine Reviews**, v. 19, n. 1, p. 80-100, Feb. 1998.

FRITH, J. C. et al. Clodronate and liposome-encapsulated clodronate are metabolized to a toxic ATP analog, Adenosine 5`-(beta, gama, dicloromethylene triphosphate by mammalian cells in vitro. **J. Bone Miner. Res.**, v. 12, n. 9, p. 1358-1367, Sept. 1997.

\_\_\_\_\_. The molecular mechanism of action of the antiresorptive and antiinflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that inhibits bone resorption. **Arthritis. Rheum.**, v. 44, n. 9, p. 2201-2210, Sept. 2001.

FUJIMURA, Y. et al. Influence of bisphosphonates on orthodontic tooth movement in mice. **Eur. J. Orthod.**, v. 31, n. 6, p. 572-577, Dec. 2009.

FUJITA, S. et al. Low-energy laser stimulates tooth movement velocity via expression of RANK and RANKL. **Orthod. Craniofac. Res.**, v. 11, n. 3, p. 143-155, Aug. 2008.

GONZALES, C. et al. Effects of steroidal and nonsteroidal drugs on tooth movement and root resorption in rat molar. **Angle Orthod.**, v. 79, n. 4, p. 715- 726, July 2009.

GRAHAM, J. Bisphosphonates and orthodontics: clinical implications. **J. Clin. Orthod.**, v. 15, n. 7, p. 425-428, July 2006.

GRIDELLI, C. The use of bisphosphonates in elderly cancer patients. **Oncologist.**, v. 12, n. 1, p. 62-71, Jan. 2007.

GRIER, R. L.; WISE, G. E. Inhibition of tooth eruption in the rat by a Bisphosphonate. **J. Dent. Res.**, v. 77, n. 1, p. 8-15, Sept. 1998.

GU, G. Effect of appliance reactivation after decay of initial activation on osteoclasts, tooth movement and root resorption. **Angle Orthod.**, v. 69, n. 6, p. 515-522, Dec. 1999.

GUTTA, R.; LOUIS, P. J. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws: science and rationale. **Oral Surg. Oral Med. Oral Patol. Oral Radiol. Endod.**, v. 104, n. 2, p. 188-193, Aug. 2007.

HARRIS, D. A.; JONES, A. S.; DARENDELILER, M. A. I. Physical properties of root cementum: Part 8: Volumetric analysis of root resorption craters after application of controlled intrusive light and heavy orthodontic forces: a microcomputed tomography scan study. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 130, n. 5, p. 639-647, Nov. 2006.

HARRIS, E.; KINERET, S.; TOLLEY, E. A heritable component for external apical root resorption in patients treated orthodontically. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 111, n. 3, p. 301-309, Mar. 1997.

HELLER, I. J.; NANDA, R. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontic tooth movement: an experimental study. **Am. J. Orthod.**, v. 75, n. 3, p. 239-258, Mar. 1979.

HENNEMAN, S.; VON DEN HOFF, J. W.; MALTHA J. C. Mechanobiology of tooth movement. **Eur. J. Orthod.** v. 30, n. 3, p. 299-306, June 2008.

HIKITA, H.; MIYAZAWA, K.; TABUCHI, M. Bisphosphonate administration prior to tooth extraction delays initial healing of the extraction socket in rats. **J. Bone Miner. Metab.**, v. 27, n. 6, p. 663-672, Nov. 2009.

HORIE, D. et al. Clodronate stimulates bone formation as well as inhibits bone resorption and increases bone mineral density in rats fed a low-calcium diet. **J. Med. Dent. Sci.**, v. 50, n. 50, p. 121-132, Jan. 2003.

HUGHES, D. E. et al. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo. **J. Bone Miner. Res.**, v. 10, n. 10, p. 1478-1487, Oct. 1995.

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

\_\_\_\_\_. Inhibitory effect of the topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on roots resorption incident to orthodontic tooth movement in rats. **J. Dent. Res.**, v. 75, n. 9, p. 1644-1649, Sept. 1996.

ISAACSON, R. J.; LINDAUER, J. S. On tooth movement. **Angle Orthod.**, v. 63, n. 4, p. 305-309, Dec. 1993.

