



**UNICHRISTUS - CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS
CAMPUS PARQUE ECOLÓGICO
MESTRADO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS**

LUIZA LASSI DE ARAÚJO LOPES

**EFEITO DO USO DO ALENDRONATO DE SÓDIO NA MOVIMENTAÇÃO
ORTODÔNTICA EM RATOS – ANÁLISES HISTOLÓGICA E
MICROTOMOGRÁFICA.**

Fortaleza

2019

LUIZA LASSI DE ARAÚJO LOPES

EFEITO DO USO DO ALENDRONATO DE SÓDIO NA MOVIMENTAÇÃO
ORTODÔNTICA EM RATOS – ANÁLISES HISTOLÓGICA E
MICROTOMOGRÁFICA.

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Odontológicas do Centro Universitário
Christus como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Ciências
Odontológicas.

Orientador: Prof. Dr. Phillipe Nogueira
Barbosa Alencar.

Fortaleza

2019

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

L864e Lopes, Luiza Lassi de Araújo.
 Efeito do uso do Alendronato de Sódio na Movimentação
 Ortodôntica em Ratos : Análises Histológica e Microtomográfica /
 Luiza Lassi de Araújo Lopes. - 2019.
 48 f. : il. color.

 Dissertação (Mestrado) - Centro Universitário Christus -
 Unichristus, Mestrado em Ciências Odontológicas, Fortaleza, 2019.
 Orientação: Prof. Dr. Phillipe Nogueira Barbosa Alencar.
 Área de concentração: Ciências Odontológicas.

 1. Bisfosfonatos. 2. Alendronato. 3. Ortodontia. 4.
 Microtomografia por Raio - X. I. Título.

CDD 617.6

LUIZA LASSI DE ARAÚJO LOPES

EFEITO DO USO DO ALENDRONATO DE SÓDIO NA MOVIMENTAÇÃO
ORTODÔNTICA EM RATOS – ANÁLISES HISTOLÓGICA E
MICROTOMOGRÁFICA.

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Odontológicas do Centro Universitário
Christus como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Ciências
Odontológicas.

Orientador: Prof. Dr. Phillipe Nogueira
Barbosa Alencar.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Phillipe Nogueira Barbosa Alencar
(UNICRHISTUS)

Prof. Dra. Lis Monteiro de Carvalho Guerra
(UNICHRISTUS)

Prof. Dra. Karla Rovaris da Silva
(Universidade Federal do Piauí)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que são o meu exemplo de vida, pelo apoio e amor incondicionais e pela educação e princípios que a mim foram dados. Nada seria possível sem vocês ao meu lado.

Ao meu irmão, que ao meu lado compartilha todo o meu crescimento pessoal e profissional, sendo um grande entusiasta do meu sucesso.

Ao meu esposo, por todo amor e amizade que dedica a mim no nosso dia-a-dia, pela compreensão nos momentos ausentes sempre acompanhados de um apoio incondicional, pela vibração a cada nova conquista e por compartilhar os sonhos ao meu lado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Phillipe Nogueira Barbosa Alencar, a quem tenho um imenso carinho e admiração, pelo apoio e tempo dedicados na execução desta pesquisa, por toda transmissão de seus conhecimentos ao longo do curso, sempre com muita atenção, disponibilidade e incentivo.

Ao Prof. Dr. Paulo Goberlanio de Barros Silva, a quem tenho um grande respeito e admiração, sendo peça chave na execução desta pesquisa e de quem pude extrair grandes conhecimentos. Sua humildade como profissional é inspiradora.

Aos alunos da Iniciação Científica, por toda dedicação e disponibilidade durante a execução da pesquisa, sendo essenciais para a conclusão desta. Pessoas especiais que admiro, tenho muito apreço e levarei sempre comigo.

Aos professores participantes da banca de qualificação Dr. George Candeiro e Dra. Juliana Ximenes pelas pertinentes observações e sugestões, ajudando a aprimorar este trabalho.

Às professoras participantes da comissão examinadora desta dissertação, Dra. Lis Monteiro de Carvalho Guerra e Dra. Karla Rovaris da Silva pela imensa colaboração no aprimoramento deste trabalho.

Aos meus colegas de turma do Curso de Mestrado do Centro Universitário Christus, pela amizade, parceria, apoio mútuo e por compartilhar da mesma vontade de alcançar mais um objetivo em nossas vidas.

A todos meus familiares e amigos, que de alguma forma estiveram presentes nessa jornada, me apoiando e me ajudando a concluir mais esta etapa em minha vida.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do uso do alendronato de sódio na movimentação ortodôntica em ratos, analisar a quantidade de movimento dentário, bem como avaliar quantitativamente o trabeculado ósseo a partir de uma análise microtomográfica e analisar histologicamente a área da polpa preenchida por vasos sanguíneos. A amostra foi composta por 30 ratos machos da espécie Wistar, divididos em três grupos com 10 ratos cada: 1) controle (solução salina); 2) alendronato de sódio na dosagem de 1mg/kg; 3) alendronato de sódio na dosagem de 6mg/kg. A droga foi administrada uma vez por semana durante 5 semanas por meio de gavagem. A movimentação ortodôntica foi realizada durante as duas últimas semanas de administração da medicação, a partir do uso de uma mola fechada de níquel-titânio entre o primeiro molar superior esquerdo e os incisivos centrais. O lado oposto foi utilizado como controle. Observou-se, a partir de imagens microtomográficas, que houve menor movimentação ortodôntica no grupo que recebeu alendronato de sódio 6mg/kg, bem como maior número de trabéculas ósseas e menor espaçamento entre elas. Não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao volume ósseo e quanto à espessura média das trabéculas nos três grupos analisados. No lado não movimentado, os grupos alendronato de sódio 1mg/kg e 6mg/kg apresentaram uma quantidade de área de polpa preenchida por vasos significativamente maior em relação ao grupo salina. No lado movimentado, apenas o grupo alendronato de sódio 6mg/kg apresentou quantidade de área de polpa preenchida por vasos significativamente maior em relação aos demais grupos. Na comparação intragrupo, todos os grupos analisados apresentaram quantidade de área preenchida por vasos sanguíneos significativamente maior no lado movimentado em relação ao lado não movimentado.

Palavras-Chave: Bisfosfonatos. Alendronato. Ortodontia. Microtomografia por Raio-X.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of the use of alendronate sodium on orthodontic tooth movement in rats, measure the orthodontic tooth movement and analyse the bone trabeculate from a microcomputed tomography images, and the percentage of blood vessels in the dental pulp from microscopic images. Thirty male Wistar rats were divided into three groups with 10 rats each: 1) control (saline solution); 2) alendronate sodium at the dosage of 1mg / kg; 3) alendronate sodium at the dosage of 6mg / kg. The drug was administered once a week for 5 weeks by gavage technique. Orthodontic tooth movement was performed during the last two weeks of medication administration, from the use of a coil spring between the upper left first molar and the central incisors. The opposite side was used as control. It was observed, from microcomputed tomography images, less orthodontic tooth movement in the group that received alendronate 6mg / kg, as well as a greater trabecular number and less trabecular separation. There were no significant correlations between bone volume and trabecular thickness in all groups analyzed. On the control side, the alendronate sodium groups 1mg / kg and 6mg / kg had a highest percentage of blood vessels in the dental pulp. On the moved side, only the alendronate sodium group 6mg / kg had a highest percentage of blood vessels in the dental pulp in relation to the other groups. All groups analyzed had highest percentage of blood vessels in the dental pulp on the moved side than the control side.

Key words: Bisphosphonates. Alendronate. Orthodontics. X-Ray Microtomography.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALD	Alendronato
ATP	Adenosina trifosfato
FDA	Food and Drug Administration
MDI	Movimentação dentária induzida
OPG	Osteoprotegerina
RANK	Receptor ativador do fator nuclear- κ B
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear- κ B
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
3	OBJETIVOS	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1	Tipo de estudo	22
4.2	Seleção da amostra	22
4.3	Protocolo experimental	22
4.3.1	<i>Administração do fármaco</i>	22
4.3.2	<i>Movimentação dentária induzida</i>	23
4.3.3	<i>Eutanásia</i>	23
4.3.4	<i>Análise microtomográfica</i>	24
4.3.5	<i>Análise histomorfométrica</i>	25
4.3.6	<i>Análise do peso</i>	25
4.4	Análise estatística	26
5	RESULTADOS	27
6	DISCUSSÃO	34

7	CONCLUSÃO.....	41
	REFERÊNCIAS.....	42
	ANEXO	48

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos têm-se observado uma tendência mundial à queda nos níveis de mortalidade e ao aumento da expectativa de vida da população, tornando o número de idosos cada vez maior. Transformações ocorridas no país acarretaram alterações no perfil de morbimortalidade, exigindo mudanças na forma com que a sociedade enfrenta os novos problemas de saúde (DUARTE; BARRETO, 2012; CAMARGOS; BOMFIM, 2017). Com o envelhecimento da população brasileira, há um aumento na prevalência de doenças crônicas não transmissíveis, como a osteoporose, que se caracteriza pela diminuição da densidade mineral óssea, podendo exigir um tratamento corretivo a partir do uso de medicações (CAMARGOS; BOMFIM, 2017).

Os bisfosfonatos são análogos estáveis do pirofosfato e possuem alta afinidade pela hidroxiapatita óssea. Em virtude dos seus efeitos farmacológicos sobre o osso, os fármacos apresentam um papel importante nos distúrbios esqueléticos com taxas desequilibradas de remodelação óssea. Tais medicamentos são considerados eficazes no tratamento das doenças que afetam o metabolismo ósseo, caracterizadas pelo aumento da reabsorção, como a osteoporose, doença de Paget, mieloma múltiplo e metástases ósseas (FREITAS *et al.*, 2016).

A estabilidade desses medicamentos é conferida por um átomo de carbono substituindo o átomo de oxigênio que conecta os dois fosfatos (P-C-P), o que torna a molécula resistente à degradação biológica (RUSSEL *et al.*, 2008). Estruturalmente, eles são divididos em cíclicos e não cíclicos, dependendo da natureza de suas cadeias laterais, podendo conter ou não um átomo de nitrogênio, o que os classifica em não nitrogenados e nitrogenados. Os últimos exibem efeitos anti-reabsorptivos mais fortes que os primeiros, porém podem apresentar uma citotoxicidade mais alta, devido ao seu mecanismo de ação (SHIMA *et al.*, 2017). Os mesmos atuam na via do mevalonato, inibindo a enzima farnesil pirofosfato sintase no caminho da síntese de colesterol (OHNO *et al.*, 2011), o que interferirá na modificação pós-translacional de proteínas como as GTPases, que regulam uma variedade de processos importantes para a função dos osteoclastos, incluindo a morfologia celular e a organização do citoesqueleto, sendo capazes de promoverem a apoptose dessas

células (BALLANTYNE, 2015; ROGERS, 2004). Entre os representantes dos bisfosfonatos nitrogenados encontra-se o alendronato de sódio (SHIMA *et al.*, 2017; OHNO *et al.*, 2011).

Além de induzirem a apoptose, os bisfosfonatos também podem afetar a reabsorção óssea mediada pelos osteoclastos de outras maneiras, como no seu recrutamento, na sua formação e na sua diferenciação (ROSINI *et al.*, 2015). Podem também prevenir fatores ativadores de osteoclastos, tais como a interação do ligante do receptor ativador do fator nuclear- κ B (RANKL) ao seu receptor (RANK), mediador primário da diferenciação, ativação e sobrevivência dos osteoclastos (KRISHNAN; PANDIAN; KUMAR, 2015).

Devido ao fato de se incorporarem na matriz óssea e possuírem uma meia-vida extremamente longa, eles ainda podem afetar o metabolismo ósseo por até dez anos após o paciente ter completado a terapia (BARTZELA *et al.*, 2009).

Nos últimos anos também se têm observado um aumento da demanda de pacientes adultos e idosos em busca do tratamento ortodôntico (CAPELOZZA FILHO *et al.*, 2001; MALTAGLIATI; MONTES, 2007). Todavia, existem alguns fatores a serem avaliados para o tratamento desses pacientes, entre eles, a sua história médica e o uso de medicações que podem interferir na remodelação óssea.

