



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DETECÇÃO POR IMUNOHISTOQUÍMICA DE VEGF E FGF
BÁSICO NO LIGAMENTO PERIODONTAL DE RATOS
SUBMETIDOS À MOVIMENTAÇÃO ORTODÔNTICA

Milene de Freitas Lima Salomão

Salvador – Bahia

2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DETECÇÃO POR IMUNOHISTOQUÍMICA DE VEGF E FGF
BÁSICO NO LIGAMENTO PERIODONTAL DE RATOS
SUBMETIDOS À MOVIMENTAÇÃO ORTODÔNTICA

Milene de Freitas Lima Salomão

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ivana Lucia de Oliveira Nascimento
Co-Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sílvia Regina de Almeida Reis

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Imunologia.

Salvador – Bahia

2005

Biblioteca Prof. Penildon Silva – ICS- UFBA

S173 Salomão, Milene de Freitas Lima,

Detecção por imunohistoquímica de VEGF e FGF básico no ligamento periodontal de ratos submetidos à movimentação ortodôntica / **Milene de Freitas Lima Salomão – Salvador, 2005.**
83 f. ; il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Imunologia, 2005.

Orientadora: Profa. Dra. Ivana Lucia de Oliveira Nascimento.
Co-Orientadora: Profa. Dra. Sílvia Regina de Almeida Reis.

1. FGF básico. 2. VEGF. 3. Ligamento periodontal. 4. Imunohistoquímica.
5. Movimentação ortodôntica. I. Nascimento, Ivana Lucia de Oliveira. II. Reis, Sílvia Regina de Almeida. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 616-089.23



Milene de Freitas Lima Salomão

**DETECÇÃO POR IMUNOHISTOQUÍMICA DE VEGF E FGF
BÁSICO NO LIGAMENTO PERIODONTAL DE RATOS
SUBMETIDOS À MOVIMENTAÇÃO ORTODÔNTICA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Imunologia, Universidade Federal da Bahia, julgada e aprovada pela seguinte banca examinadora:

Dr. ^a Ivana Lucia de Oliveira Nascimento (Orientadora)

Mestre e Doutora em Imunologia pelo PPGIm

Professora de Imunologia do ICS / PPGIm – UFBA

Dr. ^a Paloma Dias da Silva Telles

Mestre e Doutora em Odontopediatria – USP / FOB

Professora Adjunta da FBDC - Bahia

Dr. Márcio Cajazeira Aguiar

Mestre em Odontologia, área de concentração em Estomatologia - UFBA

Professor Assistente Histologia ICS / PPGIm – UFBA

Salvador, 22 de Dezembro de 2005

Dedico este trabalho aos meus amados
Salomão, Clemilton, Marilene,
Igor e Victor.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado perseverança diante das dificuldades enfrentadas ao longo desses anos, as quais foram superadas, proporcionando crescimento.

Aos meus imensamente amados Salomão, Clemliton, Marilene, Igor, Victor, Tida, José de Freitas, Débora, Mariazinha, Salomão Filho e dona Armanda por terem acompanhado estes momentos com amor, paciência, carinho, compreensão, pelas palavras amigas nos momentos de sufoco e muita torcida para que tudo desse certo.

À querida Prof.^a Dr.^a Ivana Lucia Nascimento que em vários momentos foi muito mais que uma Orientadora. Obrigada pelo conhecimento compartilhado, orientação exemplar, envolvimento com o trabalho, dedicação, apoio e amizade. Expresso aqui meu profundo reconhecimento e eterna gratidão, carinho e admiração.

À Prof.^a Dr.^a Sílvia Regina de Almeida Reis, a quem tanto admiro, por aceitar a Co-Orientação deste trabalho. Registro aqui meu reconhecimento pela Professora que é e imensa gratidão por ter feito parte da minha história!

Ao Prof. Roberto Meyer, que exerce com maestria a chefia do Laboratório de Imunologia do Instituto de Ciências da Saúde, sempre preocupado com o bem comum, pela disponibilidade em tornar viável este trabalho permitindo a compra dos insumos necessários para a realização desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Moysés Sadigursky e Graça Vieira, Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Universitário Prof. Edgar Santos da UFBA, por tanta disponibilidade, carinho e dedicação que tiveram comigo no início deste trabalho, compartilhando conhecimento e aliviando minhas dúvidas.

Às Prof.^{as} Dr.^{as} Songelí Menezes Freire e Denise Lemaire pelo incentivo.

Ao Prof. Robert Schaer e Dr.^a Juçara Magalhães pela Coordenação das atividades do Laboratório de Imunologia do Instituto de Ciências da Saúde de forma tão eficiente.

À querida Prof.^a Dr.^a Lilia Moura-Costa pela alegre convivência e carinho ao longo desses anos.

À querida Prof.^a Dr.^a Vera Vale, de admirável competência, por me ajudar em momentos cruciais durante a execução do trabalho, mas, sobretudo, pela amizade que construímos.

Ao Prof. Dr. Emílio Castro Silva, chefe do Laboratório de Neurociências-UFBA, por ter cedido os animais utilizados neste experimento, além das instalações do laboratório para que os procedimentos fossem realizados.

Ao competente técnico Vanilson Silva pela sua competência, perseverança e criatividade durante a fase de obtenção da amostra.

Aos Professores Gúbio Campos e Sílvia Sardi por me permitirem a utilização do pHmetro durante todos os momentos que precisei.

Ao estagiário Luiz Miguel Barbosa por me ajudar durante a padronização da imunohistoquímica. Verdadeiramente obrigada.

Ao estagiário Marco da Costa Silva pela ajuda no preparo de soluções, mas também em trabalhos que poucos teriam paciência e dedicação em realizá-los. Muito obrigada.

À Sr.^a Dilcéia Reis, secretária do PPGIm, pela atenção e dedicação às suas atribuições, nos facilitando a jornada.

Ao querido Bruno Paule que nos iluminava com suas boas idéias, comentários oportunos e amizade verdadeira.

Aos amigos e colegas que me proporcionaram momentos alegres e me incentivaram nas horas difíceis: Soraia Trindade, Lívia Pugliese, Renato Carminati, Robson Cerqueira, Márcia Brandão, Paulo Juiz, Josilene Lima, Ana Paula, Andréia Pacheco, Daniela, Darci Carvalho. Agradeço o carinho e amizade que construímos.

Aos funcionários do Laboratório de Imunologia pelo apoio, colaboração e companhia: Sr.^a Mariluce, Sr. Raimundo, Sr. Vivaldo Nascimento, Michele Marques, Sr.^a Clara Vilas Boas, Sr. Osmundo Cavalcante, Sr.^a Francisca Santos e todos os demais.

As minhas amigas de longa data que acompanharam esta trajetória: Dr.^a Mailu Barros e Dr.^a Gabriela Ramos.

Ao meu querido e admirável Prof. Dr. Antônio Nilton Leite, um verdadeiro mestre, Coordenador do curso de Especialização em Ortodontia e Ortopedia Facial da ABO-BA, que vibra e torce pelo crescimento de seus alunos. E aos meus colegas que muito me ajudaram: Dr.^a Suelane Silva, Dr.^a Fátima Cabral, Dr.^a Karina Neves, Dr. Cláudio Bonfim.

Aos amigos, colegas e funcionários do Conselho Regional de Odontologia da Bahia que compreenderam a minha ausência nas últimas atividades e que torceram por essa conquista. Em especial: Dr. Paulo Ribeiro, Dr.^a Cátia Guanaes, Dr. Mário Queiroz, Dr. Rogério Brandão, Dr. Antônio Falcão, Dr. Antônio Geraldo, Dr. Allan carvalho e Sr.^a Rosa.

Aos meus colegas de trabalho, a quem tanto tenho que agradecer pela ajuda em momentos que precisei: Dr.^a Alena Medrado, Dr.^a Newmara Nunes, Dr.^a Cláudia Santana, Dr.^a Cristiana Libório e Dr.^a Suzane Campos.

Aos meus alunos, pacientes e todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para que essa dissertação fosse concluída, meus sinceros agradecimentos.

“Aqueles apaixonados pela prática sem a ciência são iguais ao piloto que navega sem leme ou bússola e nunca tem certeza para onde vai. A prática deve estar sempre baseada em um perfeito conhecimento da teoria”.

(Leonardo da Vinci)

CONSIDERAÇÕES

A realização deste trabalho foi possível pela colaboração entre o Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular da Universidade Federal da Bahia e o Programa de Pós-graduação em Imunologia. Durante este período, foram apresentados em eventos científicos e/ou publicados os seguintes trabalhos:

- Salomão, M.; Reis, S.R.; Freire, S.M.; Nascimento, I. “Expressão de FGF básico em ligamento periodontal de ratos submetidos à movimentação ortodôntica”. Congresso Brasileiro de Periodontologia (CONBRAPE) de 17 a 20 de abril de 2005, obtendo o primeiro lugar.
- Salomão, M.; Reis, S.R.; Freire, S.; Nascimento, I. “Detecção por imunohistoquímica de VEGF e FGF básico no tecido periodontal de ratos submetidos à movimentação ortodôntica”. ICS/PPGIm em Novembro de 2004.
- Nascimento, I.; Salomão, M.; Schaer, R.; Lemaire, D.; Freire, S.; Vale, V.; Paule, B.; Lessa, G.; Schaer, B.; Meyer, R. “Vascular endothelial growth factor (VEGF): a potential tumor marker in ascites from different etiologies”. XXIX Meeting of Brazilian Society of Immunology de 4 a 7 de outubro de 2004.
- Nascimento, I.; Salomão, M.; I.; Schaer, R.; Lemaire, D.; Freire, S.; Vale, V.; Paule, B.; Lessa, G.; Carvalho, G.; Helenemarie, B.; Meyer, R. “VEGF, melhor marcador do que CA125 para malignidade em Ascite?”. Revista da Sociedade Brasileira de Cancerologia, 2005; 30(7):68-75.
- Nascimento, I.; Salomão, M.; I.; Schaer, R.; Lemaire, D.; Freire, S.; Vale, V.; Paule, B.; Lessa, G.; Barbosa, H.; Meyer, R. “Evaluating angiogenic cytokines VEGF, basic FGF and TGF- β 1 as tumor markers in ascites”. Tumor Biology and Human Genetics, 2005.

Artigo a ser publicado:

- Salomão, M.; Reis, S.R.; Freire, S.; Barbosa, M.; Meyer, R.; Nascimento, I. “Detecção por imunohistoquímica de VEGF e FGF básico no tecido periodontal de ratos submetidos à movimentação ortodôntica”. American Journal Orthodontic.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS
LISTA DE TABELAS
LISTA DE FIGURAS
RESUMO
ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1 Aspectos gerais angiogênese.....	19
2.2 Fenômenos biológico na movimentação ortodôntica.....	22
2.2.1 Remodelação óssea.....	22
2.2.2 O ligamento periodontal.....	25
2.2.3 A reação inflamatória.....	28
2.2.4 As alterações vasculares.....	30
2.2.5 FGF básico (Fator de Crescimento Fibroblástico básico)	31
2.2.6 VEGF (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)	33
3. OBJETIVOS.....	35
4. MATERIAL E MÉTODO.....	36
4.1 Seleção da amostra.....	36
4.2 Distribuição da amostra.....	36
4.3 Preparo do aparelho.....	37
4.4 Anestesia dos animais.....	37
4.5 Instalação e ativação dos aparelhos.....	37
4.6 Eutanásia dos animais, obtenção e preparo dos espécimes.....	38
4.7 Processamento histotécnico das peças cirúrgicas.....	39
4.8 Imunohistoquímica.....	39
4.9 Análise microscópica e morfometria.....	40
4.10 Análise estatística.....	41
5. RESULTADOS.....	42
5.1 Descrição histológica.....	42
5.1.2 Grupos controle.....	43
5.1.2 Grupos experimentais.....	44
5.2 Imunohistoquímica e morfometria.....	46
5.2.1 FGF básico.....	47
5.2.2 VEGF.....	48
6. DISCUSSÃO.....	66
7. CONCLUSÕES.....	75
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DAB – Diaminobenzidina

EGF – Fator de crescimento epitelial (*Epithelial Growth Factor*)

EDTA - Etilenodiaminotetracetatodissódico

FGF – Fator de crescimento de fibroblasto (*Fibroblast Growth Factor*)

FGFR – Receptor de fator de crescimento de fibroblasto (*Fibroblast Growth Factor Receptor*)

HE – Coloração hematoxilina-eosina.

IFN – Interferon (*Interferon*)

IFN-gama – Interferon gama (*Interferon-gamma*)

IGF – Fator de crescimento tipo insulina (Insulin-like Growth Factor)

IL – Interleucina (*Interleukin*)

LP – Ligamento periodontal

1MS – Primeiro molar superior

P – Lado de pressão

PIGF – Fator de crescimento de placenta (*Placenta Growth Factor*)

PDGF – Fator de crescimento derivado de plaquetas (*Platelet-derived Growth Factor*)

T – Lado de tensão

TGF – Fator transformador de crescimento (*Transforming Growth Factor*)

TNF – Fator de necrose tumoral (*Tumor Necrosis Factor*)

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

VEGFR – Receptor de fator de crescimento endotelial vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

VPF – Fator de permeabilidade vascular (*Vascular Permeability Factor*)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Percentual de FGF básico e VEGF nos lados de pressão e tensão.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Desenho esquemático do aparelho proposto por Heller e Nanda (1979) e foto do aparelho posicionado na maxila do rato ligando o incisivo e o primeiro molar superior direito. **38**
- Figura 2** – Representação esquemática das áreas periodontais correspondentes às áreas demarcadas para análise microscópica e morfométrica. **40**
- Figura 3-** Gráfico do percentual de expressão de FGF básico nos lados de tensão e pressão e controle. **50**
- Figura 4-** Gráfico do percentual de expressão de VEGF básico nos lados de tensão e pressão e controle. **50**
- Figura 5-** Secções de 1MS esquerdo e direito de rato em HE, evidenciando o ligamento periodontal dos lados de pressão e tensão e controle com três dias de observação. **51**
- Figura 6-** Secções de 1MS esquerdo e direito de rato em HE (três dias), evidenciando detalhes dos lados de tensão e pressão e controle. **52**
- Figura 7-** Secções de 1MS esquerdo de rato não submetido à movimentação ortodôntica evidenciando a expressão basal no ligamento periodontal de FGF básico e VEGF detectada por imunohistoquímica. **53**
- Figura 8-** Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica (três dias), evidenciando a expressão de FGF básico e VEGF detectada por imunohistoquímica no lado de tensão. **54**
- Figura 9-** Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica (três dias), evidenciando a expressão de FGF básico e VEGF detectada por imunohistoquímica no lado de pressão. **55**
- Figura 10-** Secções de 1MS direito de rato em HE (sete dias), evidenciando o ligamento periodontal dos lados de pressão e tensão. **56**
- Figura 11-** Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica (sete dias), evidenciando a expressão de FGF básico e VEGF detectada por imunohistoquímica no lado de tensão. **57**
- Figura 12-** Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica (sete dias), evidenciando a expressão de FGF básico e VEGF detectada por imunohistoquímica no lado de pressão. **58**
- Figura 13-** Secções de 1MS direito de rato em HE (catorze dias), evidenciando o ligamento periodontal dos lados de pressão e tensão e controle. **59**
- Figura 14-** Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica (catorze dias), evidenciando a expressão de FGF básico e VEGF detectada por imunohistoquímica no lado de tensão. **60**
- Figura 15-** Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica (catorze dias), evidenciando em detalhe a expressão de FGF básico e VEGF detectada por fibroblastos. **61**