ITO, M. et al. Bisphosphonate acts on osteoclasts independent of ruffled borders in osteosclerotic mice. **Bone**, v. 28, n. 6, p. 609-616, June 2001.

JÄGER, A. et al. Cellular and extracellular factors in early resorption repair in the rat. **Eur. J. Orthod.**, v. 30, n. 4, p. 336-345, Aug. 2008.

JÄGER, A. et al. Demonstration of cells of the mononuclear phagocyte lineage in the periodontium following experimental tooth movement in the rat: an immunohistochemic study using monoclonal antibodies. **Histochemistry**, v. 100, n. 2, p. 161-166, Aug. 1993.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. **Histologia e embriologia oral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

KAWASAKI, K.; SHIMIZU, N. Effects of low-energy laser irradiation on bone remodeling during experimental tooth movement in rats. **Lasers Surg. Med.**, v. 26, n. 3, p. 282-291, Mar. 2000.

KELES, A. et al. Inhibition of tooth movement by osteoprotegerin vs. pamidronate under conditions of constant orthodontic force. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 115, n. 2, p. 131-136, Apr. 2007.

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

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

KUROL, J.; OWMAN-MOLL, P.; LUNDGREN, D. Time-related root resorption after application of a continuous controlled orthodontic force. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 110, n. 3, p. 303-310, Sept. 1996.

LEVANDER, E.; MALMGREN, O. Evaluation of the risk of root resorption during orthodontic treatment: a study of upper incisors. **Eur. J. Orthod.**, v. 10, n. 1, p. 30-38, Feb. 1988.

LINDHE, J. Anatomia do Periodonto. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 3-42.

LIU, L. et al. Clodronate inhibits PGE (2) production in compressed periodontal ligament cells. **J. Dent. Res.**, v. 85, n. 8, p. 757-760, Aug. 2006.

LIU, L. et al. Effects of local administration of clodronate in orthodontics tooth movement. **Eur. J. Orthod.**, v. 26, n. 5, p. 469-473, Oct. 2004.

MADAN, M. S. et al. Effects of human relaxin on orthodontic tooth movement and periodontal ligaments in rats. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 131, n. 1, p. 8.e1-8.e10, Jan. 2007.

MCNAB, S. et al. External apical root resorption of posterior teeth in asthmatics after orthodontic treatment. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 116, n. 5, p. 545-551, Nov. 1999.

MELSEN, B. Tissue reaction to orthodontic tooth movement: a new paradigm. **Eur. J. Orthod.**, v. 23, n. 6, p. 671-681, Dec. 2001.

MIGLIORATI, C. A. et al. Managing the care of patients with bisphosphonate-associated osteonecrosis: an American Academy of Oral Medicine position paper. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 136, n. 12, p. 1658-1668, Dec. 2005.

MURAD, P. et al. Multicentric clinical trial on the use of disodium clodronate by intravenous infusion at fifteen days intervals in patients with bone osteolysis. **S. Am. J. Cancer**, v. 1, n. 1, p. 80-86, Jan./Mar. 1997.

NOXON, S. et al. Osteoclast clearance from periodontal tissues during orthodontic tooth movement. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 120, n. 5, p. 466-476, Nov. 2001.

OIZUMI, T. et al. Necrotic actions of nitrogen-containing bisphosphonates and their inhibition by clodronate, a non-nitrogen-containing bisphosphonate in mice: potential for utilization of clodronate as a combination drug with a nitrogen-containing bisphosphonate. **Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.**, v. 104, n. 5, p. 384-392, May 2009.

ÖSTERMAN, T. et al. The effect of orally administered clodronate on bone mineral density and bone geometry in ovariectomized rats. **J. Pharmacol. Exp. Ter.**, v. 28, n. 4, p. 312-316, Sept. 1998

OWMAN-MOLL, P.; KUROL, J. The early reparative process of orthodontically induced root resorption in adolescents-location and type of tissue. **Eur. J. Orthod.**, v. 20, n. 6, p. 727-732, Dec. 1998.

OWMAN-MOLL, P.; KUROL, J.; LUNDGREN, D. Effects of a doubled orthodontic force magnitude on tooth movement and root resorptions: an inter-individual study in adolescents. **Eur. J. Orthod.**, v. 18, n. 2, p.141-150, Apr. 1996.