O movimento ortodôntico é provocado através da aplicação de forças mecânicas controladas, criando uma resposta biológica no dente com uma série de eventos no ligamento periodontal e no osso alveolar, o que leva a uma remodelação óssea (KAIPATUR *et al.*, 2013; ARAÚJO *et al.*, 2015). No lado de pressão, haverá uma diminuição do fluxo sanguíneo no ligamento periodontal comprimido, provocando alterações teciduais, que, em conjunto com a ativação de mediadores químicos, levará à formação dos osteoclastos, responsáveis pela reabsorção óssea. No lado de tensão esses eventos biológicos irão promover a atividade osteoblástica e a consequente deposição de tecido osteóide, que, posteriormente, será mineralizado (VON BOHL; KUIJPERS-JAGTMAN, 2009).

Estudos recentes verificaram o efeito de alguns tipos de bisfosfonatos no movimento ortodôntico realizado em ratos, mostrando que esses fármacos retardam significativamente a movimentação ortodôntica nesses animais. (KARRAS *et al.*, 2009; SIRISOONTORN *et al.*, 2012; KAIPATUR *et al.*, 2013; SALAZAR *et al.*, 2015). Além disso, outros estudos prévios têm relacionado a movimentação ortodôntica

(DERRINGER; LINDEN, 2003; DERRINGER; LINDEN, 2004; SANTAMARIA JR. *et al.*, 2005; NIKLAS *et al.*, 2013) e o uso de bisfosfonatos (EVANS; OBERBAUER, 2009; BARROS SILVA *et al.*, 2017; ABU EL-ASRAR *et al.*, 2017; BARROS SILVA *et al.*, 2019) à alterações na polpa dentária.

A microtomografia é uma técnica não-destrutiva semelhante à tomografia computadorizada de feixe cônico, porém em escala micrométrica, conferindo, desse modo, maior riqueza de detalhes e fidelidade para o objeto em estudo. A partir de suas imagens é possível examinar os interiores de objetos sólidos opacos (CHAPPARD *et al.*, 2005). Em 1998, foi validada como um método tridimensional de acesso e análise do osso trabecular, por meio da comparação com a histomorfometria (MULLER *et al.*, 1998).

Visto que o número de usuários de bisfosfonatos é crescente e diante do aumento da demanda de pacientes adultos que buscam o tratamento ortodôntico, é necessário conhecer as alterações metabólicas e os efeitos que esses medicamentos antirreabsortivos podem causar nos maxilares durante a movimentação ortodôntica. Uma vez que a microtomografia vem sendo bastante utilizada para avaliação do trabeculado ósseo e tomando como referência estudos prévios com experimentos em ratos, torna-se relevante a realização de novas pesquisas para se avaliar a influência desses medicamentos no movimento ortodôntico, na qualidade do trabeculado ósseo, bem como na polpa dentária, objetivando contribuir para um melhor planejamento e execução dos tratamentos realizados em seres humanos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A fratura osteoporótica é reconhecida como um importante problema de saúde social, levando a um aumento nas taxas de morbidade e mortalidade dos pacientes que sofrem esse tipo de fratura (SVENSSON *et al.*, 2016). Estima-se que nos Estados Unidos cerca de 7 a 12 milhões de americanos convivam com a osteoporose (LOOKER *et al.*, 2017). No Brasil, a prevalência dessa doença em mulheres na pós-menopausa varia de 15% a 33%, dependendo da metodologia utilizada nos estudos (BACCARO *et al.*, 2015).

Recentemente, várias opções de tratamento farmacológico, incluindo agentes antirreabsortivos ou anabólicos, têm sido continuamente desenvolvidas (BYUN *et al.*, 2017). Os bisfosfonatos foram introduzidos na década de 1990, inicialmente com o etidronato, e, atualmente, continuam sendo o pilar do tratamento das doenças osteoporóticas, baseado na segurança e eficácia (RUSSEL, 2008).

Estudos têm elucidado o mecanismo de ação dos bisfosfonatos, dividindo essa classe farmacológica em dois subgrupos, atuando de modo a serem tóxicos aos osteoclastos ou interferindo em vias intracelulares específicas dessas células (GHONEIMA *et al.*, 2010). O primeiro grupo engloba os bisfosfonatos não-nitrogenados (etidronato, clodronato, tiludronato) cujo metabólitos promovem o bloqueio da função dos osteoclastos pela inibição de enzimas dependentes de ATP (LEHENKARI *et al.*, 2002). Já o outro grupo envolve os bisfosfonatos nitrogenados (alendronato, risedronato, pamidronato), que atuam na via do mevalonato, interferindo na formação das GTPases a partir da inibição da enzima farnezil pirofosfato sintase e, conseqüentemente, levando à apoptose dos osteoclastos (OHNO *et al.*, 2011; BALLANTYNE, 2015).

A possível gastrotoxicidade dessas medicações tem sido relatada em alguns estudos. Zografos *et al.* (2009) afirmam que para a maioria dos bisfosfonatos disponíveis comercialmente, uma diminuição na frequência de administração pode levar a uma melhor tolerabilidade gastrointestinal, reduzindo o risco de lesões esofágicas. Lanza *et al.* (2002) realizaram um estudo randomizado, duplo-cego com 277 pacientes a fim de avaliar o grau de erosão gástrica da dose semanal mais utilizada de alendronato de sódio no tratamento da osteoporose. Após avaliação por endoscopia, observou-se que os escores médios de erosão gástrica foram

semelhantes em indivíduos tratados semanalmente com 70mg de alendronato de sódio e aqueles que receberam placebo.

Em 1995, a FDA (Food and Drug Administration) aprovou o uso do alendronato de sódio para prevenção de fratura óssea em mulheres no período pós-menopausa após o primeiro grande ensaio realizado em pacientes com osteoporose, em que se observou redução de fraturas vertebrais e outros tipos de fraturas clínicas nas mulheres que fizeram uso da medicação (BLACK *et al.*, 1996).

Além do tratamento para a osteoporose, os bisfosfonatos também apresentam amplo uso relacionado a outras doenças que interferem no metabolismo ósseo, como a Doença de Paget (SILVERMAN, 2008) e as metástases ósseas (BROWN; NEVILLE-WEBBE; COLEMAN, 2004).

Apesar dos benefícios para o tratamento dessas doenças, em 2003 foi relatado o primeiro caso de osteonecrose dos maxilares relacionada ao uso de bisfosfonatos (MARX, 2003). Aproximadamente 95% dos casos de osteonecrose ocorrem em pacientes com câncer que recebem altas doses de bisfosfonatos, enquanto apenas 5% dos casos são em pacientes com osteoporose que recebem baixas doses da terapia, demonstrando, desse modo, a relação entre a dose aplicada e o desenvolvimento da osteonecrose (FAVUS, 2007; COMPSTON, 2011). Embora diversos estudos relatem a influência dessas medicações na movimentação ortodôntica, ainda não existem estudos que comprovem que o tratamento ortodôntico aumenta o risco à osteonecrose (SIRISOONTORN *et al.*, 2012; KAIPATUR *et al.*, 2013; HASHIMOTO *et al.*, 2013; VENKATARAMANA *et al.*, 2014; CONSOLARO, 2014; SALAZAR *et al.*, 2015; NAKAS *et al.*, 2017; FRANZONI *et al.*, 2017).

Durante a movimentação ortodôntica a aplicação de uma força mecânica leva a um movimento dentário caracterizado por mudanças na remodelação de tecidos dentais e paradentais, incluindo polpa, ligamento periodontal, osso alveolar e gengiva. Esses tecidos, quando expostos a variados graus de magnitude, frequência e duração da força, expressam alterações macroscópicas e microscópicas (KRISHNAN; DAVIDOVITH, 2006). Entre as alterações ocasionadas à polpa dentária, encontra-se na literatura a mudança no número de vasos sanguíneos após aplicação da força ortodôntica (DERRINGER; LINDEN, 2003; DERRINGER; LINDEN, 2004; SANTAMARIA JR. *et al.*, 2005; NIKLAS *et al.*, 2013).

Estudos em animais têm avaliado a influência que os bisfosfonatos podem exercer na movimentação ortodôntica. Ren *et al.* (2004), demonstraram em sua revisão sistemática que os ratos são um bom modelo animal para estudos com movimentação ortodôntica, considerando-se aspectos como custo, amostra em estudo, tempo de manutenção e análises microscópicas.

Em 2009, Fujimura *et al.* investigaram o efeito dos bisfosfonatos sobre o movimento dentário ortodôntico e a reabsorção radicular em camundongos. A movimentação do primeiro molar superior foi induzida por uma mola de níquel-titânio. O grupo teste foi tratado com bisfosfonatos via sistêmica e o grupo controle recebeu uma solução salina tamponada. Após 12 dias, foi medida a quantidade de movimentação e realizada uma avaliação histológica. A reabsorção radicular foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura. Os bisfosfonatos reduziram a quantidade de movimentação ortodôntica, o número de osteoclastos e a reabsorção radicular no lado de pressão.

Karras *et al.* (2009) estudaram os efeitos do alendronato de sódio na movimentação ortodôntica em ratos. No grupo tratado foi administrado 7mg/kg por semana de alendronato de sódio por meio de gavagem. A movimentação ortodôntica foi realizada através da ativação de uma mola de níquel-titânio entre os incisivos centrais e o primeiro molar, e após duas e quatro semanas foram realizadas medidas em modelos de gesso do diastema que se formou entre o primeiro e o segundo molares. Observou-se então que houve uma menor movimentação ortodôntica no grupo tratado com alendronato de sódio.

No estudo de Choi *et al.* (2010), foi avaliado o efeito a curto prazo do clodronato na remodelação óssea e reabsorção radicular associadas à movimentação ortodôntica em ratos. Duas dosagens diferentes de clodronato foram administradas via sistêmica nos grupos testes e o movimento ortodôntico foi induzido por uma mola de níquel-titânio entre os incisivos e o primeiro molar superior. Através de análise histomorfométrica após 4, 7 e 17 dias, foi observado que as duas doses de clodronato diminuiu a quantidade de movimentação dentária e a reabsorção radicular.

Venkataramana *et al.* (2013) tiveram como objetivo observar o impacto dos bisfosfonatos no movimento ortodôntico. Foram utilizados 21 coelhos no estudo, divididos em grupo teste, tratado com pamidronato via sistêmica, e grupo controle.

Ambos tiveram a movimentação ortodôntica do primeiro molar inferior realizada a partir de uma mola de níquel-titânio. Foram administradas três doses a cada 7 dias, e após 21 dias foi realizada a avaliação histológica. Os autores concluíram que o movimento dos dentes foi significativamente reduzido nos animais que receberam as doses de pamidronato.

Em outro estudo, Salazar *et al.* (2015) avaliaram o efeito de duas diferentes dosagens de alendronato de sódio na movimentação ortodôntica realizada em ratas com osteoporose após ovariectomia. O primeiro molar superior foi submetido à movimentação ortodôntica a partir de uma mola de níquel-titânio e os grupos receberam tratamento com alendronato de sódio via subcutânea na dosagem de 1mg/kg, 2mg/kg ou nenhum tratamento. Os autores concluíram que houve uma maior movimentação ortodôntica no grupo ovariectomizado não tratado e que as duas doses de alendronato de sódio diminuíram a movimentação ortodôntica, porém sem diferença estatisticamente significativa entre elas.

Nakas *et al.* (2017) objetivaram investigar os efeitos do clodronato na movimentação ortodôntica em ratos, enfatizando a relação com a dose e o tempo de administração. Foram utilizados ratos da espécie Wistar divididos em quatro grupos com diferentes concentrações da droga e intervalos diferentes de aplicação. A movimentação ortodôntica foi induzida por um separador elástico entre os incisivos e a quantidade de movimento foi medida a partir da distância do incisivo para o molar do mesmo lado. Os autores concluíram que, o movimento do dente é impedido pela maior dosagem, bem como pelo menor intervalo de aplicação, mesmo com menor dosagem.