Figura 16- Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica (catorze dias), evidenciando a expressão de FGF básico e VEGF detectada por imunohistoquímica no lado de pressão. **62**

Figura 17- Secções de 1MS direito de rato submetido à aplicação de força ortodôntica evidenciando a expressão de FGF básico e VEGF detectada por imunohistoquímica em osteoblastos. **63**

Figura 18- Secções de 1MS direito de rato submetido à aplicação de força ortodôntica evidenciando a expressão de FGF básico e VEGF detectada por imunohistoquímica em odontoblastos. **64**

Figura 19- Secções de 1MS direito de rato submetido à aplicação de força ortodôntica evidenciando região de vasos e detalhando a expressão de FGF básico e VEGF detectada por imunohistoquímica em células endoteliais. **65**

RESUMO

A Ortodontia é a única especialidade da Odontologia que utiliza o processo inflamatório como um meio de solucionar problemas estéticos e funcionais. A remodelação e o metabolismo ósseo, associado ao processo de movimentação dentária induzida pela aplicação de força ortodôntica, são regulados por muitos fatores de crescimento locais e sistêmicos. Durante a aplicação de força ortodôntica, a movimentação dentária é prejudicada pela presença de áreas hialinas as quais são removidas quando corre uma adequada neovascularização. Visto que, o desenvolvimento da angiogênese na movimentação dentária é incompletamente entendido, neste trabalho foi avaliada a expressão de duas citocinas angiogênicas - FGF básico e VEGF (basic Fibroblastic Growth Factor e Vascular Endothelial Growth Factor) - por células do ligamento periodontal de ratos submetidos à movimentação ortodôntica. A amostra constituiu-se de 18 ratos, utilizando-se como controle o primeiro molar do lado não movimentado e no contralateral, primeiro molar direito, foi aplicada 50g de força ortodôntica. Observaram-se alterações significativas na expressão das citocinas estudadas, decorridos três, sete e catorze dias de movimentação. Encontrou-se expressão aumentada de FGF básico e VEGF no lado movimentado em relação ao controle ($P < 0,05$). Diferenças estatisticamente significantes foram vistas também entre as áreas de tensão e pressão. Os resultados sugerem que a reorganização do ligamento periodontal submetido à aplicação de força ortodôntica pode sofrer grande influência dos fatores de crescimento estudados.

Palavras-chave: Angiogênese, VEGF, FGF básico, movimentação ortodôntica, ligamento periodontal.

ABSTRACT

Orthodontics, an odontological speciality, uses inflammatory events in order to solve functional and esthetical alterations. Changes in bone metabolism and remodeling, occurring during teeth movement by orthodontical treatment, are regulated by several growth factors. Teeth under this type of treatment can not move unless necrotic hyalin areas are removed. In order for this to occur neovascularization is necessary. As angiogenesis development in orthodontic movement is not well known, in this work two angiogenic cytokines - VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) and basic FGF (basic Fibroblast Growth Factor) – expression by periodontal cells are studied. An orthodontic strength of 50g was applied on the first molar of 18 male rats and the counter-side first molar used as control. VEGF and basic FGF expression were studied, using immunohistochemistry, in samples tissue collected on 3rd, 7th and 14th days after the 50g strength were applied. Histological and morfometric analysis showed a higher expression of both VEGF and basic FGF in the experiment side than in control side ($P<0,05$) on the day evaluated. Statistical significant differences between tension and pressing areas were also found. The results suggest that these two cytokines have an important role on changes that occur in periodontal tissue during orthodontic movement.

Keywords: Angiogenesis, VEGF, basic FGF, tooth movement, periodontal ligament.

1. INTRODUÇÃO

O movimento dentário é a base do tratamento ortodôntico. De acordo com Moyers (1991), o aparelho ortodôntico é um sistema que armazena e libera forças sobre os dentes, músculos ou ossos, criando uma reação dentro do ligamento periodontal e no osso alveolar, provocando movimentação dentária, alterando a morfologia óssea ou seu crescimento. A forma como o tecido ósseo responde a aplicação de forças nestes casos específicos ainda é incompletamente compreendido.

A movimentação ortodôntica é induzida por aplicação de estímulos mecânicos e facilitada pela remodelação do ligamento periodontal e osso alveolar. Uma condição imprescindível para que estes fenômenos ocorram e que o dente seja deslocado, é a reação inflamatória local. Eventos vasculares e celulares participam de todo este processo. A presença de fatores de crescimento e mediadores inflamatórios é demonstrada em todo tecido periodontal de inserção (VANDEVSKA-RADUNOVIC, 1999).

Stutzmann, Petrovic e Shaye (1980) constataram que o sistema vascular é necessário para suprir as células indiferenciadas que são em parte responsáveis pelas mudanças de reconstrução. Um suprimento abundante de sangue é visto nos locais de rápida reabsorção e aposição óssea (RYGH *et al.*, 1986).

Mecanismos imunológicos desempenham um papel fundamental no processo de reabsorção normal e patológica de tecidos calcificados (COCCIA *et al.*, 1980; BERTOLINI *et al.*, 1986). O exsudato inflamatório gerado pela movimentação ortodôntica apresenta mediadores de origem plasmática (fibrina, plasmina, cininas, imunoglobulinas e proteínas do sistema complemento), assim como mediadores originados de células teciduais residentes e inflamatórias, tais como prostaglandinas

(PGE2), leucotrienos, citocinas, fator de necrose tumoral (TNF), fatores de crescimento (EGF, PGDF, fator ativador de fibroblastos) (DAVIDOVITCH, 1991). A aplicação de uma força ortodôntica sobre uma unidade dentária gera um estado de hipóxia local. O estresse funcional metabólico gerado nas células constituintes do ligamento periodontal - fibroblastos, cementoblastos, osteoblastos e clastos - promove modificação ambiental, alterações bioquímicas no colágeno e estabelece a formação de áreas hialinas (RAMALHO, BOZZO, 1990).

A movimentação dentária induzida é um processo biológico múltiplo caracterizado por reações seqüenciais do tecido periodontal em resposta às forças biomecânicas. As modificações teciduais induzidas estão relacionadas à sua remodelação por ativação da reabsorção óssea alveolar no lado de pressão e conseqüente aposição óssea no lado de tensão. Os estímulos gerados em resposta ao estresse mecânico durante a movimentação dentária induzida suscitam alterações teciduais que em conjunto com a ativação dos mediadores químicos resultam em nova condição homeostática do periodonto, que são hialinização, remodelação e reabsorção (STUTZMANN, PETROVIC e SHAYE, 1980).

Quando a força aplicada contra o dente é de intensidade suficiente para ocluir totalmente os vasos e interromper o suprimento sangüíneo, antes do aparecimento normal de osteoclastos, uma necrose estéril é produzida na área. Por causa do seu aspecto acelular e avascular, essa região é tradicionalmente chamada de hialinizada (PROFFIT, 2002). A hialinização que ocorre nas zonas de pressão do ligamento periodontal, durante a fase inicial do movimento ortodôntico, parece ser clinicamente inevitável (RYGH, 1957; REITAN, 1960). Estudos experimentais em ratos demonstraram avançadas trocas vasculares (REITAN, 1960; LILJA, LINDSKOG e HAMMARSTRÖM, 1981) e celulares (RYGH, 1972; LILJA, LINDSKOG e HAMMARSTRÖM, 1983) no periodonto após algumas horas de força aplicada. O

movimento dentário induzido por força ortodôntica não ocorre até que o osso alveolar seja reabsorvido, que o tecido hialinizado seja removido e o ligamento periodontal restabelecido (RYGH, 1995).

A expressão dos fatores de crescimento de ação angiogênica, FGF básico e VEGF, no ligamento periodontal ainda não é completamente compreendida na área da Ortodontia. O FGF básico e o VEGF foram selecionados neste estudo devido ao papel desempenhado na angiogênese, vasculogênese e formação de matriz colágena, todos os quais são críticos para a reorganização do tecido periodontal durante a movimentação ortodôntica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da angiogênese

O processo angiogênico envolve todos os mecanismos de formação de capilares a partir de vasos já existentes (HERTIG, 1935). É de importância fundamental na embriogênese e é o principal processo pelo qual órgãos se tornam vascularizados. Em tecidos adultos é um fenômeno transitório, altamente regulado, associado a situações fisiológicas específicas como ciclo reprodutivo ou processos de reparo (PLATE *et al.*, 1994).

Esse processo pode ser a causa básica ou coadjuvante de inúmeros fenômenos patológicos. O aumento da vascularização leva à cura das feridas, acelera a integração dos enxertos e assegura um novo fluxo sanguíneo para áreas de insuficiência vascular. Do mesmo modo, a inibição da angiogênese pode levar à regressão de tumores e de metástases, além da diminuição da intensidade de fenômenos imunomediadores e inflamatórios (AUERBACH *et al.*, 1991).

O mecanismo básico da angiogênese passaria pelo entendimento de como as células endoteliais, normalmente quiescentes, em determinado momento são capazes de adquirir um fenótipo angiogênico. Os capilares sanguíneos são constituídos por células endoteliais e pericitos, os quais contêm informações genéticas para a formação de tubos, ramificações e redes capilares (FOLKMAN, SHING, 1992). Em condições fisiológicas os pericitos mantêm a célula endotelial quiescente e evitam sua proliferação (ORLIDGE, D'AMORE, 1986).

Os fatores de crescimento angiogênicos compreendem uma série de moléculas de natureza peptídica, que diferem entre si por suas propriedades bioquímicas e biológicas. De modo geral atuam diretamente nas células endoteliais

estimulando sua locomoção e proliferação ou, indiretamente, induzindo a liberação de outros fatores de crescimento, estes sim, com ação direta sobre as células endoteliais (NABEL *et al.*, 1993). Alguns apresentam atividade exclusivamente angiogênica, como o VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) e outros exercem atividade pleiotrópica, como o FGF básico (basic Fibroblastic Growth Factor). Vários deles, como, por exemplo, os próprios VEGF e o FGF básico, parecem atuar sinergicamente (PEPPER *et al.*, 1992).

Em 1995, Folkman propõe um novo paradigma: o desencadeamento do fenótipo angiogênico seria dependente do equilíbrio entre fatores positivos, como VEGF e FGF básico, e negativos. Embora para o crescimento de novos vasos sejam primordiais os fatores positivos, eles parecem não ser suficientes e devem ser acompanhados da queda de fatores inibidores (FOLKMAN, 1995). A descoberta de reguladores negativos da angiogênese, como a IL-12 (VOEST *et al.*, 1995; MAJEWSKI *et al.*, 1996), e de antagonistas do estrógeno (GAGLIARDI, 1996) reforça esse novo conceito.

A angiogênese é essencial tanto para a fisiologia óssea normal quanto patológica. O processo de desenvolvimento ósseo e reparo dependem da adequada formação de novos capilares na área afetada a partir dos vasos sangüíneos existentes. Brogi, Wu e Namaki (1994) demonstraram que o estado de hipóxia vascular humana em células musculares lisas promoveu um aumento na expressão de VEGF. A expressão de VEGF em osteoblastos e em células semelhantes aumenta através da ação de várias citocinas e fatores de crescimento, incluindo a PGE2 e PGE1, fator de crescimento like insulina (IGF), fator de crescimento derivado de plaquetas e 1- α -dihidroxitamina D3 (HARADA *et al.*, 1994; WANG *et al.*, 1996; GOED *et al.*, 1998).

Desde 1975, Reitan observou que a formação de uma área hialina dentro do espaço do LP inibe o movimento dentário, até que a vascularização seja restabelecida no local e o tecido necrótico seja removido. Em condições experimentais altamente controladas, unidades dentárias podem ser movimentadas com aplicações mínimas de força, sem que com isso haja a formação de áreas hialinas (RYGH *et al.*, 1986). Porém, com ou sem hialinização haverá a real necessidade de formação de novos vasos sanguíneos que acompanharão a reabsorção óssea alveolar.

Citocinas, proteínas que atuam como sinalizadores entre as células do sistema imune, são produzidas durante a ativação do sistema imunológico e usualmente atuam localmente, embora existam algumas que desempenham ação sistêmica. Várias citocinas têm recebido muita atenção devido à sua capacidade de regular várias funções celulares do ligamento periodontal. Dessa forma, fatores de crescimento desempenham um papel fundamental na regeneração periodontal. O FGF básico é um fator de crescimento polipeptídico que desempenha importante papel na quimiotaxia e mitogênese das células do ligamento periodontal (PALMON *et al.*, 2001), acelerando processos regenerativos (TERRANOVA *et al.*, 1989; TAKAYAMA *et al.*, 1997; TAKAYAMA *et al.*, 1998; MURAKAMI *et al.*, 1999).

2.2 Fenômenos biológicos na movimentação ortodôntica

Conhecer os fundamentos biológicos da movimentação dentária induzida facilita a compreensão das variáveis clínicas encontradas frente a mecânicas ortodônticas semelhantes. A biologia da movimentação dentária compreende o estudo dos fenômenos celulares, bioquímicos e moleculares que ocorrem no ligamento periodontal e do osso alveolar, nesta circunstância muito especial, que é o tratamento ortodôntico.

2.2.1 Remodelação óssea

O tratamento ortodôntico é baseado no princípio de que, se uma pressão prolongada é aplicada a um dente, ocorrerá movimentação dentária à medida que ocorre a remodelação óssea ao redor do mesmo. O osso é seletivamente removido em algumas áreas e adicionado em outras, enquanto o dente se move carregando os tecidos de sustentação (PROFFIT, 2002). Todavia, para Stains e Civitelli (2005), a remodelação óssea é mais complexa do que apenas absorver e adicionar; é um processo dinâmico que necessita de atividades celulares coordenadas entre osteoblastos, osteócitos e osteoclastos para que se mantenha a homeostasia do tecido mineral.

De acordo com Graber (2000), a movimentação ortodôntica resulta numa rápida formação de um osso relativamente imaturo, sendo que, somente no período de contenção do tratamento, o remodelamento e o amadurecimento desse osso são procedidos. Segundo Interlandi (2002), as unidades de reabsorção ou ósteo-remodelação são um conjunto caracterizado pelos clastos, sob o comando de osteoblastos e auxiliados pelos macrófagos. Nessas unidades, ressalta-se o

microambiente ácido, totalmente isolado do meio tecidual e proporcionado pela interface de borda ativa ou em escova dos clastos e a superfície óssea em reabsorção.

Durante sua remodelação, o tecido ósseo passa por diversas fases, podendo ser dividido em: 1) osso trabeculado – é relativamente fraco, desorganizado e pouco mineralizado. Geralmente é o primeiro osso formado na resposta à força ortodôntica; 2) Osso lamelar – é resistente, altamente organizado e bem mineralizado. A formação completa de um osso lamelar resistente não está concluída até um ano depois de completado o tratamento ortodôntico; 3) Osso composto – é formado pela deposição de osso lamelar dentro de um emaranhado de trabéculas ósseas. É um importante tipo intermediário de osso na resposta fisiológica à força ortodôntica; 4) Osso fasciculado – é uma adaptação funcional da estrutura lamelar para permitir unir tendões e ligamentos. Camadas distintas de osso fasciculado são geralmente vistas adjacentes ao ligamento periodontal (GRABER, 2000).