PATERSON, A. The role of bisphosphonates in early breast cancer. **Oncologist.**, v. 11, Suppl. 1, p. 13-19, 2006.

PAZIANAS, M. et al. A review of the literature on osteonecrosis of the jaw in patients with osteoporosis treated with oral bisphosphonates: prevalence, risk factors, and clinical characteristics. **Clin. Ther.**, v. 29, n. 8, p.1548-1558, Aug. 2007.

PILON, J. J. G. M.; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M.; MALTHA, J. C. Magnitude of orthodontic forces and rate of bodily tooth movement: an experimental study in beagle dogs. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 110, n. 1, p.16-23, July 1996.

PROFFIT, W. R.; FIELDS JUNIOR, H. W. As bases biológicas da terapia ortodôntica. In:\_\_\_\_\_. **Ortodontia contemporânea**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 280-306.

REID, I. R.; BOLLAND, M. J.; GREY, A. B. Is bisphosphonates associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity? **Bone**, v. 41, n. 3, p. 318-320, Sept. 2007.

REITAN, K. Initial tissue behavior during apical root resorption. **Angle Orthod.**, v. 44, n. 1, p. 68-82, Jan. 1974.

\_\_\_\_\_. The tissue reaction as related to the functional factor. **Dent. Rec.**, v. 71, n. 9, p. 173-183, Oct. 1951.

\_\_\_\_\_; KVAM, E. Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement. **Angle Orthod.**, v. 41, n. 1, p.1-14, Jan. 1971.

\_\_\_\_\_; RYGH, P. Biomechanical principles and reactions. In: GRABER, T. M.; VANARSDALL JUNIOR, R. L. **Orthodontics**: current principles and techniques. 2. ed. Sant Louis: Mosby, 1994. cap. 2, p. 96-192.

REN, Y.; MALTHA, J. C.; KUIJPERS-JAGTMAN A. M. Optimum force magnitude for orthodontic tooth movement: a systematic literature review. **Angle Orthod.**, v. 73, n. 1, p. 86-92, Feb. 2003.

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

\_\_\_\_\_. Tooth movement characteristics in relation to root resorption in young and adult rats. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 115, n. 6, p. 449-453, Dec. 2007.

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

RODY JUNIOR, W. J.; KING, G. J.; GU, G. Osteoclast recruitment to sites of compression in orthodontic tooth movement. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 120, p. 477-489, 2001.

ROGERS, M. J. et al. Bisphosphonates induce apoptosis in mouse macrophage-like cells in vitro by a nitric oxide-independent mechanism. **J. Bone Miner. Res.**, v. 11, n. 10, p. 1482-1491, Oct. 1996.

RUGGIERO, S. et al. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 62, n. 5, p. 527-534, May 2004.

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

RYGH, P. Orthodontic root resorption studied by electron microscopy. **Angle Orthod.**, v. 47, n. 1, p. 1-16, Jan. 1977.

\_\_\_\_\_ et al. Activation of the vascular system: a main mediator of periodontal fiber remodeling in orthodontic tooth movement. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 89, n. 6, p. 453-468, June 1986.

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

SATO, M. et al. Bisphosphonate action: alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. **J. Clin. Invest.**, v. 88, n. 6, p.2095-2105, Dez. 1991.

TEN CATE, A. R. **Histologia bucal**: desenvolvimento, estrutura e função. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

VAN LEEUWEN, E. J.; MALTHA, J. C.; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M. Tooth movement with light continuous and discontinuous forces in beagle dogs. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 107, n. 6, p. 468-474, Dec. 1999.

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

WEILAND, F. Constant versus dissipating forces in orthodontics: the effect on initial tooth movement and root resorption. **Eur. J. Orthod.**, v. 25, n. 4, p. 335-342, Aug. 2003.

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

YOSHIDA, N. et al. Experimental evaluation of initial tooth displacement, center of resistance, and center of rotation under the influence of an orthodontic force. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 120, n. 2, p. 190-197, Aug. 2001.

ZAHROWSKI, J. Bisphosphonates treatment: an orthodontic concern calling for a proactive approach. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 131, n. 3, p. 311-320, Mar. 2007.

\_\_\_\_\_ Optimizing orthodontic treatment in patients taking bisphosphonates for osteoporosis. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.**, v. 135, n. 3, p. 361-374, Mar. 2009.