No estudo de Franzoni *et al.* (2017), avaliou-se o movimento dentário ortodôntico em ratos tratados com alendronato de sódio a 2,5mg/kg e ácido zolendrônico a 0,1mg/kg. Cada grupo foi composto por um total de 15 ratos cada, assim como o grupo controle, o qual recebeu solução salina. A administração dos fármacos foi realizada durante 25 dias antes do início da movimentação e por mais 10 dias, período total da movimentação dentária induzida (MDI), realizada a partir de uma mola helicoidal fechada com uma força inicial de 40gF. Observou-se uma redução de 58,3% da MDI no grupo do alendronato de sódio e de 99,6% no grupo do ácido zoledrônico quando comparados ao grupo controle.

Com o surgimento da microtomografia, biólogos iniciaram o seu uso para adquirir imagens de estruturas ósseas e dentes, devido ao fato de serem estruturas naturalmente mineralizadas e fornecerem, desse modo, forte contraste na imagem em comparação com os tecidos moles circundantes (BAIRD; TAYLOR, 2017).

Essa técnica tem a capacidade de abordar o papel da arquitetura trabecular em propriedades mecânicas do osso, avaliando parâmetros específicos em três dimensões, bem como oferece uma avaliação da qualidade óssea, fornecendo dados microestruturais objetivos e quantitativos (FANUSCU; CHANG, 2004). Diversos estudos têm utilizado a microtomografia para avaliação do osso trabecular, visto que a microarquitetura desse osso tem sido identificada como um importante parâmetro de qualidade (FELSENBERG; BOONEN, 2005).

Sirisoontorn *et al.* (2012) avaliaram a movimentação ortodôntica e a reabsorção radicular em ratas ovariectomizadas tratadas com zolendronato, na dose de 1,6 µg/kg por semana, via sistêmica. Foi utilizada uma mola de níquel-titânio para movimentação ortodôntica e indução de reabsorção radicular. A partir de imagens de microtomografia, os autores concluíram que o grupo tratado com zolendronato inibiu significativamente a movimentação ortodôntica, bem como reduziu a severidade da reabsorção radicular quando comparado com o grupo ovariectomizado não tratado, porém, sem diferença estatisticamente significativa quando comparado com o grupo controle (não ovariectomizadas).

No estudo de Kaipatur *et al.* (2013) investigou-se os efeitos a longo prazo do uso de bisfosfonatos na movimentação ortodôntica em ratos. Foi realizado a mesialização do primeiro molar a partir da ativação de uma mola de níquel-titânio ancorada em mini-implante. Dois grupos receberam alendronato de sódio, na dose de 0,015mg/kg subcutâneo ou solução salina simultaneamente à movimentação ortodôntica e outros dois grupos receberam as mesmas doses cada durante um período de 3 meses e tiveram o seu uso suspenso antes do início da movimentação ortodôntica. Após avaliação por microtomografia, os autores observaram que os dois grupos tratados com alendronato apresentaram uma menor movimentação ortodôntica quando comparados aos grupos controle, com uma redução mais severa no grupo com administração prévia da droga.

Em outro estudo, Hashimoto *et al.* (2013) estudaram a relação existente entre as mudanças ósseas morfométricas e o movimento ortodôntico em ratas

ovariectomizadas tratadas com ácido zolendrônico. Foi realizada movimentação ortodôntica do primeiro molar superior a partir de uma mola de níquel-titânio em todos os grupos. A partir de imagens microtomográficas da tíbia e da região do primeiro molar, foi possível observar que o movimento ortodôntico foi acelerado nas ratas com perda óssea após ovariectomia e que o ácido zolendrônico suprimiu essa movimentação. Houve também uma relação inversamente proporcional entre a massa óssea trabecular da tíbia e a quantidade de movimento ortodôntico.

Em 2014, Nakano *et al.* investigaram as diferenças na movimentação dentária e reabsorção radicular com o uso de diferentes forças (10g, 25g, 50g e 100g) a partir de uma mola fechada de níquel titânio para movimento mesial de molares em ratas Wistar. Foi realizada avaliação micotomográfica e por microscopia eletrônica de varredura. Os autores observaram que houve uma maior quantidade de movimento no grupo que recebeu 10gF, com um movimento de inclinação e no que recebeu 50gF, com um movimento de corpo. Além disso, a aplicação de 100gF levou a uma menor quantidade de movimentação ortodôntica e a uma maior taxa de reabsorção radicular.

No estudo de Weiis *et al.* (2018), avaliou-se o efeito do alendronato de sódio no reparo ósseo de fraturas criadas em fêmur, com posterior sistema de fixação com placa e parafuso. Foi um total de 36 ratos divididos em três grupos: controle (solução salina), alendronato de sódio 1mg/kg e alendronato de sódio 3mg/kg. As medicações foram administradas intraperitonealmente, três vezes por semana, durante um total de 45 dias. Após avaliação microtomográfica das peças cirúrgicas, os autores observaram que os grupos tratados com alendronato de sódio apresentaram menor espaçamento entre as trabéculas ósseas quando comparados ao grupo controle, e que o grupo alendronato 3mg/kg apresentou maior quantidade de trabéculas ósseas por unidade de comprimento em relação aos demais grupos.

Além das pesquisas em animais, também é possível encontrar na literatura estudos envolvendo seres humanos, como a revisão sistemática realizada por Krieger *et al.* (2013). Nesse estudo os autores avaliaram e demonstraram os efeitos relatados e o estado atual da pesquisa científica em relação ao tratamento ortodôntico associado ao uso de bisfosfonatos em humanos. Apenas sete artigos estavam de acordo com os critérios de inclusão, deles, quatro relatos de casos, duas séries de casos, com dois e três pacientes respectivamente, e um estudo de coorte

retrospectivo. Falta de paralelismo entre as raízes, com inclinação de coroa em vez de movimento de corpo e fechamento de espaço incompleto nos casos de extrações, sinais radiográficos como esclerose do alvéolo e aumento do espaço periodontal, reabsorções radiculares e maior duração do tratamento foram os efeitos mais relatados. Segundo os autores, devido à falta de evidências científicas, o movimento dentário ortodôntico em pacientes expostos aos bisfosfonatos ainda é imprevisível e os riscos do tratamento devem ser analisados.

Estudos prévios também têm relacionado o uso de bisfosfonatos a alterações no fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), bem como nos níveis do fator de necrose tumoral α (TNF- α) e de osteoprotegerina (OPG).

Em 1992, Fajardo *et al.* elucidou a partir de seu estudo utilizando o sistema de angiogênese discal que o TNF- α em baixas doses (0,01 a 1 ng) pode levar a um aumento na taxa de angiogênese, enquanto doses elevadas (1 a 5 μ g) desse fator pode levar a um efeito inverso. Outros estudos também investigaram essa propriedade do TNF- α . Wang *et al.* (2017), demonstraram que o TNF- α regula positivamente fatores que estimulam a angiogênese relacionada à osteoartrite. Lim *et al.* (2017), observaram que a redução nos níveis de angiogênese presente em fraturas em animais diabéticos foram recuperados pela inibição de TNF- α *in vivo* e Jin *et al.* (2018) verificaram que o TNF- α pode levar a um aumento na produção de VEGF na células endoteliais, em resposta a hipoxia.

Ferreti *et al.* (2005) avaliaram as modificações da circulação de fatores angiogênicos, entre eles o VEGF, após uma única infusão endovenosa de 4mg de ácido zolendrônico em 18 pacientes com diagnóstico de câncer de mama e metástase óssea. Foi realizada coleta de sangue dessas pacientes imediatamente antes, com 2 e 7 dias após à administração da medicação. Os autores observaram um decréscimo nos níveis de VEGF 2 dias após à administração do ácido zolendrônico. Entretanto, aos 7 dias houve um aumento nos níveis de VEGF em relação ao nível basal e também àquele apresentado com 2 dias. Em outro estudo, Evans and Oberbauer (2009) investigaram a ação do alendronato de sódio em placa de cultura com condrócitos endocondrais isolados de camundongos em crescimento tratados clinicamente com o bisfosfonato, e os autores demonstraram que a medicação diminuiu a expressão do VEGF, importante fator para a angiogênese.

No estudo de Barros Silva *et al.* (2017), realizou-se administração de ácido zolendrônico nas dosagens de 0,04, 0,20 e 1,00 mg/kg, bem como de solução salina em ratos. No 70º dia de experimento realizou-se a eutanásia dos animais para análise imuno-histoquímica. Os autores observaram um aumento nos níveis de TNF- α com o uso do ácido zolendrônico, enfatizando que quanto maior a dose, maior o aumento.

Abu El-asrar *et al.* (2018) correlacionaram os níveis de expressão de OPG com o fator angionênico VEGF na retinopatia diabética proliferativa. Para isso, realizou-se uma análise imuno-histoquímica de amostras vítreas de pacientes com retinopatia diabética e compararam com amostras de pacientes não diabéticos. Os autores observaram que a OPG estimula a produção de VEGF e concluíram desse modo, que a OPG, além do seu já conhecido papel na regulação do metabolismo ósseo, é um novo regulador da angiogênese, estando diretamente relacionada com o VEGF.

No recente estudo de Barros Silva *et al.* (2019), foram realizadas infusões intravasculares de 0,20 mg/kg de ácido zolendrônico e de 0,1ml/kg de solução salina com 0, 7, 14 e 49 dias. Três semanas após a última administração, os animais foram sacrificados para análise imuno-histoquímica e observou-se um aumento nos níveis de OPG no grupo que recebeu a medicação.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

- Avaliar *in vivo* o efeito do uso do alendronato de sódio na movimentação ortodôntica em ratos.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a variação de massa corpórea dos animais ao final do experimento nos três grupos analisados.
- Analisar quantitativamente a movimentação ortodôntica através da microtomografia.
- Analisar quantitativamente o osso na região de furca a partir dos parâmetros de volume ósseo, número de trabéculas, espessura de trabéculas e espaçamento entre as trabéculas, através da avaliação microtomográfica.
- Analisar histomorfometricamente as alterações da polpa dentária induzida pela movimentação ortodôntica, a partir da área preenchida por vasos sanguíneos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo teve aprovação do comitê de ética no uso de animais (CEUA) do Centro Universitário Christus sob o número 039/17 (Anexo).

4.1 Tipo de estudo

Estudo de caráter experimental laboratorial *in vivo*, do tipo quantitativo.

4.2 Seleção da amostra

Para esse estudo, um total de 30 ratos machos da espécie Wistar, com peso médio de 180g, foram divididos em três grupos com 10 ratos cada: 1) controle (solução salina); 2) alendronato de sódio na dosagem de 1mg/kg; 3) alendronato de sódio na dosagem de 6mg/kg.

4.3 Protocolo experimental

Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas e passaram uma semana para adaptação ambiental após o transporte, antes do início do experimento. Os mesmos foram mantidos em regime de água e alimentação *ad libitum*, à temperatura média de 23°C e iluminação artificial com lâmpadas fluorescentes, sendo fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando o período de luz das 7 às 19 horas.

4.3.1 Administração do fármaco

O alendronato de sódio foi administrado uma vez por semana durante um total de 5 semanas nos grupos experimentais. A administração foi realizada pela técnica de gavagem, uma vez que leva a droga diretamente ao estômago do animal, sendo considerada o padrão de administração oral para se obter uma maior precisão na dosagem, como utilizado no trabalho de Karras *et al.*, 2009.

4.3.2 Movimentação dentária induzida

Os animais foram anestesiados com uma injeção intraperitoneal de uma combinação de 8mg/kg de xilazina e 70mg/kg de ketamina antes da colocação de um dispositivo mecânico para indução do movimento dentário (SALAZAR *et al.*, 2015).