Para Proffit (2002), a remodelação óssea pode ser explicada pela teoria da pressão-tensão, na qual uma alteração no fluxo sanguíneo do ligamento periodontal é produzida pela movimentação do dente no alvéolo. A passagem de sangue diminui onde o ligamento é comprimido e é mantida ou aumentada onde é tensionado, produzindo modificações locais nos níveis de oxigênio. Essas mudanças químicas, agindo diretamente, ou por estímulo da liberação de outros agentes ativos biologicamente, poderiam estimular a diferenciação e a atividade celular.

Segundo Ferreira (2002), as alterações locais decorrentes da movimentação ortodôntica estimulam a saída de monócitos do interior dos vasos sanguíneos. A fusão desses monócitos resulta em células multinucleadas conhecidas por osteoclastos e responsáveis pela reabsorção da cortical alveolar. Por outro lado, Rody *et al.* (2001) explicam que os osteoclastos no ligamento periodontal originam-

se da fusão de pré-osteoclastos da medula óssea, ao invés de células locais. A medula óssea alveolar teria um importante papel na formação de osteoclastos durante o movimento ortodôntico.

Para Interlandi (2002), em função do pH ácido resultante do exsudato formado durante a movimentação ortodôntica, as células clásticas chegam ao local e instalam-se na superfície óssea promovendo sua reabsorção. Akisaka (2003) afirma que a adesão dos osteoclastos à matriz óssea depende, sobretudo, da formação de podossomos, estruturas resultantes da ação da actina do citoesqueleto e de outras proteínas associadas.

Entretanto, na face oposta onde existe distensão dos ligamentos, o estímulo promoverá a diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos e fibroblastos - formadores de tecido ósseo e fibras colágenas, respectivamente. Em torno de dois dias após a aplicação da força, as modificações locais irão permitir que os osteoclastos e os osteoblastos iniciem o processo de remodelação óssea, com aposição no lado onde há tensão e reabsorção na face em compressão (FERREIRA, 2002).

Xing e Boyce (2005) afirmam que o tamanho das populações de osteoclastos e osteoblastos em um determinado momento pode ser determinado pelo equilíbrio entre proliferação, diferenciação e apoptose, as quais são reguladas constantemente por sinais de células adjacentes, hormônios e da matriz óssea.

Mundy e Bonewald (1992) *apud* Graber (2000) afirmam que a remodelação mobiliza e deposita cálcio por eventos intercalados de reabsorção e formação. Acredita-se que os osteoblastos, osteoclastos e, possivelmente, seus precursores comunicam-se via mensagens químicas.

A remodelação do osso próximo ao local hialinizado deve ser efetuada por células derivadas de regiões adjacentes não danificadas. Como os osteoclastos

iniciam um ataque imediatamente abaixo da área necrótica, esse processo é descrito com uma reabsorção solapante (PROFFIT, 2002).

2.2.2 O ligamento periodontal

Desde que Sandstedt, em 1904, *apud* Heller e Nanda (1979), relatou as alterações periodontais de cães durante a movimentação dentária, este tema tem sido discutido por diversos autores. Sandstedt percebeu que a aplicação de força sobre os dentes gerava intensas alterações celulares no ligamento periodontal (KOHNO *et al.*, 2002).

Na primeira metade do século XX, já existia a preocupação sobre o mecanismo de atuação e desencadeamento da força aplicada sobre a coroa dentária. A teoria pressão-tensão baseava-se na vitalidade do ligamento periodontal, ou seja, o estímulo exercido sobre o ligamento não envolvia ou requeria estímulo advindo de outra estrutura, por exemplo, o osso alveolar. As fibras colágenas e o sistema vascular eram essenciais para esse sistema (SANDSTEDT, 1904; HELLER, NANDA, 1979). Outra teoria baseava-se na distorção do osso alveolar provocada pela indução de força através de um mecanismo de pressão-tensão mediado por fibras (BAUMRIND, 1970; GRIMM, 1972; HELLER, NANDA, 1979). Uma combinação dessas teorias era possível. A distorção óssea poderia ser um estímulo primário, mas a presença do ligamento periodontal era necessária para a transferência da força inicial (ZENGO, PAWLUK, BASSETT, 1973; HELLER, NANDA, 1979).

O periodonto de sustentação não é um tecido homogêneo e isotrópico, mas um sistema complexo de fibras, matriz e componente neurovascular, composto pelo cemento, ligamento periodontal e osso alveolar (GARANT, 2000).

O ligamento periodontal desempenha um papel fundamental para que o processo de movimentação dentária induzida por força biomecânica ocorra. Sua compressão induz estímulos geradores de inflamação local, favorecendo a geração de um micro-ambiente susceptível à absorção óssea e radicular (CONSOLARO, 1999). A reabsorção óssea direta ou indireta são percebidas como uma reação tecidual à força aplicada (MELSEN, 2001). Cerca de 90 minutos após a aplicação de uma força no ligamento periodontal, estará caracterizada a formação de um infiltrado. Os neutrófilos invadem o local nas primeiras 24 a 72 horas, atraídos por elementos do exsudato. Os macrófagos, por sua vez, invadem o local agredido de 8 a 12 horas, predominando na área entre 24 a 72 horas. Além de fagocitarem pequenas e grandes partículas, são grandes produtores de substâncias para o meio extracelular tais como citocinas, fatores de crescimento e produtos do ácido aracdônico, além de outros importantes mediadores. Na movimentação dentária ortodôntica, o papel exercido pelo infiltrado está reservado à fase mais tardia do processo, quando da reabsorção de restos celulares e teciduais e na reorganização e reparação do ligamento periodontal (CONSOLARO, 1999).

Durante o movimento dentário inicial, as células do ligamento periodontal são comprimidas, sendo que o sangue e fluido extracelular são forçados a saírem a partir do periodonto para os espaços medulares. Na zona de pressão, durante um rápido movimento ortodôntico, os feixes colágenos do tecido de sustentação são substituídos por outros elementos fibrosos (BIEN, AYERS, 1965; SHIRAZI *et al.*, 2002; KOHNO *et al.*, 2003).

Durante o processo de movimentação ortodôntica ocorre uma série de eventos vasculares além da formação de exsudato inflamatório circunjacente à área envolvida, conforme Davidovitch, em 1991. Reitan e Rygh (1994) relataram que o estímulo mecânico induzido pelo aparelho ortodôntico, traduz-se biologicamente, na

geração de proteínas livres dentro do pequeno espaço do ligamento periodontal, com espessura média de 0.25mm. Há o colapso dos vasos sanguíneos decorrente da pressão exercida, gerando uma hipóxia ou anóxia local, que também podem servir como fatores geradores de proteínas livres, decorrentes da destruição celular ou da desorganização de fibras colágenas e da matriz extracelular (DAVIDOVITCH, 1991; GAENGLER, MERTE, 1983).

O estresse celular mecânico induzido pelo aparelho ortodôntico faz com que sejam desencadeadas vias metabólicas intracelulares. Dessa forma, há a liberação de substâncias que atuam como mediadores capazes de induzir fenômenos de natureza celular, tecidual e/ou vascular (SANDY, 1993). Além do estresse mecânico, ocorre estresse celular funcional, decorrente do menor fluxo de oxigênio devido à compressão dos vasos sanguíneos do ligamento periodontal, induzindo as células a secretarem substâncias, as quais, levando-se em consideração seus efeitos, se caracterizam como mediadores de fenômenos biológicos, contribuindo para o restabelecimento da oxigenação (RYGH, 1986 *et al.*; SANDY, 1992).

A quantidade de hialinização depende do grau de hipóxia gerado, o qual, por sua vez, é dependente da quantidade de força aplicada. Quanto maior a área acelular (células degeneradas e/ou necrosadas), maior atraso para a movimentação ortodôntica ocorrer, pois é necessária a fagocitose inicial dos tecidos envolvidos para que ocorra reposição celular local por células migrantes de áreas vizinhas ao ligamento periodontal. A reorganização do ligamento periodontal e da superfície óssea alveolar depende diretamente da atividade dos macrófagos para a remoção do exsudato, dos restos protéicos e celulares formados na área de compressão. Os macrófagos são também responsáveis por efeitos quimiotáticos e estimulam a proliferação e síntese pelas células mesenquimais, endoteliais, fibroblastos e

osteoblastos. Dessa forma, a área tecidual em questão vai sendo recolonizada e reorganizada (CONSOLARO, 1999).

Explicar a movimentação dentária relacionada às propriedades do ligamento periodontal é uma tarefa que muitos investigadores têm se ocupado (RETAN, KVAN, 1971; KYOMEN, TANNE, 1997; SHIMONO, 2002).

2.2.3 A reação inflamatória

A resposta inflamatória caracteriza-se por uma reação do hospedeiro a uma lesão tecidual, de natureza microbiana, química ou mecânica, a estímulos de natureza química ou mecânica. A inflamação é caracterizada, em sua forma aguda, por sinais clássicos de rubor, calor, edema, dor e perda da função, dependendo da intensidade do agente agressor. Tais sinais resultam de complexos eventos que podem ser detectados microscopicamente e funcionalmente, tais como: vasodilatação acompanhada do aumento da permeabilidade e fluxo sangüíneo, exsudação de fluidos e migração leucocitária para o espaço extravascular.

O processo inflamatório se propaga para áreas mais extensas devido a ação de mediadores químicos endógenos. Histamina, prostaglandinas, leucotrienos e citocinas estão entre as substâncias que mediam trocas sangüíneas, aumento da adesão leucocitária ao endotélio vascular e promoção de sua migração para o tecido afetado (GALLIN *et al.*, 1992; STEPHENSON, 1992; GUYTON, HALL, 1996).

A inflamação é um importante requisito para a movimentação dentária induzida. A ativação de células inflamatórias e a conseqüente liberação de mediadores apresentam importante função sobre os tecidos mineralizados (TONDER, 1983, LARA *et al.*, 1994). Alterações celulares e vasculares, mediadores inflamatórios, fatores de crescimento e neuropeptídeos têm sido identificados no tecido que

circunda o dente sujeito à força ortodôntica (COOPER, SIMS, 1989; VANDEVSKA-RADUNOVIC *et al.*, 1994). A fase inicial da movimentação dentária estimula a liberação de fatores químicos e elétricos das fibras nervosas sensoriais e desencadeiam resposta inflamatória que modifica a microcirculação, promovendo vasodilatação periodontal acompanhada de migração leucocitária a partir dos capilares sangüíneos (OGAWA *et al.*, 2002; PERINETTI *et al.*, 2002).

Forças ortodônticas representam um agente físico capaz de gerar uma reação inflamatória nos tecidos conjuntivos dentais conduzindo a uma proliferação adaptativa e que promove remodelação, principalmente, no ligamento periodontal e osso alveolar (STOREY, 1973; RYGH, 1983; DAVIDOVITCH *et al.*, 1988). A compressão da estrutura periodontal por forças ortodônticas contínuas pode comprometer a integridade vascular desta região. Uma força ortodôntica resulta, com raríssimas exceções, em isquemia, interrupção da nutrição tecidual e morte celular (RYGH, 1972 a, b; STOREY, 1973), com quase que inevitavelmente a formação de zonas hialinas (REITAN, 1951; REITAN, KVAN, 1971; RYGH, 1972 b, 1983). As estruturas periodontais necróticas representam um potente estímulo inflamatório (LILJA *et al.*, 1983; STEPHENSON, 1992) induzindo a proliferação vascular e celular nas áreas adjacentes, com remoção das áreas hialinizadas e formação subsequente tecido de reparo (RYGH, 1974, 1983; VANDEVSKA-RADUNOVIC *et al.*, 1994, 1997 a, b; HELLSING, HAMMARSTRÖM, 1996). A remodelação do osso alveolar e ligamento periodontal representam apenas uma das alterações que ocorrem nas estruturas dentárias de suporte. Forças ortodônticas também afetam a polpa dental e gengiva, induzindo trocas vasculares de natureza inflamatória (STENVIK, MJOR, 1970; GUEVARA, MCCLUGGAGE, 1980; GRIEVE *et al.*, 1994; VANDEVSKA-RADUNOVIC *et al.*, 1994; BRODIN *et al.*, 1996).

As células do ligamento periodontal ativadas produzem citocinas e fatores de crescimento que regulam a remodelação óssea (KVINNSLAND, 1998; CARATI, 2000), ou seja, a inflamação que ocorre durante a movimentação dentária induzida, resulta em reabsorção e neoformação óssea (COOPER, SIMS, 1989). Moléculas liberadas no ligamento periodontal em consequência de danos provocados por movimento ortodôntico ou fatores patológicos, também funcionam como sinal quimiotático (SALO *et al.*, 1997), sendo capazes de estimular a produção de mediadores pró-inflamatórios, com reconhecida atividade sobre os osteoclastos e macrófagos *in vitro* (LARA *et al.*, 2003).

2.2.4 As alterações vasculares

O sistema vascular e a circulação sangüínea têm sido investigados por muitos pesquisadores (BERNICK, 1960; LEW, 1989; VANDEVSKA-RADUNOVIC *et al.*, 1994; NAKASIMA, 2002). Os vasos sangüíneos constituem 11% do ligamento periodontal e sofrem alteração do fluxo sangüíneo devido às reações vasculares causadas por forças induzidas experimentalmente (NANDA, 1992; GANNON, 2000).

O ligamento periodontal apresenta um sistema microvascular composto por canais tissulares ultraestruturais que aumentam acentuadamente na presença da movimentação dentária (TURNER *et al.*, 1969; SELVIG, 1998; ATTAL *et al.*, 2001). A microcirculação é composta por vasos de paredes finas que nutrem as células e estão constantemente remodelando o osso alveolar e formando cemento (GANNON, 2000; TSUKADA *et al.*, 2000). Quando se aplica uma força sobre o dente, a circulação sangüínea periodontal é modificada gerando alterações na amplitude da pulsação vascular (NAKATA, NAKASIMA, 2002).

Alterações vasculares seqüenciais na área de compressão do ligamento periodontal estão bem documentadas. Estase, isquemia, diminuição gradual de capilares, presença de trombos, completa obliteração de vasos sangüíneos e degeneração vascular são algumas das alterações precoces descritas (RYGH, 1972; LEW, 1989). Em contraste, descrições de alterações microvasculares na área de tensão do ligamento periodontal são escassas na literatura embora distensão e dilatação dos vasos na direção da tensão tenham sido relatados (LEW, 1989; TANG, 1993).

Estas alterações são mediadas por diversos fatores de crescimento angiogênicos como o FGF básico e o VEGF.

2.2.5 FGF básico (Fator de Crescimento Fibroblástico básico)

A família dos fatores de crescimento fibroblásticos compreende uma série de citocinas de natureza peptídica, com grande afinidade pela heparina (RIFKIN, MOSCATELLI, 1989; HUGES, 1997) e que exercem atividade basicamente mitógena em vários sistemas biológicos (HUGES, 1997).