A movimentação ortodôntica foi realizada durante as duas últimas semanas de administração da medicação, a partir do uso de uma mola fechada de níquel-titânio (Morelli®, Sorocaba, São Paulo, Brasil) para aplicação de uma força contínua de 50gF presa ao primeiro molar superior esquerdo e aos incisivos centrais através de fio de amarelo de aço inox 0.008 polegadas (Morelli®, Sorocaba, São Paulo, Brasil) e reforço com resina (Z100, 3M, Saint Paul, MN, USA) (SALAZAR *et al.*, 2015) (Figura 1). Esse modelo de movimentação foi realizado na maxila apenas do lado esquerdo e o lado direito foi utilizado como controle.



Figura 1: Mola de níquel-titânio para movimentação dentária induzida.

4.3.3 Eutanásia

Ao final do experimento, foi realizada a eutanásia dos animais a partir de uma superdose anestésica, e, posteriormente, feita a remoção da maxila e o armazenamento da mesma em solução de formaldeído a 37% para posterior avaliação microtomográfica.

4.3.4 Análise microtomográfica

As maxilas foram escaneadas no microtomógrafo SkyScan 1172 (Bruker, Kontich, Belgium), utilizando o protocolo de escaneamento com os seguintes parâmetros: 80 kVp, 120 μ A, filtro de 0.5 Al, 14 μ m tamanho de voxel, 0.3° de *rotation step*, 1 *frame* e um giro de 180°. A reconstrução das imagens foi realizada no software NRecon (Bruker, Kontich, Belgium) com a aplicação das seguintes correções de artefato: 2 de redução de ruído e 5 de redução de artefato em anel. A reorientação do volume em posição padrão foi executada no software Dataviewer (Bruker, Kontich, Belgium), previamente a realização das análises. Para a medição do diastema cortes axiais foram selecionados na altura do ponto de contato entre primeiro e segundo molares do hemiarco do lado oposto, após a seleção do corte, a medição foi feita com ferramenta específica do software CTAn (Bruker, Kontich, Belgium), iniciando do ponto mais projetado da face distal do primeiro molar esquerdo até o ponto mais projetado da face mesial do segundo molar esquerdo (Figura 2). A medição foi realizada 3 vezes pelo mesmo avaliador previamente calibrado e a média dos valores foi utilizada para as análises estatísticas. A região de furca do primeiro molar foi utilizada para o cálculo dos parâmetros de qualidade óssea, para esta análise, 10 cortes sagitais foram utilizados, o desenho manual da região de interesse na furca foi realizado respeitando os limites do espaço periodontal e do osso cortical periapical (Figura 3). Parâmetros de volume ósseo, espessura de trabécula, separação das trabéculas e número de trabéculas foram tabulados para posterior análise estatística.

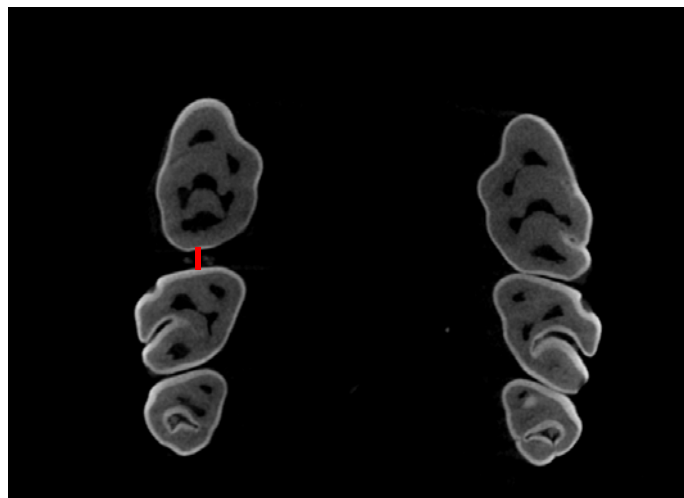


Figura 2: Medição do diastema entre o primeiro e o segundo molar na imagem microtomográfica.



Figura 3: Região de furca do primeiro molar analisada na imagem microtomográfica.

4.3.5 *Análise histomorfométrica*

Após obtenção das imagens microtomográficas, as maxilas foram removidas, dissecadas, imersas em solução formalina a 10% por 48h, lavadas em água corrente por 24h e descalcificadas em uma solução de EDTA a 10% por seis semanas. As amostras então foram desidratadas, incorporadas em parafina e cortes de 3 μ m em sentido transversal ao longo do maior eixo dos molares foram realizados e corados com hematoxilina e eosina (SALAZAR *et al.*, 2015). Foram realizadas fotomicrografias em aumento de 400 X para montagem de toda a polpa dentária do primeiro molar superior movimentado e não movimentado. As imagens foram exportadas para o software Image J® no qual foi utilizado o comando freehand selections para mensuração da área preenchida por vasos sanguíneos e da área total da polpa dentária. Foi calculado o percentual de preenchimento da polpa dentária por vasos sanguíneos para cada dente para análise estatística.

4.3.6 *Análise do peso*

O peso dos animais foi acompanhado durante todo o experimento, realizando as medidas no início, semanalmente durante a execução e no dia da eutanásia, para posterior análise estatística.

4.4 Análise estatística

Os dados em relação à variação do peso dos animais foram submetidos ao teste ANOVA-2-way para medidas repetidas seguido do pós-teste de Bonferroni. Os dados quanto ao diastema, volume ósseo, espessura de trabécula, separação das trabéculas, número de trabéculas e área da polpa preenchida por vasos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, expressos em forma de média e erro-padrão e comparados por meio do teste ANOVA-1-way ou 2-way/Bonferroni ($p < 0,05$, GraphPad Prism 5,0).

5 RESULTADOS

Houve aumento da massa corpórea em todos os animais nos três grupos analisados ao final do experimento, entretanto, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p>0,05$) (Gráfico 1).

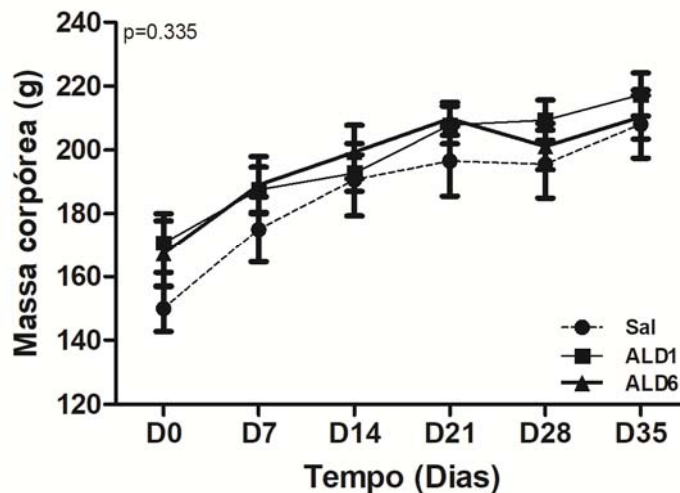


Gráfico 1: Variação da massa corpórea dos animais nos grupos salina, ALD1 e ALD6 de acordo o tempo analisado.

Quanto à quantidade de movimentação dentária, o grupo alendronato de sódio 6mg/kg (ALD6) apresentou movimentação ortodôntica significativamente menor quando comparado aos demais grupos ($p<0,05$). No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa na quantidade de movimentação ortodôntica entre os grupos salina e alendronato de sódio 1mg/kg (ALD1) ($p>0,05$) (Gráfico 2) (Figura 4). Para comparação entre os grupos, considerou-se inicialmente a existência de ponto de contato entre os primeiros e segundos molares no lado movimentado.

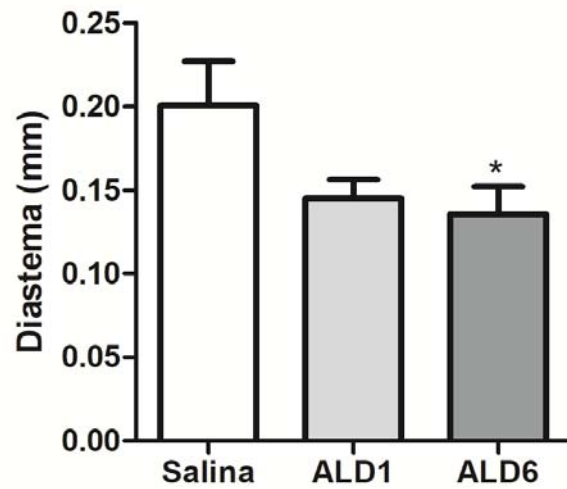


Gráfico 2: Diastema (mm) entre o primeiro e o segundo molares superiores do lado esquerdo dos grupos salina, ALD1 e ALD6. *($p < 0,05$)



Figura 4: Imagens microtomográficas representativas dos diastemas entre o primeiro e o segundo molares superiores do lado esquerdo dos grupos salina, ALD1 e ALD6.

Não se observou diferença estatisticamente significativa em relação ao volume ósseo e à espessura das trabéculas entre os três grupos analisados ($p > 0,05$) (Gráficos 3 e 4).

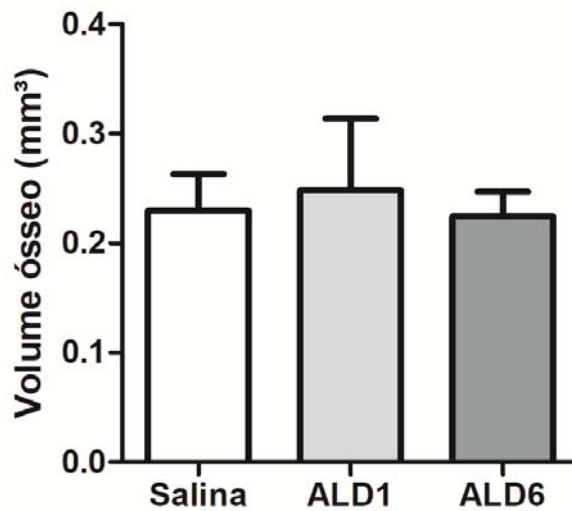


Gráfico 3: Volume ósseo (mm³) da região de furca do primeiro molar superior do lado esquerdo dos grupos salina, ALD1 e ALD6.

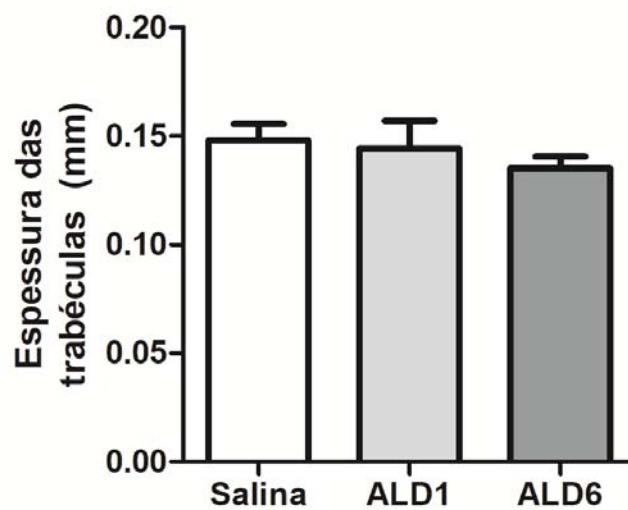


Gráfico 4: Espessuras das trabéculas (mm) na região de furca do primeiro molar superior do lado esquerdo dos grupos salina, ALD1 e ALD6.

Em relação ao número de trabéculas ósseas na região analisada, os grupos salina e alendronato de sódio 1mg/kg obtiveram resultados semelhantes, sem diferença estatisticamente significativa entre si ($p > 0,05$). Já o grupo alendronato de sódio 6mg/kg apresentou número de trabéculas significativamente maior em relação aos demais grupos ($p < 0,05$) (Gráfico 5).