Demonstrou-se síntese e secreção do FGF básico, também conhecido como FGF-2, em cultura de células endoteliais e que sobreviveram a doses subletais de irradiação (WITTE *et al.*, 1989); comprovou-se também sua liberação *in vitro* em meio de cultura de anéis de aorta submetidos a agressões reversíveis. O mecanismo de ação estaria relacionado a modificações da membrana citoplasmática endotelial (VILLASCHI, NICOSIA, 1993).

Romero *et al.*, em 1997, observaram que a IL-1, *in vitro*, provoca mudanças fenotípicas nas células endoteliais, que passam de epitelióides para fusiformes com reorganização dos filamentos intermediários e tubulogênese, sendo essas ações

potencializadas pelo FGF básico. Várias moléculas modulariam a atividade do FGF-básico no endotélio, como a heparina, o TGF- β , o TNF- α , o IFN- γ e o PDGF (GOSPODAROWICZ, 1989; BROGI *et al.*, 1994; SAMANIEGO *et al.*, 1997). Inúmeras atividades seriam dependentes de sua ação coordenada com o TGF- β , que, em síntese, exerceria atividades antagônicas (PEPPER *et al.*, 1990; TAJMA, IZUMI, 1996; ICHIKI *et al.*, 1997).

O exame da expressão do FGF básico em inúmeros tecidos humanos adultos leva à conclusão de que sua presença estaria praticamente restrita a células mesenquimais de origem mielóide, macrófagos e células dendríticas. Em tecidos inflamados, a expressão aumenta e relaciona-se à proliferação fibroblástica e à formação de novos vasos (SCHULZE-OSTOFF *et al.*, 1990).

Durante o processo de regeneração periodontal, as células do ligamento periodontal desempenham um importante papel em formar novas ligações entre este tecido assim como permitir a cementogênese e osteogênese. Células do ligamento periodontal inicialmente se estendem e migram sobre a superfície radicular, proliferam e secretam vários componentes da matriz extracelular (EGELBERG, 1987; NARAYANAN, BARTOLD, 1996). Neste processo, vários hormônios e fatores de crescimento modulam a proliferação e a diferenciação das células que compõem o ligamento periodontal. Dentre estes, o FGF básico é um membro dos fatores de crescimento da família heparina-ligante (RIFKIN, MOSCATELLI, 1989) e considerado o mitógeno mais potente para as células periodontais (OKAMOTO *et al.*, 1997; SHIMAZU *et al.*, 1999). O FGF básico aumenta o número de células e inibe a atividade da fosfatase alcalina. Quando aplicado sobre defeitos ósseos, o FGF básico induz a reconstituição do ligamento periodontal e neoformação óssea isenta de anquilose ou reabsorção radiculares. Além disso, há o aumento do número de células do tecido periodontal sem afetar seu potencial para calcificação. Acredita-se

que é um fator de crescimento que atua tanto de forma autócrina quanto parácrina no processo de cicatrização do ligamento (MURAKAMI, TAKAYAMA, 1999).

2.2.6 VEGF (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)

O VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) foi inicialmente isolado em fluidos tumorais e de culturas de células neoplásicas, sendo assim estabelecida a sua capacidade de induzir aumento da permeabilidade vascular (SENGER *et al.*, 1983). A seguir, ele foi detectado em células produtoras de FGF básico (GOSPODAROWICZ *et al.*, 1989), em culturas de células gliais (CONN *et al.*, 1990) e macrófagos e em linhagens de odontoblastos quando estas eram expostas a ácido lipotécico (TELLES *et al.*, 2003). Exercendo ação mitógena sobre o endotélio vascular, passou a ser conhecido como VEGF, nomes que fazem referência às suas ações seletivas sobre o endotélio (GOSPODAROWICZ *et al.*, 1989). A molécula do VEGF possui homologia com outros fatores de crescimento como o PDGF e o PGF (CONN *et al.*, 1990; MAGLIONE *et al.*, 1991). Existem, pelo menos, quatro isoformas do VEGF originadas do processamento do seu RNAm (FERRARA *et al.*, 1991).

O VEGF foi localizado na membrana celular e em estruturas citoplasmáticas, denominadas organelas vesículo-vacuolares, da célula endotelial. O aumento da permeabilidade induzido pelo VEGF estaria relacionado ao aumento funcional destas organelas (KOHN *et al.*, 1992; QU-HONG *et al.*, 1995), pois elas atuariam como fenestrações endoteliais permitindo a passagem de plasma e facilitando a remodelação da matriz extracelular (DVORAK *et al.*, 1996; MIDDLETON *et al.*, 1997).

Por sua vez, o extravasamento de plasma e fibrinogênio propiciado pelo VEGF, associado às mudanças estruturais da matriz extracelular, induz a proliferação de fibroblastos e a migração endotelial (DVORAK *et al.*, 1995-a; 1995-b).

Várias citocinas, como PDGF e TGF- β , promovem a produção do VEGF em células próximas ao endotélio (BROGI *et al.*, 1994) ou então em ceratinócitos e fibroblastos (PERTOVAARA *et al.*, 1994), caracterizando ação parácrina. A hipóxia induz expressão aumentada de VEGF independentemente de morte celular (SHWEIKI *et al.*, 1992), inclusive em fibroblastos, além de modular a expressão de dois dos seus receptores (DETMAR *et al.*, 1997).

Durante o movimento ortodôntico, a remodelação do osso alveolar é mantida por um processo repetitivo de reabsorção e neoformação óssea, controlada, respectivamente, por osteoclastos e osteoblastos. Em 2001, Kaku *et al.*, observaram que o VEGF recombinante (rhVEGF) atua como um fator estimulador de colônias de macrófagos na indução de osteoclastos em camundongos. Observaram, em outro experimento, que o número de osteoclastos que surge no lado de pressão do osso alveolar aumentou de forma acentuada ao se injetar rhVEGF no local da aplicação de força ortodôntica. Estes resultados sugeriram que a administração local de rhVEGF aumenta o número de osteoclastos, e pode aumentar o nível de movimentação ortodôntica.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Evidenciar a presença de FGF básico e VEGF no ligamento periodontal de ratos submetido à movimentação ortodôntica em diferentes tempos de movimentação ortodôntica.

3.2 Objetivos específicos

1. Avaliar as modificações que ocorrem no periodonto durante a movimentação ortodôntica;
2. Quantificar a expressão de FGF básico e VEGF no ligamento periodontal no período de três, sete e quatorze dias de aplicação de força biomecânica;
3. Verificar se há diferença quantitativa dessas citocinas entre o lado submetido ao movimento ortodôntico, analisando os lados de pressão e tensão, e o controle em diferentes tempos de força induzida.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Seleção da amostra

A amostra foi constituída por 18 ratos machos, adulto-jovens, da raça Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), pesando aproximadamente 300 gramas provenientes do biotério de Neurociências do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia. Durante o período experimental, os animais permaneceram acondicionados em gaiolas plásticas, contendo cada uma seis animais. Receberam alimentação sólida, na forma de ração triturada, e água sem restrições. O ambiente de manutenção foi mantido com iluminação natural e a temperatura ambiente, apresentando-se constantemente limpo e arejado.

4.2 Distribuição da amostra

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais, com seis espécimes cada. O grupo de dentes estudado foi composto pelos primeiros molares superiores com o lado direito representando o lado experimental, e o esquerdo, lado contra-lateral, o controle.

- Grupo I - Seis animais sacrificados com três dias de movimentação dentária induzida;
- Grupo II - Seis animais com sete dias de movimentação dentária induzida;
- Grupo III - Seis animais com quatorze dias de movimentação dentária induzida.

4.3 Preparo do Aparelho

O aparelho foi construído a partir de modelo proposto por Heller e Nanda (1979) (Figura 1) e consiste em uma mola de aço inox fechada de 4mm de comprimento com fio de 0,022 polegada; sendo este dispositivo fixado entre o primeiro molar superior direito e o incisivo central do mesmo lado.

4.4 Anestesia dos animais

A instalação do aparato ortodôntico foi feita com os animais submetidos a anestesia geral com pentobarbital sódico (Nembutal – Abbott Laboratórios do Brasil Ltda.), na dosagem de 30mg/Kg de peso corporal. A solução anestésica foi injetada por via intra-peritoneal.

4.5 Instalação e ativação dos aparelhos

Os animais foram posicionados na mesa operatória, contidos e mantidos com a boca aberta. A instalação das molas ortodônticas, constituídas de acordo com Heller e Nanda (1979) usando-se molas espiraladas, fechadas, de 0,06 x 0,22 polegadas, marca comercial Unitek, código 341-120. As molas foram unidas ao primeiro molar superior direito e incisivo do mesmo lado, por meio de fio de amarelo de 0,008 polegadas. Um fio de amarelo foi passado pela região interproximal do primeiro e segundo molar, prendendo uma extremidade da mola; a outra foi fixada em outro fio de amarelo, fixado no incisivo superior. Entre os incisivos superiores, foi criado um reforço mecânico, com broca troncocônica, constituído por pequeno sulco no terço cervical mesial e distal da coroa dentária para encaixe do fio. Em seguida, colocou-se resina composta para cobrir a amarração incisal (Figura 1). Uma força inicial de 50g, mensurada por dinamômetro de precisão, devidamente calibrado e aferido, da marca Dentaurum, número 0,06-0,13, 28-450g, foi adicionada.

Após ativação inicial o aparelho não recebeu nenhuma ativação adicional durante o período experimental e seu correto posicionamento foi conferido diariamente. A movimentação ocorreu no molar superior direito no sentido mesial, e no incisivo, no sentido palatino, não sendo este último movimento alvo de estudo.

Os molares superiores do lado esquerdo foram utilizados como controle para padronização da observação dos fenômenos biológicos do movimento ortodôntico.

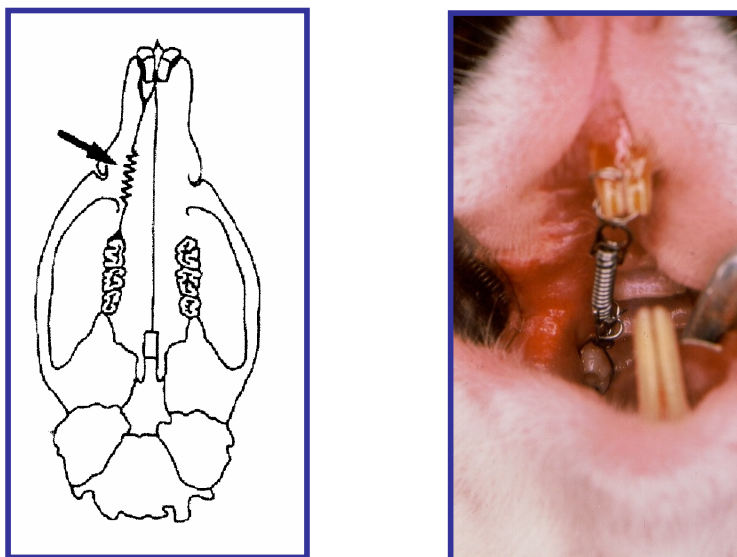


Figura 1 – Desenho esquemático do aparelho proposto por Heller e Nanda (1979) à esquerda. À direita, foto do aparelho posicionado na maxila do rato ligando o incisivo e o primeiro molar superior direito.

4.6 Eutanásia dos animais, obtenção e preparo dos espécimes

Ao término dos períodos experimentais, os animais sofreram eutanásia por uma injeção de dose excessiva do anestésico por via peritoneal e, em seguida, foram decapitados. A partir disso, a maxila de cada animal foi removida, dissecada e seccionada na sua linha média com o auxílio de um disco de carborundum. Fixou-se em solução de Paraformaldeído tamponado 4% por 24 horas. Ao término da fixação, as peças foram colocadas em solução desmineralizadora de etilendiaminotetracetatodissódico (EDTA), da marca comercial Labormax Produtos Químicos e Indústria, a 10% a 0.25M pH 7.2, sob agitação constante. A solução foi trocada diariamente até a amostra ser completamente descalcificada. Os procedimentos operatórios foram realizados na sala de cirurgia experimental do Laboratório de Neurociências, Departamento de Biorregulação ICS-UFBA, sob condições de limpeza, anti-sepsia e desinfecção, com instrumentos esterilizados em

autoclave. Os animais foram pesados os animais antes e após o término do experimento.

4.7 Processamento histotécnico das peças cirúrgicas

Após a desmineralização, os espécimes foram processados histologicamente e incluídas em parafina. Secções sagitais com espessura de 5µm foram executadas longitudinalmente, no sentido mesiodistal, paralelas ao longo eixo dos primeiros molares, e montadas em lâminas para ser processada a imunohistoquímica. As secções utilizadas foram as mais próximas à linha média para que se avaliasse o ligamento periodontal e osso alveolar do elemento dentário.

Um corte de cada peça foi corado pelo método de hematoxila-eosina de Harris e Lison. A montagem das lâminas se fez com lamínulas de vidro em Bálsamo do Canadá. Após secagem as lâminas para a imunohistoquímica com os respectivos cortes corados foram acondicionadas em caixas apropriadas, e armazenadas em ambiente seco e fresco.

4.8 Imunohistoquímica

Os cortes permaneceram na estufa de 30°C por 12h para processamento da imunohistoquímica, na qual foram utilizadas soluções do *Kit LSA+System-HRP DakoCytomation* (Código K0679). Seguiu-se a desparafinização em seqüências de banhos em xilol e hidratação dos cortes em diferentes concentrações de álcool. Lavagem e colocação das lâminas em câmara úmida durante todo processamento. A recuperação antigênica deu-se por digestão enzimática, usando-se Tripsina (Sigma). Feito o bloqueio da peroxidase endógena com a solução do kit. A inibição das ligações inespecíficas foi feita com BSA a 2% em PBS, incubado *overnight* em câmara úmida a 4°C. Os anticorpos primários, fabricante Santa Cruz *Biotechnology*, foram aplicados nas seguintes diluições: 1:100 do FGF básico (FGF-2 (147): sc-79) e 1:50 do VEGF (VEGF (C-1): sc-7269) em PBS/BSA a 2%, permanecendo também em *overnight* a (4°C). Seguiu-se aplicação do anticorpo secundário, conjugado com biotina ligante, incubando-se em estufa 30°C por vinte e cinco minutos. Aplicação do complexo Streptoavidina-Peroxidase nas mesmas condições. Procedeu-se a etapa de revelação com diaminobenzidina (DAB) e contra-coloração através da imersão

dos cortes em Hematoxilina. Feitas as etapas de hidratação e imersão em xilol para prosseguir com a montagem através do uso do bálsamo do Canadá.

4.9 Análise microscópica e morfometria

Ao término dos procedimentos laboratoriais, os cortes foram observados em microscópio Nikon binocular (Bx41). As áreas analisadas corresponderam ao periodonto de inserção dos primeiros molares superiores movimentados e do lado controle, de todos os grupos experimentais. Para análise periodontal foram selecionadas as áreas correspondentes à compressão e à tensão do primeiro molar superior e osso alveolar dos mesmos.