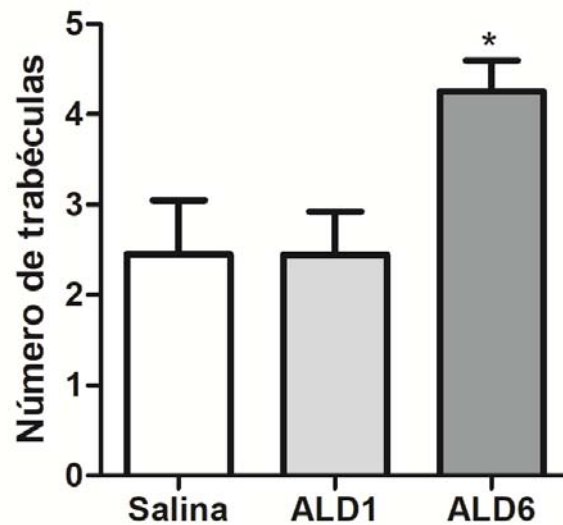


Gráfico 5: Número de trabéculas na região de furca do primeiro molar superior do lado esquerdo dos grupos salina, ALD1 e ALD6. *($p < 0,05$)

Quanto à separação das trabéculas ósseas na região analisada, o grupo alendronato de sódio 6mg/kg apresentou separação significativamente menor quando comparado aos outros dois grupos ($p < 0,05$). Entretanto quando comparados os grupos salina e alendronato de sódio 1mg/kg entre si, não foi possível observar diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) (Gráfico 6).

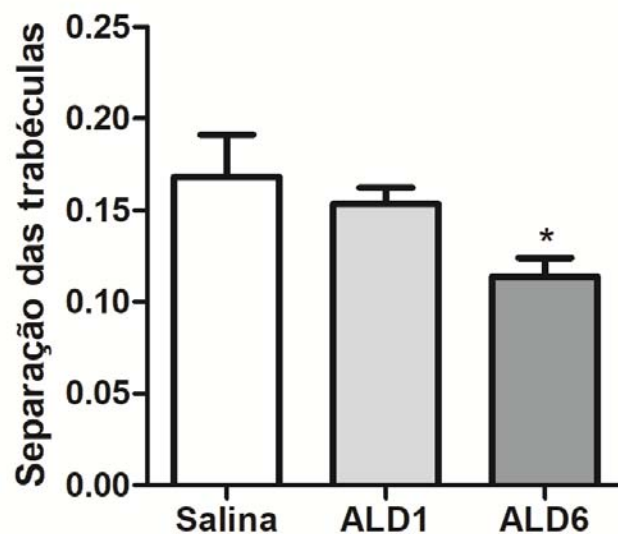


Gráfico 6: Separação das trabéculas ósseas na região de furca do primeiro molar superior do lado esquerdo dos grupos salina, ALD1 e ALD6. *($p < 0,05$)

Quanto à área da polpa preenchida por vasos sanguíneos, no lado não movimentado, os grupos alendronato de sódio 1mg/kg e 6mg/kg apresentaram uma quantidade de área significativamente maior em relação ao grupo salina ($p<0,05$). No lado movimentado, o grupo alendronato de sódio 6mg/kg apresentou quantidade de área significativamente maior em relação aos demais grupos ($p<0,05$), enquanto os grupos alendronato de sódio 1mg/kg e salina não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ($p>0,05$). Na comparação intragrupo, todos os grupos analisados apresentaram quantidade de área preenchida por vasos sanguíneos significativamente maior no lado movimentado em relação ao lado não movimentado ($p<0,05$) (Gráfico 7) (Figura 5).

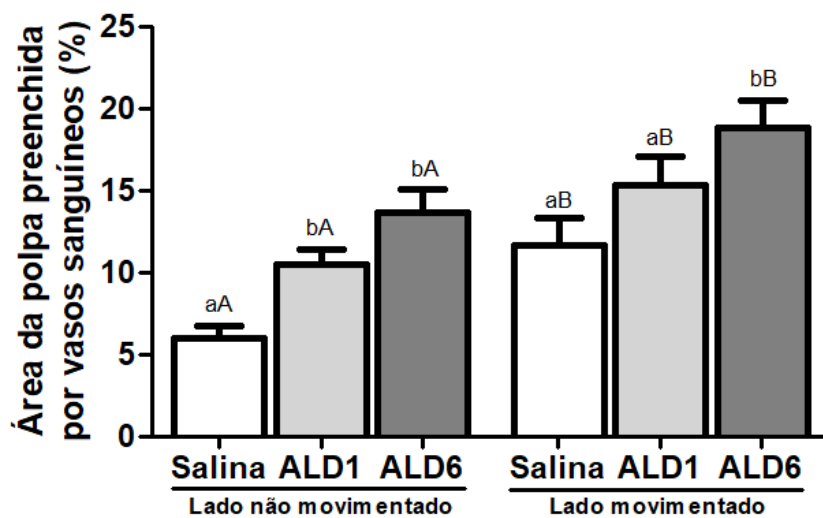


Gráfico 7: Letras minúsculas diferentes = diferença significativa entre grupos, Teste ANOVA/Bonferroni; Letras maiúsculas diferentes = diferença significativa entre lados, teste t de Student; A análise pelo ANOVA 2-way demonstrou que o fator grupo ($p<0,001$) e o fator movimentação ($p<0,001$) foram fatores significantes, porém, a interação entre os fatores não modificou o comportamento entre os grupos ($p=0,963$).

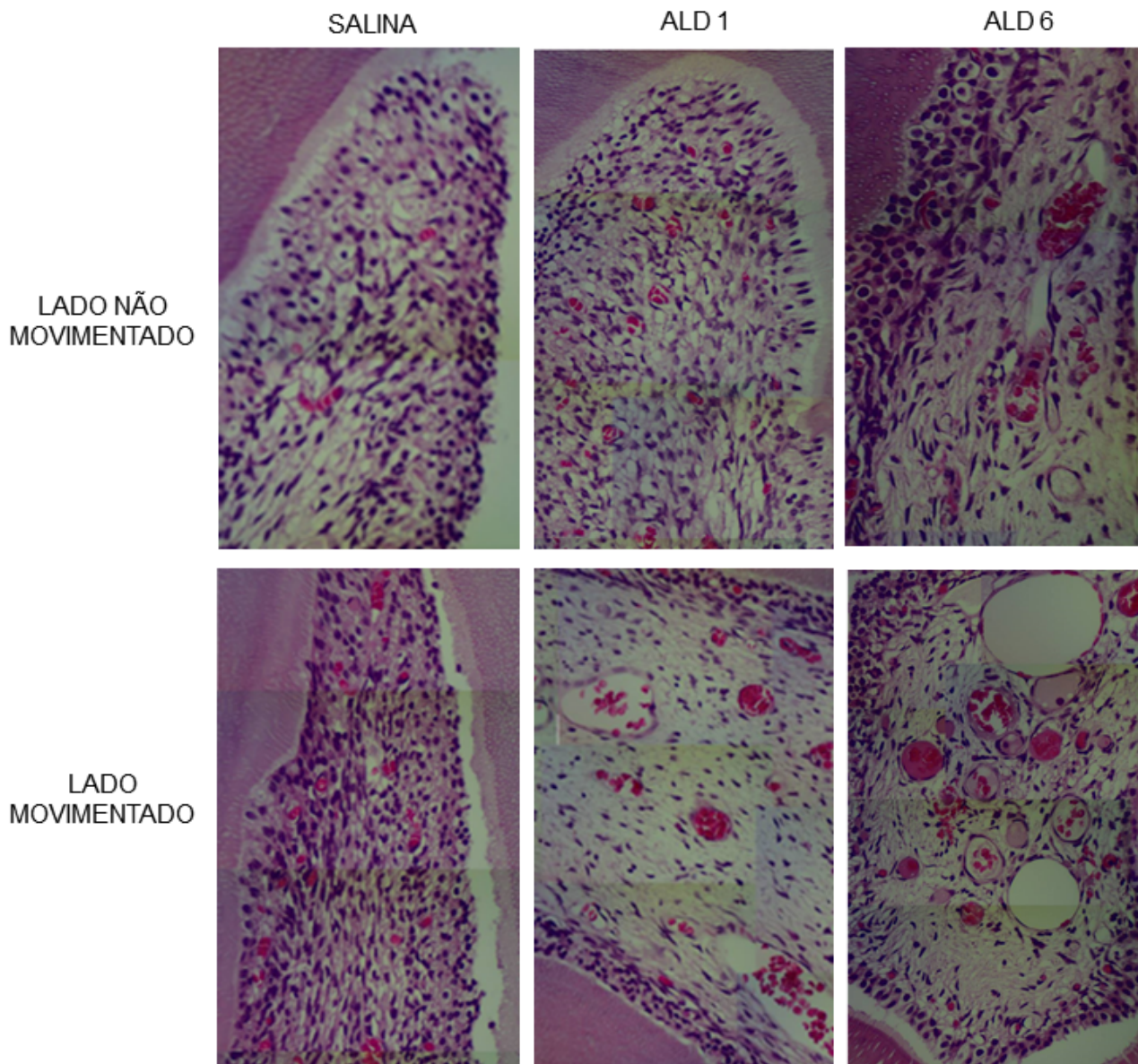


Figura 5: Fotomicrografias das polpas dentárias do primeiro molar superior movimentado e não movimentado em ratos tratados com alendronato de sódio em diferentes doses.

As imagens histológicas demonstram uma maior área preenchida por vasos sanguíneos nos grupos tratados com alendronato de sódio, bem como nos lados movimentados (400X).

As médias e erro-padrão dos dados descritos de cada grupo encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Média e erro-padrão dos parâmetros avaliados nos três grupos experimentais.

	Grupos experimentais			
	Salina	ALD1	ALD6	p-Valor ^a
Padrões de análise de imagem				
Diastema entre molares (mm)	0,20±0,03	0,15±0,01	0,14±0,02*	0,048
Volume ósseo (mm ³)	0,23±0,03	0,25±0,07	0,22±0,02	0,918
Espessura média das trabéculas (mm)	0,15±0,01	0,14±0,01	0,14±0,01	0,648
Número de trabéculas	2,45±0,60	2,45±0,48	4,26±0,34*	0,033
Separação das trabéculas (mm)	0,17±0,02	0,15±0,01	0,11±0,01*	0,031
Área da polpa preenchida por vasos				
Lado não movimentado (%)	5,99±0,77	10,44±1,00*	13,68±1,35*	<0,001
Lado movimentado (%)	11,65±1,67	15,32±1,73	18,81±1,68*	0,021
p-Valor^b	0,007	0,026	0,028	

*p<0,05 versus Salina, ^aTeste ANOVA/Bonferroni; ^bTeste t de Student (média±EPM) (n=10/grupo).

6 DISCUSSÃO

Os bisfosfonatos são potentes supressores da atividade dos osteoclastos, aumentando a densidade mineral óssea e reduzindo o número de fraturas em pacientes com osteoporose e / ou osteopenia. Visto que as forças ortodônticas promovem eventos físicos e biológicos que são críticos na remodelação óssea, o uso dessas drogas pode influenciar a movimentação dentária (VENKATARAMANA *et al.*, 2014; SALAZAR *et al.* 2015; FRANZONI *et al.*, 2017; NAKAS *et al.*, 2017).

O modelo animal que tem sido mais utilizado para estudos com MDI é o realizado em molares de ratos (*Rattus norvegicus*) (KARRAS *et al.*, 2009; CHOI *et al.*, 2010; SIRISOONTORN *et al.*, 2012; KAIPATUR *et al.*, 2013; HASHIMOTO *et al.*, 2013; SALAZAR *et al.* 2015; FRANZONI *et al.*, 2017; NAKAS *et al.*, 2017), visto a facilidade para instalação do dispositivo nesses animais, a possibilidade de avaliação dos processos biológicos durante a movimentação e a interação com diversos fármacos (REN *et al.*, 2004). No presente estudo, optou-se pela utilização de ratos machos, corroborando com grande parte dos estudos anteriores (KARRAS *et al.*, 2009; FUJIMURA *et al.*, 2009; CHOI *et al.*, 2010; VENKATARAMANA *et al.*, 2014; FRANZONI *et al.*, 2017) considerando também que as alterações hormonais presentes nas fêmeas pudessem exercer algum tipo de influência nos resultados do estudo, e que os trabalhos prévios que utilizaram fêmeas realizaram a ovariectomia (SIRISOONTORN *et al.*, 2012; KAIPATUR *et al.*, 2013; HASHIMOTO *et al.*, 2013; SALAZAR *et al.*, 2015; FRANZONI *et al.*, 2017).