As áreas de análise do periodonto de inserção foram diferentemente demarcadas, com finalidade comparativa. Como a primeira demarcação, escolheu-se para análise microscópica e morfométrica uma área correspondente à pressão e uma à tensão das raízes mesial e distal do primeiro molar superior. Sendo a região do terço médio da face externa da raiz mesial, correspondendo a área de pressão (A), região do terço médio da face externa da raiz distal, correspondendo a área de tensão (B), região cervical mesial da raiz distal do primeiro molar (C), voltada para o septo inter-radicular, correspondendo à área de pressão durante o movimento dentário induzido, e a região cervical distal da raiz mesial do mesmo dente (D), voltada para o septo inter-radicular, correspondendo à área de tensão (Figura 2). As mesmas áreas radiculares foram escolhidas também para análise nos dentes não movimentados.

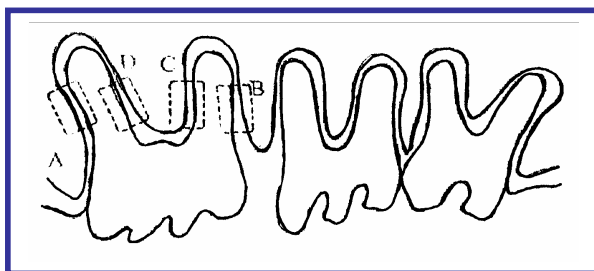


Figura 2 – Representação esquemática das áreas periodontais correspondentes às primeiras e segundas demarcações para análise microscópica e morfométrica da movimentação dentária induzida no primeiro molar no sentido mesial.

Realizou-se análise morfométrica das secções que foram submetidas a imunohistoquímica. As áreas analisadas foram capturadas e submetidas a um processamento de imagens. Após serem transportadas para um sistema de captura de imagem do programa de morfometria, foram equalizadas, e as áreas tingidas pelo DAB foram transportadas por uma técnica de automatização de imagem (BREY, LALANI, JOHNSTON, 2003; BREY, KING, JOHNSTON, 2002). O valor selecionado como limiar baseou-se na intensidade corada pelo DAB dos campos testados do controle. Todas as imagens foram analisadas usando os valores de *pixels* corados para o DAB. A quantificação da imunohistoquímica se deu por percentual de área corada para o DAB e a intensidade total dos *pixels* selecionados.

4.10 Análise estatística

Foram utilizados os testes de Wilcoxon Signed Ranks, de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparação múltipla de Dunn. Foram consideradas estatisticamente significantes diferenças com $P < 0,05$. Os dados estão apresentados sob a forma de tabela e gráficos com o objetivo de facilitar a visualização e interpretação dos dados.

5. RESULTADOS

Neste capítulo, serão descritas, de forma geral, as características encontradas no periodonto de sustentação do molar superior, do lado controle (Figuras 5A,6A,7) e dos primeiros molares submetidos às forças externas (Figuras 5B,10,13), independente do grupo experimental. A avaliação qualitativa de células expressando FGF básico e VEGF deu-se por análise morfométrica realizada após a imunohistoquímica.

Sempre no lado testado, submetido à força ortodôntica, ocorreu uma maior expressão dos fatores de crescimento estudados conforme observado através das análises de Kruskal-Wallis Wilcoxon Signed Ranks (Tabela 1).

O protocolo de descalcificação usado nesse estudo preservou a morfologia tecidual.

5.1 Descrição histológica

Os dados morfológicos descritos a seguir podem ser visualizados nas figuras 5,6,7,8,9,10,13.

Decorrente da ação da força mecânica aplicada observa-se alterações morfológicas celulares e teciduais após análise microscópica das secções correspondentes.

As modificações caracterizadas pela presença acentuada de áreas hialinas, exuberantes reabsorção óssea periodontal e endosteal resultaram dos efeitos de forças biologicamente excessivas. Tais eventos puderam evidenciar a maior sensibilidade das superfícies periodontais inter-radiculares à ação de forças induzidas, visando à movimentação dentária (Figuras 5B e 6).

As áreas periodontais externas, correspondentes à face mesial externa da raiz mesial e face distal da raiz distal do primeiro molar superior direito, abrangem áreas de pressão e tensão durante o movimento dentário induzido, respectivamente. Inicialmente serão descritas as características encontradas nos animais do grupo controle, que não tiveram seus dentes submetidos à ação de forças externas, para efeito comparativo com os animais dos grupos experimentais.

5.1.1 Grupos controle

Nos animais do grupo controle (Figuras 5A, 6A e 7), nas áreas correspondentes à pressão e tensão nas unidades submetidas à aplicação de força, os cortes microscópicos analisados revelaram ligamento periodontal regular e uniforme em toda sua extensão. As fibras colágenas mantiveram-se, em geral, paralelas entre si inserindo-se perpendicularmente às superfícies óssea e cementária. Verificou-se a disposição em fascículos dos fibroblastos, em sua forma característica, fusiforme, e alguns ovalados. Não se observou presença de áreas hialinas. A presença de células inflamatórias também foi raramente observada.

Em relação ao sistema circulatório, a distribuição dos vasos deu-se por todo ligamento, com tamanhos variados.

A superfície cementária apresentou-se uniforme e revestida por cementoblastos dispostos em paliçada, geralmente de forma organizada, não sendo observadas áreas de reabsorção.

A crista óssea mostrou-se levemente irregular, com a presença de poucas células clásticas dispostas em lacunas de Howship ou justapostas à superfície.

Ao realizar a imunohistoquímica observou-se expressão basal das citocinas estudadas tanto em componentes do ligamento periodontal quanto em endotélio pulpar e odontoblastos (Figura 7).

5.1.2 Grupos experimentais

Nestes grupos experimentais, na face periodontal submetida à pressão, o osso mostrou-se irregular, com lacunas de Howship distribuídas ao longo de sua extensão. Os clastos caracteristicamente multinucleados localizavam-se no interior das lacunas e justapostos à superfície. Na crista óssea alveolar notou-se perda de organização e individualidade das fibras de Sharpey, exibindo áreas de reabsorção ativa. Osteoblastos revestiam parcialmente as superfícies ósseas, estando dispostos sem organização, comumente justapostos à superfície (Figuras 5B, 6C,9,15).

Nas áreas pressionadas, o ligamento periodontal mostrou-se com predomínio de vasos colabados e feixes de fibras colágenas desorganizadas e com perda de fasciculação dos fibroblastos. Estes também se mostravam ovalados, além da forma comumente fusiforme (5B,6C).

Na área tensionada, o cemento manteve o padrão encontrado na área de pressão, com cementoblastos revestindo-o em toda a extensão, dispostos em paliçada. Os feixes de fibras colágenas estavam organizados, geralmente distendidos e com fibroblastos dispostos de permeio, em fascículos e com aspecto fusiforme. Os vasos sangüíneos encontravam-se distribuídos por toda a extensão do ligamento periodontal, dilatados e hiperêmicos.

Nas áreas inter-radulares do periodonto de sustentação, as alterações foram mais acentuadas, tanto nas áreas de pressão quanto nas de tensão, quando

comparadas aos eventos microscópicos das áreas externas das raízes (Figuras 5B,6C).

A superfície óssea submetida a pressão mostrou áreas de reabsorção, com grande número de lacunas de Howship, inclusive presença de vários clastos multinucleados, também encontrados justapostos e a distância da superfície óssea. A superfície óssea mostrou-se, portanto, recortada e irregular. A reabsorção óssea ocorreu tanto na superfície periodontal quanto na endosteal, com pequena variação entre os espécimes. Na maioria dos espécimes, encontraram-se reabsorções à distância, principalmente em associação com a formação de áreas hialinas. A presença de osteoblastos foi variada, podendo encontrá-los justapostos e à distância, revestindo pouco e grosseiramente a superfície óssea, ou até mesmo ausentes, não existindo um padrão predominante (5B,6C).

O ligamento periodontal mostrou alterações substanciais de seus componentes nas áreas de pressão. Notou-se a formação de áreas hialinas, variando sua extensão entre os espécimes. Concomitantemente a essas áreas, observaram-se os principais focos de reabsorção óssea frontal ou à distância, bem como reabsorções cementárias. As áreas hialinas também mostraram fases evolutivas diferentes com o decorrer do tempo de aplicação de força ortodôntica (Figuras 5B,6C).

Na análise morfológica nas áreas de tensão, notou-se formação óssea, mas por outro lado houve focos de reabsorção, incomuns para esta área (Figuras 5B,6B,14,16). Predominou uma superfície óssea uniforme e regular. Os osteoblastos mostraram-se distribuídos justapostos e organizadamente revestindo, em paliçada e/ou ao acaso, a superfície óssea e expressando o FGF básico e VEGF (Figura 17).

No ligamento periodontal das áreas de tensão submetidas à análise, encontraram-se feixes de fibras colágenas anguladas e perpendiculares, com pequenas áreas

apresentando total desorganização. As áreas hialinas eram discretas, ocorrendo apenas em poucos espécimes, apesar de em alguns terem ocorrido em extensão moderada. A largura do ligamento periodontal mostrou-se normal e, às vezes, moderadamente aumentada (Figura 5B).

Os fibroblastos mostraram alterações típicas nas áreas de tensão, com distribuição fasciculada predominando sobre a distribuição ao acaso, e assumindo formato de células fusiformes. Também expressaram as citocinas estudadas (Figuras 8,11,14,15).

Realizada a imunohistoquímica, observou-se expressão de FGF básico e VEGF nos osteoclastos localizados nas áreas de atividade de reabsorção. Fibroblastos, odontoblastos, células endoteliais do ligamento periodontal e polpa dental também mostravam-se marcadas para estes fatores de crescimento após imunohistoquímica. A intensidade de expressão é marcadamente maior para o FGF básico do que para o VEGF, sendo detectada expressão basal destes fatores de crescimento também no lado controle (Figuras 7,8,9,11,12,14,16,17,18,20).

5.2 IMUNOHISTOQUÍMICA E MORFOMETRIA

Realizadas as imunohistoquímicas e após resultados e análise morfométrica seguem os dados estatísticos obtidos. No presente trabalho a expressão das citocinas FGF básico e VEGF variou ao longo do período de reorganização do tecido de suporte periodontal submetido à movimentação ortodôntica.

5.2.1 FGF básico

Os resultados deste trabalho evidenciam uma expressão diferenciada de FGF básico ao se avaliar os lados de pressão e tensão nos diferentes tempos de aplicação de força. Uma expressão mais significativa na produção deste fator de crescimento ocorreu no primeiro grupo no lado pressionado, onde ainda havia grande número de osteoclastos (Figura 9A).

No primeiro grupo analisado, após o terceiro dia de movimentação, os osteoclastos encontrados notadamente no lado de pressão expressam FGF básico (Figura 9A). Aos três dias de força aplicada, a expressão de FGF básico, tanto no lado de pressão quanto no de tensão, foi significativamente maior ao se comparar com o lado controle. Uma diferença estatisticamente significativa nos níveis de FGF básico ($P < 0.05$) foi observada entre o lado experimental e o contralateral entre todos os grupos testados. Com três dias de força aplicada houve uma média percentual de expressão por área de FGF básico de 2,40 (DP 0,69) no lado de tensão e 11,25 (DP 3,30) no lado de pressão. Com sete dias de força biomecânica houve um aumento na expressão deste fator de crescimento no lado de tensão, obtendo-se média de 3,16 (DP 0,96), e um decréscimo acentuado no lado de pressão, sendo a média obtida de 2,70 (DP 0,94). Após catorze dias de indução a média de expressão aumentou para 6,63 (DP 1,07) no lado de tensão e 6,56 (DP 0,77) no lado pressionado. No controle referente ao primeiro grupo para o FGF básico, encontrou-se para os grupos I, II e III, respectivamente, 0,68 (DP 0,26), 0,80 (DP 0,20) e 0,50 (DP 0,19).

Procedendo-se com o teste de Dunn, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre alguns grupos testados quando comparados entre si. O grupo III diferiu dos grupos I e II na expressão do FGF básico no lado tensionado, não ocorrendo

diferença entre os grupos I e II. No lado de pressão, por sua vez, houve diferença apenas entre os grupos I e II na expressão desta citocina.

5.2.2 VEGF

Os resultados deste trabalho também evidenciam uma expressão diferenciada de VEGF ao se avaliar os lados de pressão e tensão nos diferentes tempos de aplicação de força. Uma expressão mais significativa na produção deste fator de crescimento ocorreu no primeiro grupo no lado pressionado, onde ainda havia grande número de osteoclastos devido à magnitude de força aplicada (Figura 9B).

Procedendo-se com o teste de Dunn, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre alguns grupos testados quando comparados entre si. O grupo III diferiu dos grupos I e II na expressão do VEGF no lado tensionado, não ocorrendo diferença entre os grupos I e II. No lado de pressão, por sua vez, houve diferença apenas entre os grupos I e II na expressão desta citocina.

No período de três dias, a expressão de VEGF, tanto no lado de pressão quanto no de tensão, foi significativamente maior ao se comparar com o lado controle. Uma diferença estatisticamente significante nos níveis de VEGF ($P < 0,05$) foi observada entre o lado experimental e o contralateral entre todos os grupos testados. Com três dias de força aplicada houve uma média de expressão de VEGF de 1,28 (DP 0,52) no lado de tensão e 7,56 (DP 2,34) no lado de pressão. Com sete dias de força biomecânica houve um aumento na expressão deste fator de crescimento no lado de tensão, obtendo-se média de 3,78 (DP 1,04), e, no lado de pressão, média obtida de 2,70 (DP 0,54). Após catorze dias de indução, a média de expressão aumentou para 3,83 (DP 1,25) no lado de tensão e 3,20 (DP 0,86) no lado pressionado. No controle referente ao primeiro grupo para o VEGF, encontrou-se

para os grupos I, II e III, respectivamente, 0,5 (DP 0,21), 0,72 (DP 0,10) e 0,56 (DP 0,22).

Procedendo-se com o teste de Dunn, houve diferença significativa ($P<0,05$) entre alguns grupos testados quando comparados entre si. O grupo I diferiu dos grupos II e III na expressão do VEGF no lado tensionado, não ocorrendo diferença entre os grupos II e III. No lado de pressão, por sua vez, a diferença se repetiu entre os grupos I com o II e III na expressão desta citocina, não ocorrendo diferenças entre os grupos II e III quando comparados entre si.

Tabela 1. Média percentual de FGF básico e VEGF nos lados de pressão e tensão dos grupos estudados

Grupos	FGF b T (%)	FGF b P (%)	VEGF T (%)	VEGF P (%)
Grupo I*	2,40±0,69	11,25±3,30	1,28±0,52	7,56±2,34
Grupo II*	3,16±0,96	2,06±0,94	3,78±1,04	2,70±0,54
Grupo III*	6,63±1,07	6,56±0,77	3,83±1,25	3,20±0,86

* $P<0.05$

FGF b= Fator de crescimento fibroblástico no lado de tensão (T) e pressão (P)
VEGF= Fator de crescimento endotelial no lado de tensão (T) e pressão (P)

Figura 3. Expressão de FGF básico nos lados de pressão e tensão e controle ao longo do experimento.