Quanto ao dispositivo para a indução da movimentação dentária nesse modelo animal, a maioria dos estudos têm utilizado uma mola fechada de NiTi presa com fio de amarrilho 0.008 polegadas ao primeiro molar e aos incisivos (KARRAS *et al.*, 2009; FUJIMURA *et al.*, 2009; CHOI *et al.*, 2010; SIRISOONTORN *et al.*, 2012; HASHIMOTO *et al.*, 2013; VENKATARAMANA *et al.*, 2014; SALAZAR *et al.* 2015; FRANZONI *et al.*, 2017), em consonância com o presente estudo. Porém, encontra-se também na literatura, a utilização de separadores elásticos entre os incisivos ou de mola fechada de NiTi presa ao primeiro molar e a um mini-implante próximo à região dos incisivos para indução da movimentação dentária (KAIPATUR *et al.*, 2013; NAKAS *et al.*, 2017).

A quantidade de força utilizada para movimentação ortodôntica em ratos variou entre 10 e 100 gF na literatura (KARRAS *et al.*, 2009; CHOI *et al.*, 2010; SIRISOONTORN *et al.*, 2012; KAIPATUR *et al.*, 2013; HASHIMOTO *et al.*, 2013; SALAZAR *et al.* 2015; FRANZONI *et al.*, 2017), observando-se, desse modo, a falta de padronização entre os autores quanto à intensidade de força considerada ideal para esse fim. Segundo a revisão sistemática de REN *et al.* (2004), de um total de 153 artigos que induziram a movimentação dentária em ratos, 20% utilizaram uma força menor que 20gF, 37% uma força entre 20-50 gF, 12% uma força entre 50-100 gF, 1% uma força maior que 100 gF e os 30% restantes não especificaram a quantidade de força utilizada. Também tem sido demonstrado que o uso de uma força de 10 a 50 gF promove uma maior quantidade de movimentação ortodôntica, enquanto forças excessivas levam a um decréscimo na quantificação desse processo (NAKANO *et al.*, 2014). Desse modo, optou-se no presente estudo pela utilização de uma força de 50 gF a partir do uso de uma mola fechada de NiTi, visando avaliar a quantidade de movimentação e o trabeculado ósseo, estando, assim, dentro da faixa recomendada na literatura.

Em relação ao tempo de movimentação ortodôntica realizada a partir do uso de uma mola de NiTi, também houve variação entre os estudos. Na pesquisa de Salazar *et al.* (2015) o tempo total foi de 07 dias, diferenciando-se dos estudos de Franzoni *et al.* (2017), Fujimura *et al.* (2009) e Hashimoto *et al.* (2013), em que os tempos foram de 10, 12 e 14 dias, respectivamente. Já em outros dois estudos, o tempo total foi de 28 dias (KARRAS *et al.*, 2009; SIRISOONTORN *et al.*, 2012). Na revisão sistemática realizada por REN *et al.* (2004), observou-se que 40% dos estudos utilizaram 7 dias ou menos, 31% de 7 a 14 dias; 18% de 14 a 28 dias, 1% mais que 28 dias e os 10% restantes não especificaram a quantidade de dias. Já no estudo de Choi *et al.* (2010) avaliou-se com 3, 6, 9, 12 e 15 dias, aplicando uma força de 60gF, e os autores constataram que a partir do 12º dia foi possível observar mudança na quantidade de movimentação dentária. No presente estudo optou-se por realizar a movimentação ortodôntica durante um total de 14 dias, corroborando, com a média de dias dos estudos prévios citados.

Em humanos, a dose comum utilizada de alendronato de sódio para tratamento da osteoporose é de 1mg/kg uma vez por semana, entretanto, ainda não há um consenso quanto à dose adequada para testes em animais (LANZA *et al.*,

2002; SALAZAR *et al.*, 2015). No presente estudo, optou-se por testar a mesma dose recomendada para adultos, e uma segunda dose próxima à utilizada no estudo de Karras *et al.* (2009), no qual também se optou pela via de gavagem. Em outros estudos, houve uma variação entre as doses aplicadas, de acordo com o tempo e as vias de administração adotadas. No estudo de Kaipatur *et al.* (2013), testou-se a dosagem de 0,015mg/kg, por via subcutânea, duas vezes na semana, por 28 dias. Já no estudo de Salazar *et al.* (2015) também se utilizou a via subcutânea nas dosagens de 1mg/kg e 2mg/kg duas vezes na semana por 3 meses, e no de Franzoni *et al.* (2017) a dose de 2,5mg/kg uma vez por dia, via subcutânea, por 35 dias.

Quanto ao peso dos animais, no presente estudo observou-se um aumento da massa corpórea ao final do experimento em todos os grupos avaliados, porém sem diferença estatisticamente significativa entre eles. Tal resultado corrobora com os achados de Kaipatur *et al.* (2013) e de Nakas *et al.* (2017), em que todos os animais também se mantiveram saudáveis, sem perda de peso ao longo do experimento. Provavelmente, tal resultado deve-se ao fato que os bisfosfonatos utilizados nesses estudos, com suas respectivas doses e vias de administração, não foram capazes de induzir uma gastrotoxicidade no animal. Outra hipótese relevante para a não perda de peso dos animais nos tempos avaliados foi que, os dispositivos utilizados para indução da movimentação dentária não apresentaram grande influência na alimentação dos ratos. Esses resultados também estão de acordo com os estudos de Lanza *et al.* (2002) e de Zografos *et al.* (2009), nos quais afirmam que, apesar de injúrias esofágicas estarem relacionadas ao tratamento com alendronato de sódio em humanos, não há um aumento significativo dessa incidência em pacientes usuários dessa droga, quando a mesma é administrada uma vez por semana.

Os resultados do presente estudo demonstraram uma redução na MDI (menor diastema entre molares) nos grupos que fizeram uso do alendronato de sódio quando comparados ao grupo controle, porém, apenas no grupo alendronato de sódio 6mg/kg essa diminuição foi estatisticamente significativa. Esses resultados corroboram com o estudo prévio de Karras *et al.* (2009) no qual houve movimentação ortodôntica significativamente menor no grupo tratado com alendronato de sódio 7mg/kg em relação ao grupo salina, considerando que a administração da droga foi realizada também por via gavagem durante um total de 5

semanas. Nos estudos de Salazar *et al.* (2015) e de Franzoni *et al.* (2017) também foi possível observar redução da movimentação ortodôntica nos grupos tratados com alendronato de sódio em dosagens mais baixas, de 1mg/kg e de 2,5mg/kg, respectivamente, em relação aos grupos controles. Entretanto, ambos os estudos utilizaram via de administração subcutânea, o que pode ter favorecido a ação da droga em dosagens menores, considerando que os mesmos utilizaram forças e tempos de movimentação próximos aos utilizados no presente estudo.

A redução da movimentação dentária parece estar relacionada ao mecanismo de ação dos bisfosfonatos nitrogenados, que atuam na inibição da reabsorção óssea, a partir do bloqueio da enzima farnezil pirofosfato sintase na via do mevalonato, interferindo na modificação pós-translacional de proteínas como as GTPases que regulam uma variedade de processos importantes para a função dos osteoclastos, incluindo a morfologia celular e a organização do citoesqueleto, sendo capazes de promoverem a apoptose dessas células (GHONEIMA *et al.*, 2010; BALLANTYNE *et al.*, 2014). Desse modo, uma redução na atividade dos osteoclastos, pode levar a uma movimentação dentária mais lenta ou em menor quantidade.

No presente estudo, não houve correlação estatisticamente significativa entre a quantidade de movimentação ortodôntica e o volume ósseo, bem como com a espessura das trabéculas ósseas na região de furca dos primeiros molares. Já no estudo de Hashimoto *et al.* (2013), observou-se uma significativa correlação inversamente proporcional entre o volume ósseo e a movimentação dentária induzida. Entretanto, cabe ressaltar que nesse estudo, utilizou-se o ácido zolendrônico e a análise microtomográfica do volume ósseo foi realizada na região de tíbia de ratas ovariectomizadas, diferentemente do presente estudo, no qual o volume ósseo foi analisado na mesma região em que se induziu a movimentação ortodôntica, região de furca, limitando, dessa forma, a comparação dos resultados em decorrência das diferentes metodologias.

Em relação ao número de trabéculas e à separação entre elas, observou-se no presente estudo, que no grupo alendronato de sódio 6mg/kg houve um número de trabéculas significativamente maior e uma separação entre elas significativamente menor em comparação com os demais grupos. Visto que, esse mesmo grupo apresentou uma menor quantidade de movimentação ortodôntica,

podemos sugerir que esses dois parâmetros avaliados dificultaram o movimento, considerando que, como o movimento ortodôntico é um fenômeno de grande remodelação óssea, quanto maior o número de trabéculas e menor a distância entre elas, mais difícil se tornará esse movimento, pelo aumento da densidade mineral conferida ao osso; resultado também demonstrado por RUSSEL *et al.*, 2008.

Esses resultados também estão de acordo com o recente estudo de Weeis *et al.* (2018), em que houve um maior número de trabéculas ósseas e um menor espaçamento entre elas, no grupo que recebeu alendronato de sódio na dosagem da 3mg/kg em comparação com o grupo salina, sem alterar o volume ósseo. Os autores sugerem que, como o alendronato inibe a atividade osteoclástica e promove a formação de osteoblastos a partir das células mesenquimais, a quantidade e a disposição das trabéculas ósseas estão diretamente ligadas à dosagem de administração do alendronato, em que, quanto maior a dose, maior a quantidade de trabéculas ósseas e menor o espaçamento entre elas. Apesar da análise do trabeculado ósseo ter sido realizada em região de fêmur, diferentemente do presente estudo, a explicação oferecida pelos autores relacionando os resultados obtidos com a dosagem do alendronato de sódio corrobora com os achados deste estudo.

Nenhum animal no presente estudo apresentou sinal de osteonecrose, corroborando com os estudos anteriores que utilizaram metodologias semelhantes (KARRAS *et al.*, 2009; FUJIMURA *et al.*, 2009; CHOI *et al.*, 2010; SIRISOONTORN *et al.*, 2012; KAIPATUR *et al.*, 2013; HASHIMOTO *et al.*, 2013; VENKATARAMANA *et al.*, 2014; SALAZAR *et al.*, 2015; NAKAS *et al.*, 2017; FRANZONI *et al.*, 2017).

Em geral, no presente estudo obsevou-se que os grupos que receberam o alendronato de sódio apresentaram maior área pulpar preenchida por vasos sanguíneos em relação ao grupo salina, em ambos os lados.

Apesar do estudo prévio de Evans and Oberbauer (2009) apontar que o uso de bisfosfonatos pode levar a uma diminuição da angionênese, a partir da redução nos níveis do VEGF, no estudo de Ferreti *et al.* (2005) observou-se um aumento desse fator angiogênico quando avaliado 7 dias após uma infusão de ácido zolendrônico em pacientes com metástases ósseas. Desse modo, embora haja diferenças na metodologia entre o estudo de Ferreti *et al.* e o presente estudo, há a possibilidade de o alendronato de sódio também ter levado a um aumento de VEGF,

considerando que, no nosso estudo a administração da medicação foi realizada por 5 semanas.

Ademais, outro estudo indicou que essas medicações podem aumentar a expressão de citocinas inflamatórias com algum potencial vasculogênico, como o TNF- α (BARROS SILVA *et al.*, 2017). Considerando então que no estudo de Barros Silva *et al.* (2017), observou-se um aumento de TNF- α na polpa dentária de ratos após administração de ácido zolendrônico, sendo esse aumento dose dependente e que Fajardo *et al.* (1992), Wang *et al.* (2017), Lim *et al.* (2017) e Jin *et al.* (2018) apontaram que determinadas doses de TNF- α estão relacionadas com o aumento da angiogênese, surge a hipótese de que o alendronato de sódio nas doses utilizadas no presente estudo pode estar associado a doses de TNF- α capazes de aumentar a área pulpar preenchida por vasos.