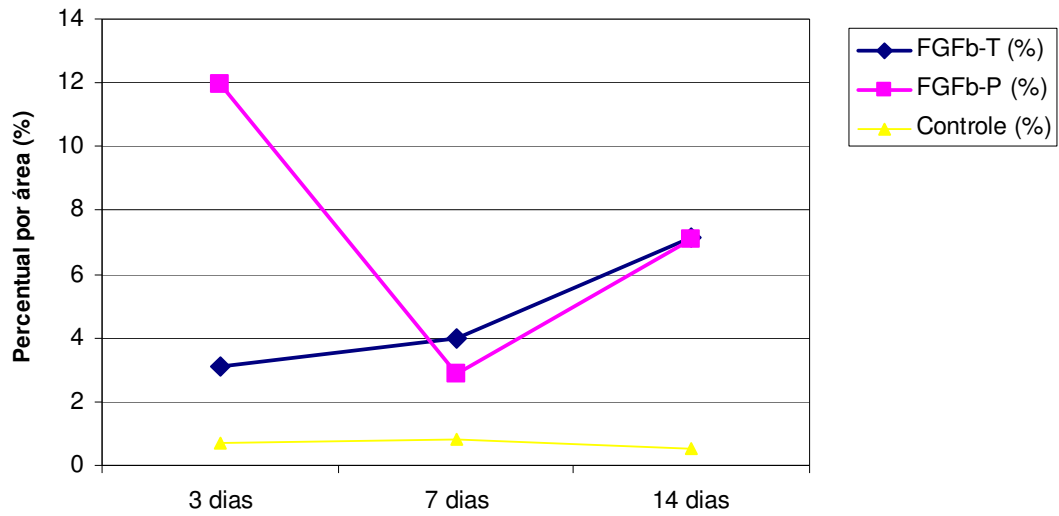


Figura 4. Expressão de VEGF nos lados de pressão e tensão e controle ao longo do experimento

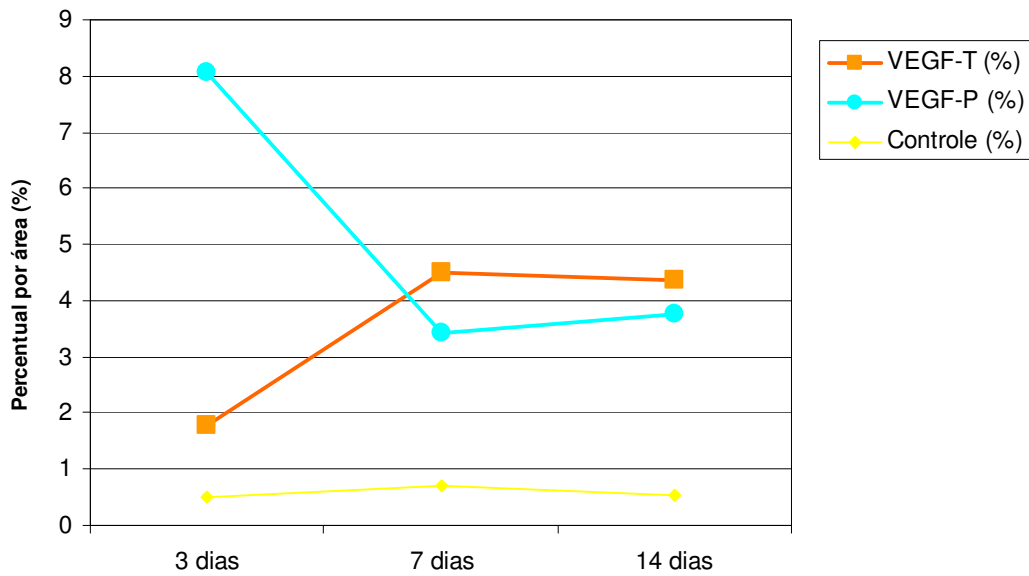


Figura 5- Secções de 1MS esquerdo (A) e direito (B) de rato: A- HE ligamento periodontal (LP) não submetido a aplicação de força ortodôntica (4X); B- HE ligamento periodontal submetido a aplicação de força ortodôntica (3 dias) (4X), destacando-se as áreas de tensão (T), pressão (P), zona de hialinização (área circulada), osteoclastos (seta) e osso alveolar (OA).

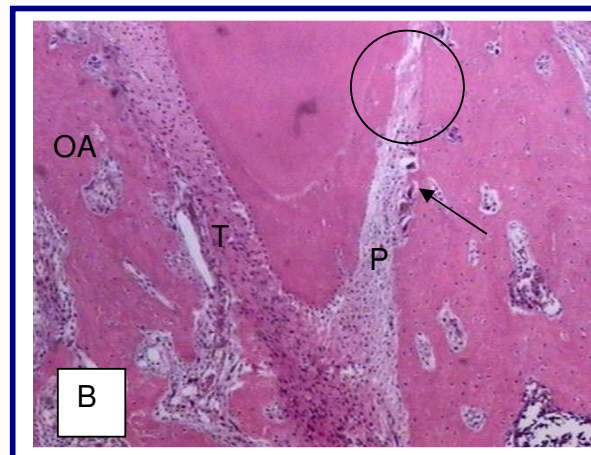
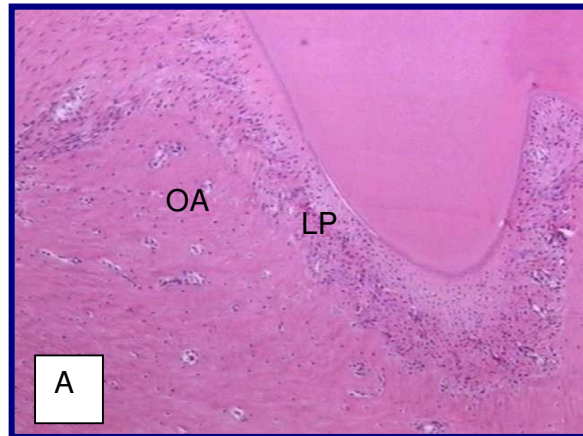


Figura 6- Secções de 1MS esquerdo (A) e direito (B e C) de rato: A- HE Controle, não submetido à aplicação de força ortodôntica (10X); B- HE Lado de tensão (10X), fibras rompidas do ligamento periodontal (LPr) ; C- HE lado de pressão (10X); osteoclastos (Oc); lacunas de reabsorção (setas).

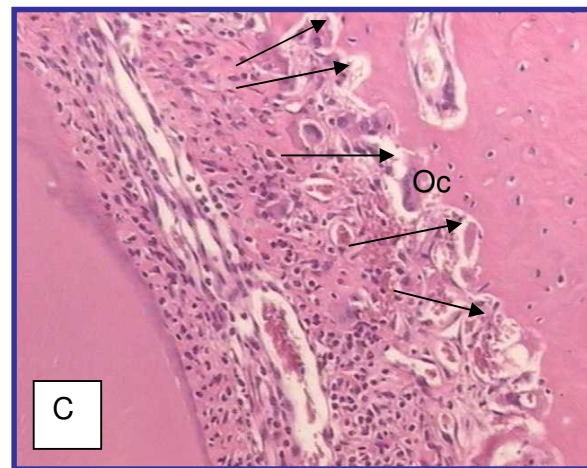
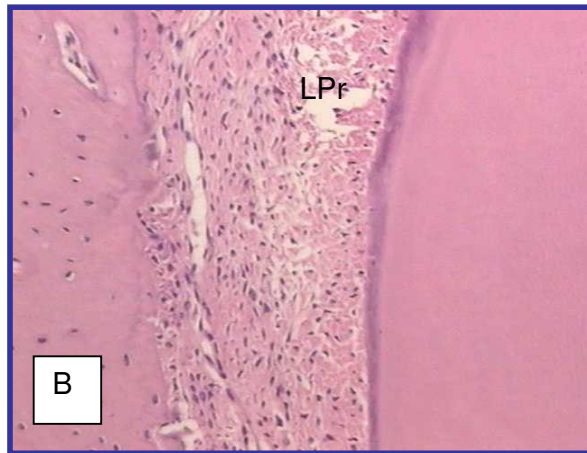
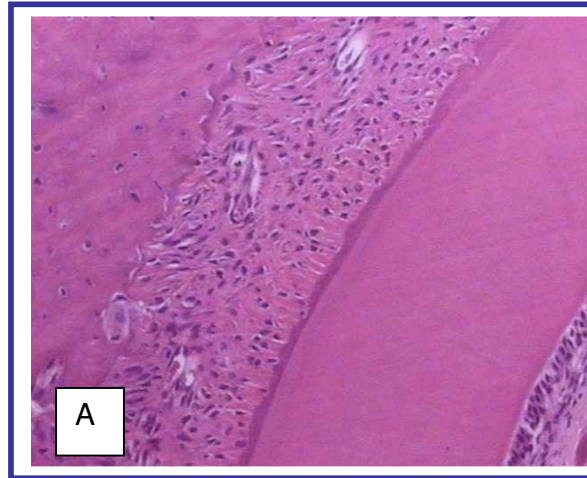


Figura 7- Secções de 1MS esquerdo de rato não submetido à movimentação ortodôntica: A - Expressão basal de FGF básico detectada por imunohistoquímica (20X); B - Expressão basal de VEGF detectada por imunohistoquímica (20X); Endotélio (E).

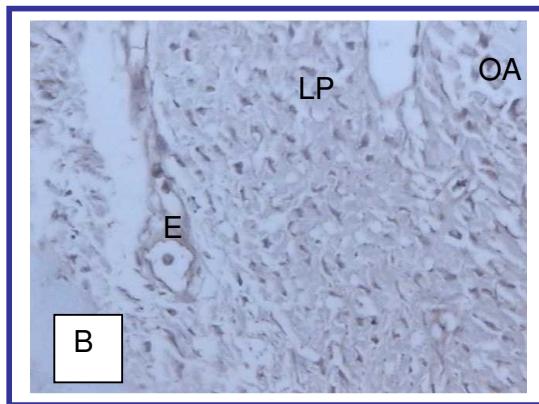
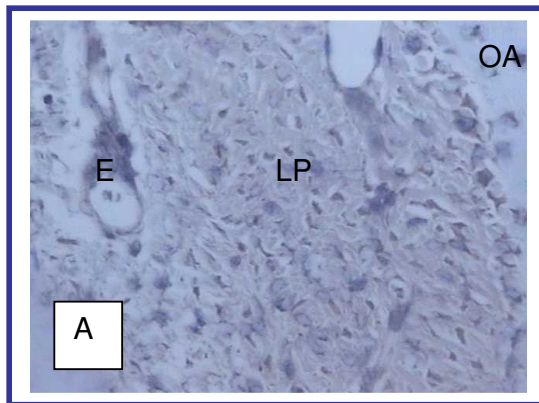


Figura 8- Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica, tensão (3 dias): A - Expressão de FGF básico detectada por imunohistoquímica (20X); B - Expressão de VEGF detectada por imunohistoquímica (20X); Endotélio (E); Fibroblastos (F).

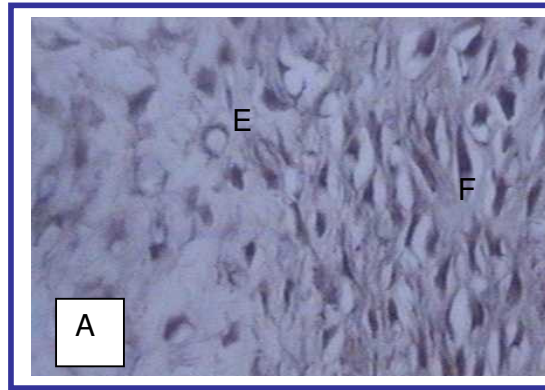


Figura 9- Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica, pressão (3 dias): A - Expressão de FGF básico detectada por imunohistoquímica (20X); B - Expressão de VEGF detectada por imunohistoquímica (20X); Endotélio (E); Osteoclastos (Oc), Osso alveolar (OA).

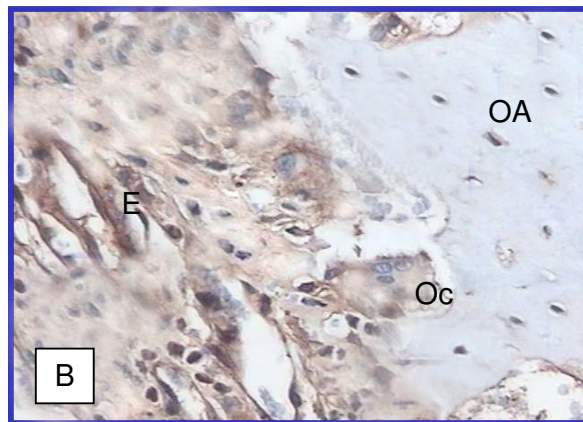
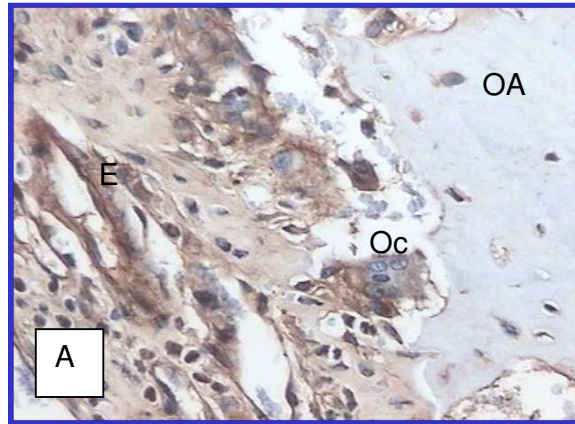


Figura 10- Secções de 1MS direito de rato submetido à aplicação de força ortodôntica (7 dias): A - HE lado de tensão (10X); B - HE lado de pressão (10X); Superfície radicular (R); Osso alveolar (AO).

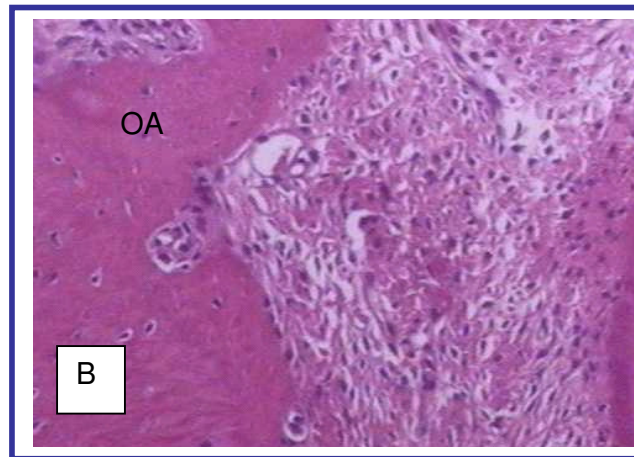
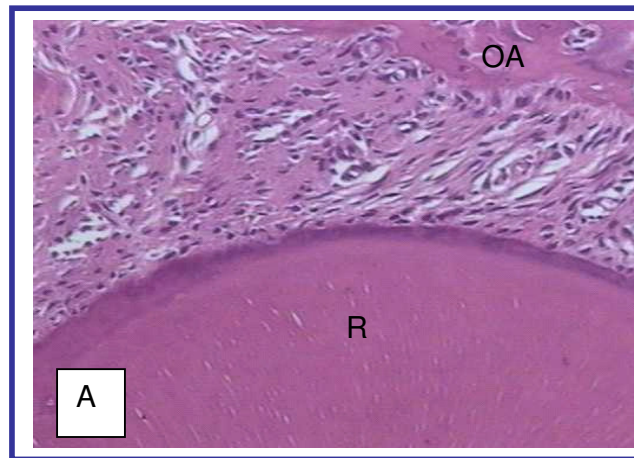


Figura 11- Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica, tensão (7 dias): A - Expressão de FGF básico detectada por imunohistoquímica (20X); B - Expressão de VEGF detectada por imunohistoquímica (20X); Endotélio (E).

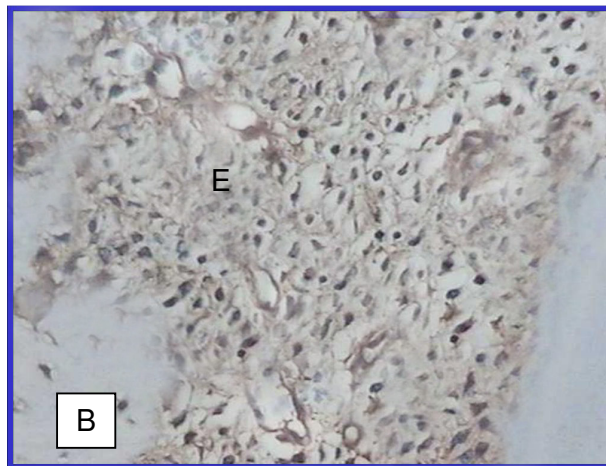
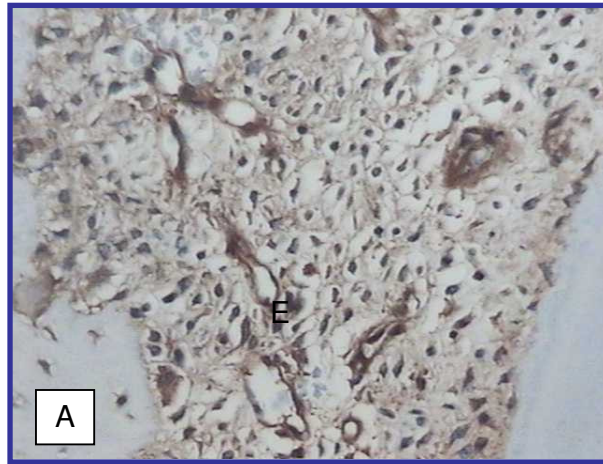


Figura 12- Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica, pressão (7 dias): A - Expressão de FGF básico detectada por imunohistoquímica (20X); B - Expressão de VEGF detectada por imunohistoquímica (20X); Endotélio (setas).

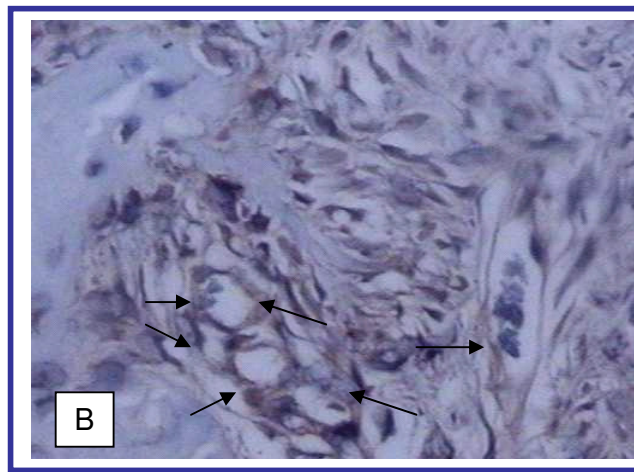
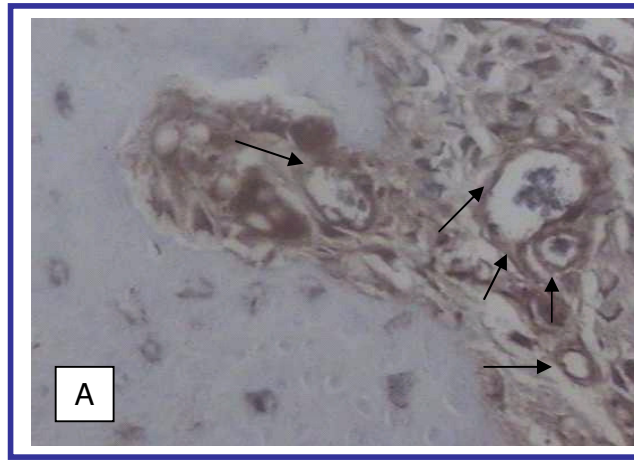


Figura 13- Secções de 1MS direito de rato submetido à aplicação de força ortodôntica (14 dias): A - HE lado de tensão (10X); B - HE lado de pressão (10X).

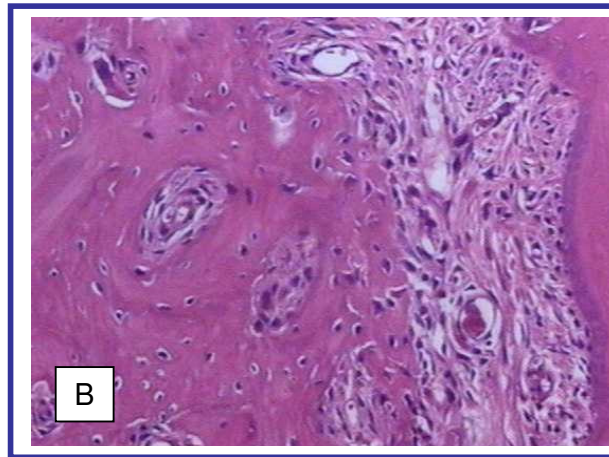
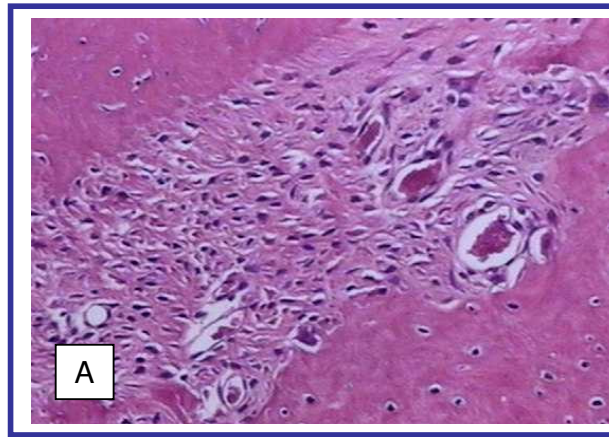


Figura 14- Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica, tensão (14 dias): A - Expressão de FGF básico detectada por imunohistoquímica (20X); B - Expressão de VEGF detectada por imunohistoquímica (20X); Linhas de reversão (setas).

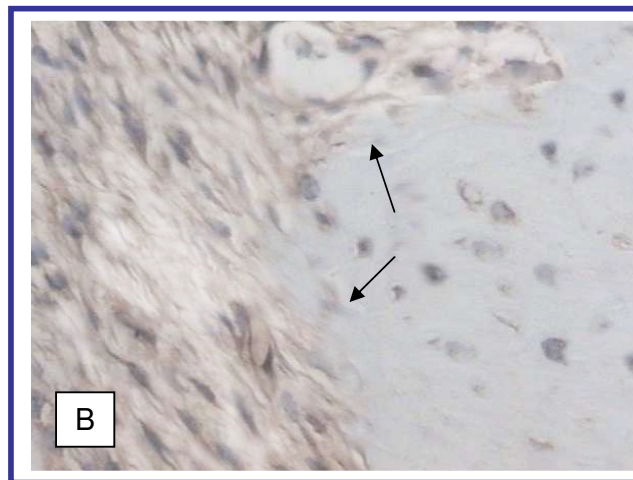
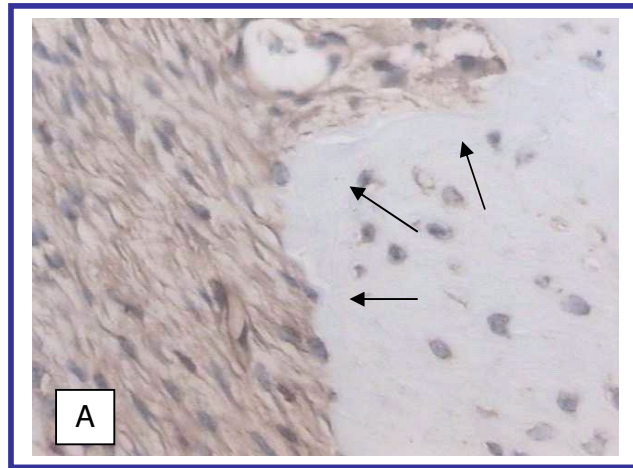


Figura 15- Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica, tensão (14 dias): A - Expressão de FGF básico detectada por imunohistoquímica (40X); B - Expressão de VEGF detectada por imunohistoquímica (40X); Fibroblastos (setas).

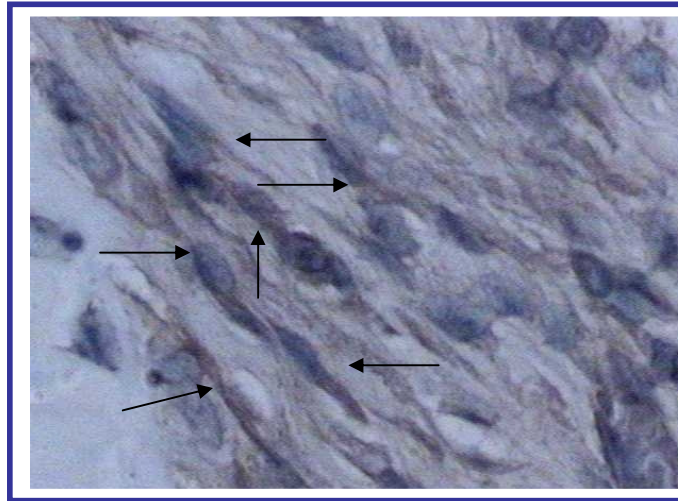


Figura 16- Secções de 1MS direito de rato submetido a movimentação ortodôntica, pressão (14 dias): A - Expressão de FGF básico detectada por imunohistoquímica (20X); B - Expressão de VEGF detectada por imunohistoquímica (20X).

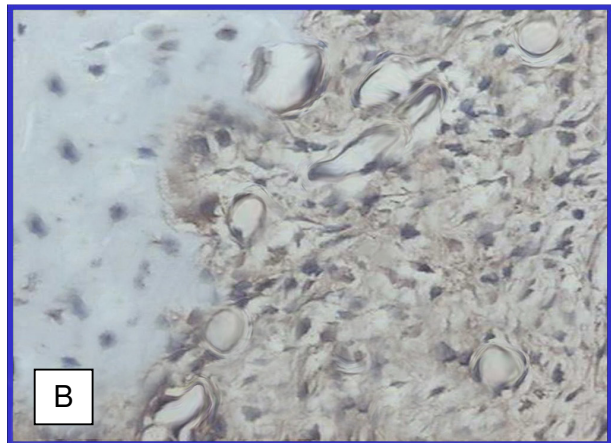
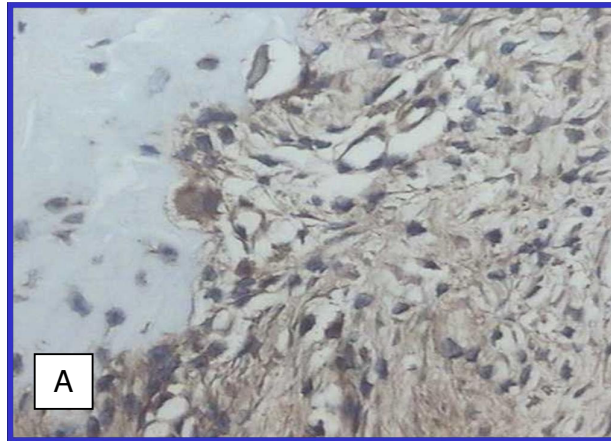


Figura 17- Secções de 1MS direito de rato submetido à aplicação de força ortodôntica: A - Expressão de FGF básico detectada por imunohistoquímica em osteoblastos (Ot) (20X); B - Expressão de VEGF detectada por imunohistoquímica em osteoblastos (Ot) (40X).

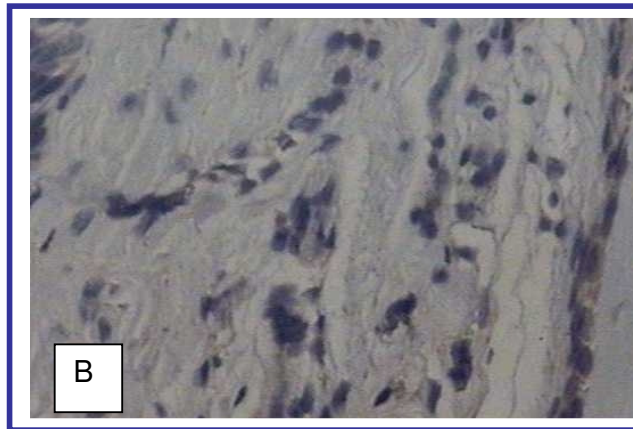
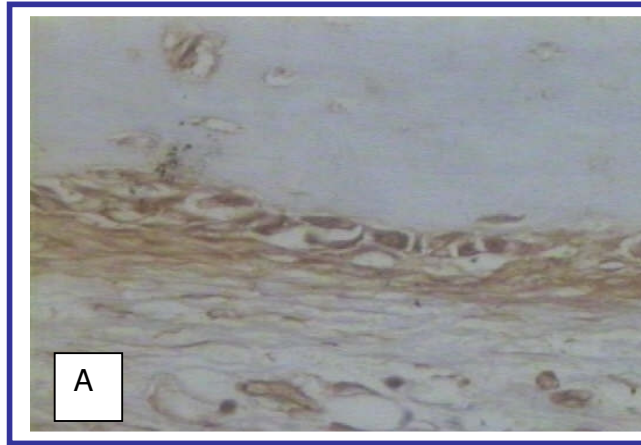


Figura 18- Secções de 1MS direito de rato submetido à aplicação de força ortodôntica: A- Expressão de FGF básico detectada por imunohistoquímica em Odontoblastos (Od) (40X); B- Expressão de VEGF detectada por imunohistoquímica; Odontoblastos (Od) (40X); Polpa dentária (P); Dentina (D).