O estudo recente de Barros Silva *et al.* (2019) demonstrou que a administração de ácido zolendrônico em ratos levou a um aumento da expressão de OPG. Desse modo, considerando que a OPG pontencializa a produção de VEGF (ABU EL-ASRAR *et al.*, 2017), outra possibilidade para justificar nossos achados seria a de que o uso do alendronato de sódio em ratos também pode levar a um aumento na produção de vasos sanguíneos a partir dessa via.

Observou-se também no presente estudo, um aumento da área pulpar preenchida por vasos nos lados que receberam a movimentação ortodôntica quando comparada ao lado não movimentado em todos os grupos. Esses resultados corroboram com o estudo de Niklas *et al.* (2013) no qual afirmam que forças ortodônticas podem levar a mudanças vasculares na polpa dentária, como a vasodilatação, bem como com os estudos de Derringer and Linden (2003) (2004), em que os autores concluíram que há liberação de alguns fatores que regulam a angiogênese, entre eles o VEGF, após duas semanas de aplicação de força ortodôntica em pré-molares, a partir de uma avaliação em cultura.

Os achados do presente estudo destacam a importância na obtenção detalhada do histórico do uso de medicações atuais e anteriores, principalmente em idosos, com o intuito de avaliar as limitações no planejamento e tratamento dos pacientes ortodônticos. Assim, embora o esforço deste estudo em simular um cenário mais próximo ao clínico em humanos, os resultados obtidos com esse modelo animal devem ser interpretados com cautela. Dessa forma, faz-se

necessária a realização de novos estudos, objetivando elucidar melhor os efeitos dessas medicações na movimentação ortodôntica, bem como no trabeculado ósseo e na polpa dentária, a fim de desenvolver planos de tratamento que atinjam os resultados desejados, melhorando o prognóstico e evitando possíveis danos aos pacientes.

7 CONCLUSÃO

- Não houve mudança significativa de peso nos animais ao final do experimento.
- O grupo alendronato de sódio 6mg/kg foi capaz de diminuir significativamente a quantidade de movimentação ortodôntica no tempo analisado.
- O grupo alendronato de sódio 6mg/kg apresentou maior número de trabéculas ósseas em região de furca e um menor espaçamento entre elas.
- No lado não movimentado os grupos alendronato de sódio 1mg/kg e 6mg/kg apresentaram maior de área de polpa preenchida por vasos sanguíneos quando comparados ao grupo salina. Já no lado movimentado apenas o grupo alendronato de sódio 6mg/kg apresentou maior área de polpa preenchida por vasos em comparação com os demais grupos. Na comparação intragrupo, todos os grupos apresentaram quantidade de área da polpa preenchida por vasos sanguíneos maior no lado movimentado em relação ao lado não movimentado.

REFERÊNCIAS

ABU EL-ASRAR, A.; STRUYF, S.; MOHAMMAD, G.; GOUWY, M.; RYTINX, P.; SIDDIQUEI, M.M.; HERNANDEZ, C.; ALAM, K.; MOUSA, A.; DE HERTOOGH, G.; OPDENAKKER, G.; SIM, R. Osteoprotegerin Is a New Regulator of Inflammation and Angiogenesis in Proliferative Diabetic Retinopathy. **IOVS**, [s.l.], v.58, n.7, pp.3189-3201, jun. 2017.

ARAÚJO, A.S.; FERNANDES, A.B.N.; MACIEL, V.B.; NETTO, J.N.S.; BOLOGNESE, A.M. New methodology for evaluation osteoclastic activity induced by orthodontic load. **J Appl Oral Sci**, [s.l.], v.23, n.1, pp.19-25, set./out. 2015.

BACCARO, L.F.; CONDE, D.M.; COSTA-PAIVA, L.; PINTO-NETO, A.M. The epidemiology and management of postmenopausal osteoporosis: a viewpoint from Brazil. **Clinical Interventions in Aging**, [s.l.], v.10, pp.583-591.

BAIRD, E.; TAYLOR, G. X-ray micro computed tomography. **Current Biology**, [s.l.], v.27, pp.R283–R293, abr. 2017.

BALLANTYNE, E. Bisphosphonates: Possible modes of action and implications for dental implant treatment. A review of the literature. **J Gen Pract**, [s.l.], v.3, n.1, pp.1-28, jan./fev. 2015.

BARROS SILVA, P.G.; FERREIRA JUNIOR, A.E.C.; OLIVEIRA, C.C.; BRIZENO, L.A.C.; WONG, D.V.T.; LIMA JUNIOR, R.C.P.; SOUSA, F.B.; MOTA, M.R.L.; ALVES, A.P.N.N. Chronic treatment with zoledronic acid increases inflammatory markers in periodontium of rats. **J Oral Pathol Med**, [s.l.], pp.1–8, 2017.

BARROS SILVA, P.G.; FERREIRA JUNIOR, A.E.C.; OLIVEIRA, C.C.; LIMA VERDE, M.E.Q.; FREITAS, M.O.; SOUSA, F.B.; MOTA, M.R.L.; ALVES, A.P.N.N. Chronic treatment with zoledronic acid alters the expression levels of inflammatory, bone and apoptotic markers and toll-like receptors 2 and 4 in rat dental pulp. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, [s.l.], 2019. doi: 10.1016/j.oooo.2019.01.069

BARTZELA, T.; TÜRKP, J.C.; MOTSCHALL, E.; MALTHA, J.C. Medication effects on the rate of orthodontic tooth movement: A systematic literature review. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, [s.l.], v.135, pp.16-26, jan. 2009.

BLACK, D.M.; CUMMINGS, S.R.; KARPFF, D.B.; CAULEY, J.A.; THOMPSON, D.E.; NEVITT, M.C.; BAUER, D.C.; GENANT, H.K.; HASKELL, W.L.; MARCUS, R.; OTT, S.M.; TORNER, J.C.; QUANDT, S.A.; REISS, T.F.; ENSRUD, K.E. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. **Lancet**, [s.l.], v.348, pp.1535–1541, 1996.

BROWN, J.E.; NEVILLE-WEBBE, H.; COLEMAN, R.E. The role of bisphosphonates in breast and prostate cancers. **Endocrine-Related Cancer**, [s.l.], v.11, pp.207–224, 2004.

BYUN, J.; JANG, S.; LEE, S.; PARK, S.; YOON, H.K.; YOON, B.; HA, Y. The Efficacy of Bisphosphonates for Prevention of Osteoporotic Fracture: An Update Meta-analysis. **J Bone Metab**, [s.l.], v.24, pp.37-49, 2017.

CAPELOZZA FILHO, L.; BRAGA, S.A.; CAVASSAN, A.O.; OZAWA, T.O. Tratamento Ortodôntico em Adultos: uma Abordagem Direcionada. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**, Maringá, v. 6, n. 5, pp. 63-80, set./out. 2001.

CAMARGOS, M.C.S.; BOMFIM, W.C. Osteoporose e Expectativa de Vida Saudável: estimativas para o Brasil em 2008. **Cad. Saúde Colet.**, Rio de Janeiro, v.25, n.1, pp.106-112, 2017.

CHAPPARD, D.; RETAILLEAU-GABORIT, N.; LEGRAND, E.; BASLE, M.F.; AUDRAN, M. Comparison Insight Bone Measurements by Histomorphometry and μ CT. **J Bone Miner Res**, [s.l.], v.20, n.7, pp.1177-84, fev. 2005.

CHOI, J.; BAEK, S.H.; LEE, J.; CHANG, Y. Effects of clodronate on early alveolar bone remodeling and root resorption related to orthodontic forces: A histomorphometric analysis. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, Seoul, v.138, pp.548.e1-548.e8, jan. 2010.

COMPSTON, J. Pathophysiology of atypical femoral fractures and osteonecrosis of the jaw. **Osteoporos Int**, [s.l.], v.22, pp.2951–2961, 2011.

CONSOLARO, A. The use of bisphosphonates does not contraindicate orthodontic and other types of treatment! **Dental Press J Orthod**, [s.l.], v.19, n.4, pp.18-26, jul. 2014.

DERRINGER, K.A.; LINDEN, R.W.A. Angiogenic growth factors released in human dental pulp following orthodontic force. **Archives of Oral Biology**, [s.l.], v.48, pp.285-291, 2003.

DERRINGER, K.A.; LINDEN, R.W.A. Vascular endothelial growth factor, fibroblast growth factor 2, platelet derived growth factor and transforming growth factor beta released in human dental pulp following orthodontic force. **Archives of Oral Biology**, [s.l.], v.49, pp.631–641, 2004.

DUARTE, E.C.; BARRETO, S.M. Transição demográfica epidemiológica: a Epidemiologia e Serviços de Saúde revisita e atualiza o tema. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v.21, n.4, pp.529-532, out./dez. 2012.

EVANS, K.D.; OBERBAUE, A.M. Alendronate Inhibits VEGF Expression in Growth Plate Chondrocytes by Acting on the Mevalonate Pathway. **Open Orthop J**, [s.l.], v.3, pp.83-88, 2009.

FAJARDO, L.F.; KWAN, H.H.; KOWALSKI, J.; PRIONAS, S.; ALLISON, A.C. Dual Role of Tumor Necrosis Factor- α in Angiogenesis. **Am J Pathol**, [s.l.], v.140, n.3, pp.539-544, mar. 1992.

FANUSCU, M.I.; CHANG, T.L. Three-dimensional morphometric analysis of human cadaver bone: microstructural data from maxilla and mandible. **Clin. Oral Impl. Res**, [s.l.], v.15, pp.213–218, 2004.

FAVUS, M.J. Editorial: Diabetes and the Risk of Osteonecrosis of the Jaw. **J Clin Endocrinol Metab**, [s.l.], v.92, n.3, pp.817–818, mar. 2007.

FELSENBERG, D.; BOONEN, S. The Bone Quality Framework: Determinants of Bone Strength and Their Interrelationships, and Implications for Osteoporosis Management. **Clinical Therapeutics**, [s.l.], v.27, n.1, pp.1-11, jan. 2005.

FERRETI, G.; FABÍ, A.; CARLINI, P.; PAPALDO, P.; FEI, P.C.; COSIMO, S.D.; SALESI, N.; DIANNARELLI, D.; ALIMONTI, A.; DI COCCO, B.; D'AGOSTO, G.; BORDIGNON, V.; TRENTO, E.; COGNETTI, F. Zoledronic-Acid-Induced Circulating Level Modifications of Angiogenic Factors, Metalloproteinases and Proinflammatory Cytokines in Metastatic Breast Cancer Patients. **Oncology**, [s.l.], v.69, pp.35–43, 2005.

FRANZONI, J.S.; SOARES, F.M.P.; ZANIBONI, E.; VEDOVELHO FILHO, M.; SANTAMARIA, M.P.; DOS SANTOS, G.M.T.; ESQUISATTO, M.A.M.; FELONATO, M.; MENDONÇA, F.A.S.; FRANZINI, C.M.; SANTAMARIA JR, M. Zoledronic acid and alendronate sodium and the implications in orthodontic movement. **Orthod Craniofac Res**, [s.l.], pp.1-6, 2017. doi: 10.1111/ocr.12192

FREITAS, N.R.; LIMA, L.B.; MOURA, M.B.; GUEDES, C.C.F.V.; SIMAMOTO, J.R.; SIMAMOTO-JÚNIOR, P.C.; MAGALHÃES, D. Bisphosphonate treatment and dental implants: a systematic review. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, [s.l.], v.21, n.5, pp.644-651, set. 2016.

FUJIMURA, Y.; KITaura, H.; YOSHIMATSU, M.; EGUCHI, T.; KOHARA, H.; MORITA, Y.; YOSHIDA, N. Influence of bisphosphonates on orthodontic tooth movement in mice. **European Journal of Orthodontics**, [s.l.], v.31, pp.572–577, 2009.

GHONEIMA, A.A.; ALLAM, E.S.; ZUNT, S.L.; WINDSOR, L.J. Bisphosphonates treatment and orthodontic considerations. **Orthod Craniofac Res**, [s.l.], v.13, pp.1-10, 2010.

HASHIMOTO, M.; HOTOKEZAKA, H.; SIRISOONTORN, I.; NAKANO, T.; ARITA, K.; TANAKA, M.; YOSHIDA, N. The effect of bone morphometric changes on orthodontic tooth movement in an osteoporotic animal model. **Angle Orthod**, [s.l.], v.83, n.5, pp.766-773, fev. 2013.

JIN, F.; ZHENG, X.; YANG, Y.; YAO, G.; YE, L.; DOEPPNER, T.R.; HERMANN, D.M.; WANG, H.; DAI, Y. Impairment of hypoxia-induced angiogenesis by LDL involves a HIF-centered signaling network linking inflammatory TNF α and angiogenic VEGF. **Research Paper**, [s.l.], v.11, n.2, pp.328-349, 2018.

KAIPATUR, N.R.; WU, Y.; ADEEP, S.; STEVENSON, T.R.; MAJOR, P.W.; DOSCHAK, M.R. Impact of bisphosphonate drug burden in alveolar bone during orthodontic tooth movement in a rat model: a pilot study. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, [s.l.], v.144, n.4, pp.557-562, jun. 2013.

KARRAS, J.C.; MILLER, J.R.; HODGES, J.S.; BEYER, J.P.; LARSONE, B.E. Effect of alendronate on orthodontic tooth movement in rats. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, [s.l.], v.136, n.6, pp.843-847,dez. 2009.

KRIEGER, E.; JACOBS, C.; WALTER, C.; WEHRBEIN, H. Current state of orthodontic patients under Bisphosphonate therapy. **Head & Face Medicine**, [s.l.], v.9, n.10, pp.1-6, 2013.

KRISHNAN, S.; PANDIAN, S.; KUMAR, A. Effect of bisphosphonates on orthodontic tooth movement - an update. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, [s.l.], v.9, n.4, pp.ZE01-ZE05, abr. 2015.

KRISHNAN, V.; DAVIDOVITCH, Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, [s.l.], v.129, pp.469e.1-460e.32, 2006.

LANZA, F.; SAHBA, B.; SCHWARTZ, H.; WINOGRAD, S.; TOROSIS, J.; QUAN, H.; REYES, R.; MUSLINER, T.; DAIFOTIS, A.; LEUNG, A. The Upper GI Safety and Tolerability of Oral Alendronate at a Dose of 70 Milligrams Once Weekly: A Placebo-Controlled Endoscopy Study. **Am J Gastroenterol**, [s.l.], v.97, n.1, pp.58-64, 2002.

LEHENKARI, P.P.; KELLINSALMI, M.; NAPANKANGAS, J.P.; YLITALO, K.V.; MÖNKKÖNEN, J.; ROGERS, M.J.; AZHAYEV, A.; VAANANEN, H.K.; HASSINEN, I.E. Further Insight into Mechanism of Action of Clodronate: Inhibition of Mitochondrial ADP/ATP Translocase by a Nonhydrolyzable, Adenine-Containing Metabolite. **Mol Pharmacol**, [s.l.], v.62, n.5, pp.1255–1262, 2002.

LIM, J.C.; KO, K.I.; MATTOS, M.; FANG, M.; ZHANG, C.; FEINBERG, D.; SINDI, H.; LI, S.; ALBLOWI, J.; KAYAL, R.A.; EINHORN, T.A.; GERSTENFELD, L.; GRAVES, D. TNF α Contributes to Diabetes Impaired Angiogenesis in Fracture Healing. **Bone**, [s.l.], v.99, pp.26-38, jun. 2017.

LOKER, A.C.; ISFAHANI, S.; FAN, B.; SHEPHERD, A. Trends in osteoporosis and low bone mass in older US adults, 2005–2006 through 2013–2014. **Osteoporos Int**, [s.l.], v.28, n.6, pp.1979-1988, 2017.

LOTWALA, R.B.; GREENLEE, G.M.; OTT, S.M.; HALL, S.H.; HUANGE, G.J. Bisphosphonates as a risk factor for adverse orthodontic outcomes: A retrospective cohort study. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, [s.l.], v.142, pp.625-634, mai. 2012.

MALTAGLIATI, L.A.; MONTES, L.A.P. Análise dos fatores que motivam os pacientes adultos a buscarem o tratamento ortodôntico. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**, Maringá, v. 12, n. 6, pp. 54-60, nov./dez. 2007.

MARX, R.E. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. **J Oral Maxillofac Surg**, [s.l.], v.61, pp.1115-1118, 2003.

MULLER, R.; VAN CAMPENHOUT, H.; VAN DAMME, B.; VAN DER PERRE, G.; DEQUEKER, J.; HILDEBRAND, T.; Ruegsegger, P. Morphometric analysis of bone biopsies: Histology vs. μ CT. **Bone**, [s.l.], v.23, n.1, pp.59-66, jul. 1998.

NAKANO, T.; HOTOKEZAKA, H.; HASHIMOTO, M.; SIRISOONTORN, I.; ARITA, K.; KUROHAMA, T.; DARENDELILER, M.A.; YOSHIDA, N. Effects of different types of tooth movement and force magnitudes on the amount of tooth movement and root resorption in rats. **Angle Orthod**, [s.l.], v.84, n.6, pp.1079–1085, 2014.

NAKAS, E.; LAUC, T.; TIRO, A.; DZEMIDŽÉ, V.; ZUKANOVIC, A.; FRANIC, M.; IVKOVIC, V. Dose and time dependant effects of clodronate on orthodontic tooth movement. **Bosn J Basic Med Sci**, [s.l.], v.17, n.1, pp.23-28, 2017.

NIKLAS, A.; PROFF, P.; GOSAU, M.; RÖMER, P. The Role of Hypoxia in Orthodontic Tooth Movement. **Int J Dent**, [s.l.], v.2013, pp. 1-7, 2013.

OHNO, K.; MORI, K.; ORITA, M.; TAKEUCHI, M. Computational Insights into Binding of Bisphosphates to Farnesyl Pyrophosphate Synthase. **Current Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 18, n.2, pp.220-233, 2011.

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. **European Journal of Orthodontics**, [s.l.], v.26, n.5, pp. 483-490, 2004.

ROGERS, M.J. From molds and macrophages to mevalonate: a decade of progress in understanding the molecular mode of action of bisphosphonates. **Calcif Tissue Int**, [s.l.], v.75, pp.451-461, 2004.

ROSINI, S.; ROSINI, S.; BERTOLDI, I.; FREDIANI, B. Understanding bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw: uses and risks. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, [s.l.], v.19, pp.3309-3317, 2015.

RUSSEL, R.; WATTS, N.B.; EBETINO, F.H.; ROGERS, M.J. Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. **Osteoporos Int**, [s.l.], v.19, n.6, pp.733-759, 2008.

SALAZAR, M.; HERNANDES, L.; RAMOS, A.L.; SALAZAR, B.O.; MICHELETTI, K.R.; PARANHOS, L.R.; DE MENDONÇA, M.R.; CUOGHI, O.A. Effect of alendronate sodium on tooth movement in ovariectomized rats. **Arch Oral Biol**, [s.l.], v.60, n.5, pp.776-781, 2015.

SANTAMARIA JR, M.; MILAGRES, D.; STUANI, A.S.; STUANI, M.B.S.; RUELLAS, A.C.O. Initial changes in pulpal microvasculature during orthodontic tooth movement: a stereological study. **European Journal of Orthodontics**, [s.l.], v.28, pp.217–220, 2006.

SILVERMAN, S.L. Paget Disease of Bone Therapeutic Options. **J Clin Rheumatol**, [s.l.], v.14, n.5, pp.299–305, out. 2008.

SIRISOONTORN, I.; HOTOKEZAKA, H.; HASHIMOTO, M.; GONZALES, C.; LUPPANAPOENLARP, S.; DARENDELILER, M.A.; YOSHIDA, N. Orthodontic tooth movement and root resorption in ovariectomized rats treated by systemic administration of zoledronic acid. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, [s.l.], v.141, n.5, pp.563-573, 2012.

SHIMA, K.; TSUCHIYA, M.; OIZUMI, T.; TANAKO-YAMAMOTO, T.; SUGAWARA, S.; ENDO, Y. Inflammatory Effects of Nitrogen-Containing Bisphosphonates (N-BPs): Modulation by Non-N-BPs. **Biol Pharm Bull**, [s.l.], v.40, n.1, pp.25-33, 2017.

SVENSSON, H.K.; OLOFSSON, E.H.; KARLSSON, J.; HANSSON, T.; OLSSON, L.E. A painful, never ending story: older women's experiences of living with an osteoporotic vertebral compression fracture. **Osteoporos Int**, [s.l.], v.27, pp.1729–1736, 2016.

VENKATARAMANA, V.; CHIDAMBARAM, S.; VISHNUVARDHAN REDDY, B.; SOMA SHEKARA GOUD, E.V.; ARAFATH, M.; KRISHNAN, S. Impact of Bisphosphonate on Orthodontic tooth movement and osteoclastic count: **An Animal Study. Journal of International Oral Health**, [s.l.], v.6, n.2, pp.1-8, 2014.

VON BOHL, M.; KUIJPERS-JAGTMAN, A.M. Hyalinization during orthodontic tooth movement: a systematic review on tissue reactions. **European Journal of Orthodontics**, [s.l.], v.31, pp.30-16, 2009.

WANG, Y.; XU, J.; ZHANG, X.; WANG, C.; HUANG, Y.; DAI, K.; ZHANG, X. TNF- α -induced LRG1 promotes angiogenesis and mesenchymal stem cell migration in the subchondral bone during osteoarthritis. **Cell Death and Disease**, [s.l.], v.8, n.3, pp.e2715, 2017.

WEISS, S.G.; KUCHAR, G.O.; GERBER, J.T.; TIBONE, F.; STORRER, C.L.M.; CASAGRANDE, T.C.; GIOVANINI, A.F.; SCARIOT, R. Aledronate increases trabeculae expansivity. **World J Orthop**, [s.l.], v.9, n.19, pp.190-197, out. 2018.

ZOGRAFOS, G.N.; GEORGIADOU, D.; THOMAS, D.; KALTSAS, G.; DIGALAKIS, M.. Drug-induced esophagitis. **Diseases of the Esophagus**, [s.l.], v.22, pp.633-637, 2009.

ANEXO – Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais

CEUA INSTITUTO PARA DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO LTDA IPADE
CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS

Unichristus
 Centro Universitário Christus

Of. No. 039/17

Protocolo da CEUA: 039/17

Pesquisador Responsável: Prof. PHILLIPE NOGUEIRA BARBOSA ALENCAR

Título do Projeto: ANÁLISE MICROTOMOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DO EFEITO DO USO DO ALENDRONATO DE SÓDIO NA MOVIMENTAÇÃO ORTODÔNTICA EM RATOS.

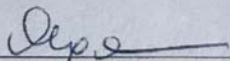
Levamos ao conhecimento de V. Sa que a Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA – IPADE considerou **APROVADO** o projeto supracitado na reunião do dia 24 (vinte e quatro) de agosto de 2017.

Descrição do animal utilizado:

Espécie:	Rattus norvegicus	Número Amostral:	30
----------	-------------------	------------------	----

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE ao término do estudo, período máximo 24/08/2018.

Fortaleza, 24 de agosto de 2017.


 Olga Vale Oliveira Machado
 Coordenadora
 CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE

Campus Bebedá
 R. da Brincadeira, 1520
 60115-000 - Fortaleza/CE
 Fone: 85 3254.6770 - 3254.6771

Campus D. João
 Rua Nelson de Almeida, 930
 60115-460 - Fortaleza/CE
 Fone: 85 3257.2529 - Fax: 85 3257.2797

Campus D. Luis
 Av. Dom Luís, 311
 60140-230 - Fortaleza/CE
 Fone: 85 3437.9320 - Fax: 85 3437.9324

Campus Parque Ecológico
 Rua João Batista Gonçalves, 182
 60102-245 - Fortaleza/CE
 Fone: 85 4260.8100 - Fax: 85 3165.0110