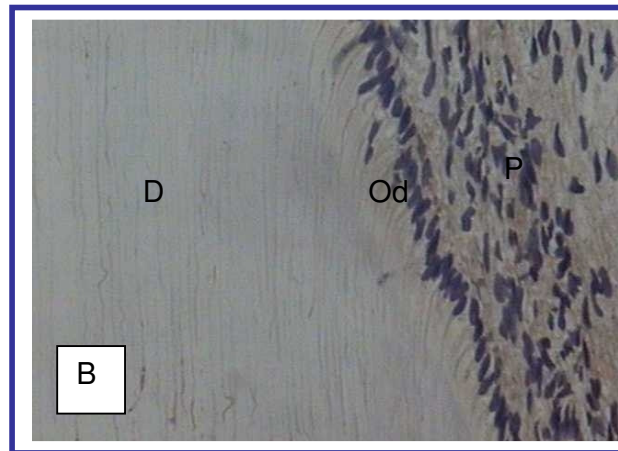
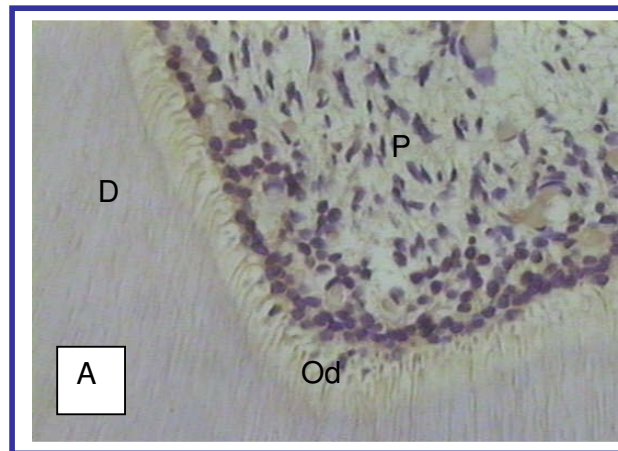
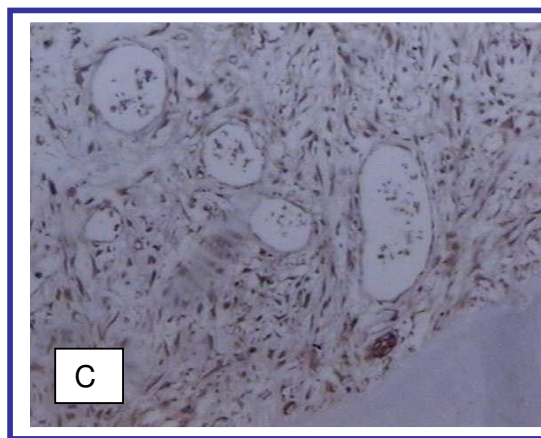
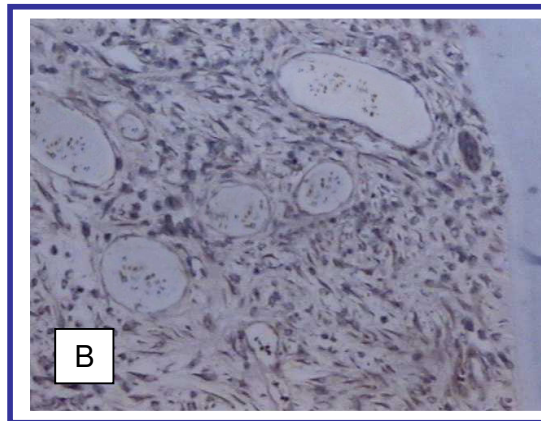
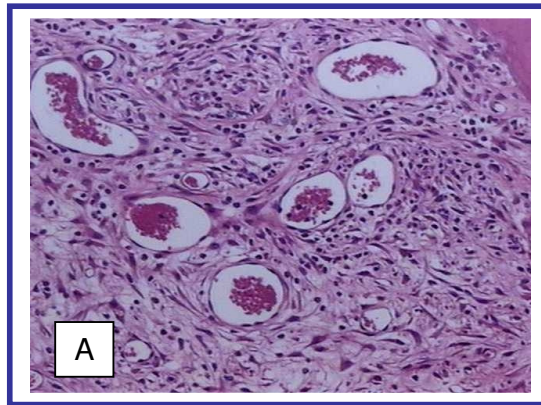


Figura 19- Secções de 1MS direito de rato submetido à aplicação de força ortodôntica lado de tensão (dias): A- HE ligamento periodontal; Expressão de FGF básico (B) e de VEGF (C) detectada por imunohistoquímica em vasos do ligamento periodontal (20X).



6. DISCUSSÃO

Nesta investigação, foi induzida movimentação dentária nos primeiros molares superiores de rato nos períodos de três, sete e catorze dias. Os achados demonstraram uma seqüência de eventos morfológicos associados à indução da movimentação, semelhante à resposta biológica a forças mecânicas e reações químicas promovidas pela movimentação dentária experimental encontrada nos clássicos estudos de Heller e Nanda (1979); Macapanpan, Weinmann e Brodie (1954); Reitan (1974) e Rygh (1976, 1977). As alterações morfológicas visualizadas por microscopia óptica, após coloração por hematoxilina-eosina, ocorridas durante este experimento foram concordes a estudos prévios (BRUDVIK, RYGH, 1991, 1993-A; RYGH, 1974, 1977).

A presença de áreas hialinas em tempos variados, no presente estudo, foi compatível com a magnitude de força utilizada (REN *et al.*, 2002). Os estudos de Reitan e Kvan (1971) mostram a presença de hialinização na área de pressão em decorrência da indução de movimentação ortodôntica. Ainda neste estudo, as superfícies alveolares próximas às áreas hialinas apresentavam lacunas de reabsorção contendo células clásticas nas zonas de pressão do ligamento periodontal (Figuras 5B, 6C), o que também está de acordo com os resultados obtidos por Engström, Granström e Thilander (1988). A remoção do tecido periodontal hialinizado é iniciada por células fagocitárias e após 14 dias de força aplicada este fenômeno de hialinização não é mais observado (BRUDVIK, RYGH, 1993; VANDVSKA-RADUNOCIC, KVINNSLAND, KVINNSLAND, 1997-A).

A literatura abordando a biologia molecular e o processo regenerativo mostra que muitos eventos celulares envolvidos no reparo são regulados por fatores de crescimento e citocinas, e são influenciados por fatores locais tais como

suprimento sangüíneo, estímulos mecânicos e microambiente (CANALIS *et al.*, 1992; WONG, HOLLINGER, PINERO, 1996).

É na interface entre o ligamento periodontal e osso alveolar, onde a força está atuando, que ocorrem os eventos celulares e a liberação e ação dos mediadores. O objetivo desses eventos é permitir que as células e o tecido da área envolvida resistam, adaptem-se ou defendam-se eliminando o agente agressor. Como na ortodontia há a aplicação de uma força mecânica, o objetivo é dissipá-la. Nessa interface, os mediadores e células levam à reabsorção alveolar, alargamento do espaço periodontal e, assim, dissipação da força aplicada.

É possível que a regeneração periodontal sofra importante influência destas citocinas angiogênicas. Forças ortodônticas alteram o fluxo sangüíneo para a região periodontal, iniciando uma cascata de processos bioquímicos e celulares que são responsáveis pela remodelação tecidual do ligamento periodontal e osso alveolar.

Reitan e Kvan (1971) observaram a ocorrência de osteoclastos na zona de pressão do ligamento periodontal após cinco a oito dias de aplicação de força ortodôntica. Contudo, os estudos de King e Keeling (1994) e Rody *et al.* (2001) mostram níveis máximos de osteoclastos após três a cinco dias de aplicação de força em ratos jovens e senis. Ren *et al.* (2002) consideram que o recrutamento ou diferenciação de osteoclastos em unidades submetidas a estímulos mecânicos varia de acordo com a magnitude de força aplicada. Neste estudo, um maior número de osteoclastos foi encontrado no lado de pressão aos três dias após a movimentação. Este recrutamento precoce é decorrente, muito provavelmente, da aplicação de força de maior intensidade neste experimento.

Avaliando os resultados obtidos, verifica-se que os osteoclastos apresentam expressão intensa e significativa de FGF básico durante os primeiros dias de movimentação induzida contribuindo para o processo de dissipação da força

aplicada na medida em que a remodelação alveolar vai ocorrendo. Dessa forma, o FGF básico deve desempenhar importante função durante a terapia ortodôntica. Durante a movimentação ortodôntica dois processos são decisivos. Primeiramente, osteoclastos e seus precursores invadem o ligamento periodontal iniciando a reabsorção óssea (ROODMAN, 1991 e 1999). Secundariamente, hormônios, citocinas, fatores de crescimento e componentes da matriz, estimulam a diferenciação e recrutamento de mais osteoclastos (BRAIDMAN, ANDERSON, 1993; BATAILLE *et al.*, 1991) o que é fundamental para que ocorra o movimento dentário induzido. O FGF básico teria ação preponderante para que estes processos se estabeleçam de forma equilibrada.

À medida que o tempo de observação evolui, observa-se uma queda significativa na expressão de FGF básico no lado de pressão. Uma possibilidade para este fenômeno é que, com o tempo, há dissipação da força aplicada em decorrência da movimentação dentária. O número de células clásticas diminui consideravelmente, sendo, concomitantemente, estabelecida uma nova necessidade: a de recompor as estruturas de inserção. A recomposição do ligamento está associada ao aumento da expressão da citocina observada no terceiro grupo (catorze dias). Murakami *et al.* (1999), ao estudar a cicatrização de lesões no osso alveolar, observaram que o FGF básico acelera a regeneração do ligamento periodontal na fase tardia do reparo tecidual - um mecanismo que pode estar relacionado à promoção da angiogênese por esta citocina.

Zuo *et al.* (2004) estudaram os efeitos do FGF básico em osteoblastos e osteoclastos. Dentre os resultados obtidos, estes estudiosos concluíram que o FGF básico inibiu a reabsorção óssea pelos osteoclastos pré-diferenciados após cultura em medula óssea de rato. Afirmaram ainda que o mecanismo pelo qual o FGF básico inibe a reabsorção óssea ocasionada pela diferenciação completa dos

osteoclastos não envolve a redução do seu número. Ao invés disso, parece que a ação do FGF básico está voltada para a redução da atividade destas células. Um possível mecanismo para isso deve ser pela alteração da organização do citoesqueleto que impede a formação de estruturas actino-ligantes que são necessárias para atividades reabsortivas do tecido ósseo (WEIHING, KORN, 1971; KING, HOLTROP, 1975). Seus achados são consistentes com a atividade moduladora do FGF básico sobre a atividade de osteoclastos maduros, mas não influencia diretamente no processo de diferenciação de seus precursores. Neste estudo houve diferenças estatisticamente significativas na expressão de FGF básico durante os dias de movimentação induzida avaliados, variando sua expressão também nos lados de pressão e tensão.

No lado tensionado ocorreu um aumento gradativo do FGF básico nos três grupos estudados, compatível com os fenômenos de neoformação aí predominantes, de acordo com Shirazi *et al.* (2002) e KOHNO *et al.* (2003). No terceiro grupo, com catorze dias de aplicação de força ortodôntica, observaram-se fenômenos nítidos de regeneração do tecido periodontal e um valor expressivo na produção de FGF básico após análise morfométrica. Dado compatível com a capacidade que o FGF básico apresenta de acelerar e regular várias funções celulares do ligamento periodontal. O FGF básico é um importante fator de crescimento polipeptídico que desempenha importante quimiotaxia e mitogênese das células do ligamento periodontal (PALMON *et al.*, 2001), acelerando processos regenerativos (TERRANOVA *et al.*, 1989, MURAKAMI *et al.*, 1999).

Os resultados desse estudo evidenciam que a expressão do FGF básico, quando comparada aos níveis basais de expressão, está correlacionada aos eventos celulares observados na fase inicial da inflamação decorrente da força aplicada sobre a unidade dentária. A geração de um processo inflamatório agudo,

característico na movimentação ortodôntica (TONDER, 1983; LARA *et al.*, 1994; PERINETTI *et al.*, 2000), é comumente responsável pela secreção de FGF básico (SCHULZE-OSTOFF *et al.*, 1990).

No presente trabalho observa-se um acúmulo de pequenos vasos (Figura 19) que ocorre logo abaixo das áreas mencionadas sugestivo de proliferação vascular. A proliferação vascular também foi observada nos experimentos realizados por Rygh *et al.* (1986) e Vandevska-Radunovic *et al.* (1974). Na área de tensão é evidente a intensa atividade vascular dentro do ligamento periodontal e do osso alveolar, o que pode favorecer os processos regenerativos característicos desta região, conforme Kohno *et al.* (2003). Vários estudos têm sido feitos com o objetivo de elucidar a resposta vascular nos tecidos dentais de sustentação (NAKAMURA *et al.*, 1986, RYGH *et al.*, 1986, VANDEVSKA-RADUNOVIC, *et al.*, 1994). Sabe-se que a ativação vascular é um importante mediador para o processo de remodelação periodontal durante a movimentação ortodôntica. Dentre os estudos feitos, enfocando o processo de neovascularização, particular interesse tem sido dado às áreas de tensão e pressão com reabsorção óssea frontal.

Na área de pressão, ocorreu um aumento notável na expressão de VEGF, sendo em grande parte expresso pelo número elevado de osteoclastos. Kohno *et al.* (2003) sugerem que este fator de crescimento pode participar da função de remoção do tecido necrótico. A presença de maior suprimento sangüíneo na zona de tensão foi uma constante, sendo necessário, entretanto, uma análise quantitativa especificamente dessa condição encontrada neste experimento. Pesquisas evidenciam que a injeção de VEGF acelera o processo de diferenciação osteoclástica (KAKU *et al.*, 2001). Baseando-se nessa informação, o VEGF expresso nos osteoblastos no lado de tensão do periodonto submetido à movimentação experimental, pode participar da regulação do metabolismo ósseo e do seu reparo

durante a movimentação dentária induzida por acelerar a angiogênese na área de compressão.

Uma condição clínica praticamente inevitável é hipóxia gerada por isquemia no ligamento periodontal após aplicação de força ortodôntica (HARIK, HRITZ, LAMANNA, 1995), o que por si só já seria um estímulo para a expressão de VEGF (BANAI *et al.*, 1994; PEER *et al.*, 1995). Sendo este um estímulo fundamental que explicaria a grande expressão desta citocina, sobretudo no primeiro grupo observado. Os resultados desse estudo mostraram níveis de VEGF sendo expressos em maior quantidade do que os níveis basais encontrados. Baseando-se na informação de Zahid *et al.* (2005), que afirma que macrófagos e fibroblastos parecem ser atraídos para áreas com baixa oxigenação, pode-se supor que a expressão de VEGF na área de pressão está significativamente aumentada em um primeiro momento, em virtude da compressão do ligamento periodontal. À medida que a irrigação local se restabelece, desencadeada por mecanismos angiogênicos desempenhados, sobretudo, pelas células endoteliais, secretoras de VEGF, retornam os níveis normais de oxigenação local. Esse dado, por sua vez, explicaria a diminuição de VEGF num segundo tempo de avaliação, onde há caracteristicamente novos vasos ainda secretando VEGF, mas não mais ocorrem as células clásticas, características dos três primeiros dias de compressão do ligamento periodontal.

O nível de expressão de VEGF na zona de pressão, ao final dos catorze dias, volta a subir. Isso pode ser explicado pela evidência histológica de reorganização do tecido de sustentação. Concordando com esse achado, mas trabalhando com coelhos submetidos a exodontia, encontra-se o trabalho de Zahir *et al.* em 2005.

Kaku *et al.* (2001) investigaram se o VEGF recombinante estimularia a diferenciação de colônias de osteoclastos durante o movimento ortodôntico

experimental. Para isso, injetou VEGF recombinante no sulco gengival dos incisivos superiores de ratos e, após aplicação de força biomecânica, observou que o número de osteoclastos no lado de pressão foi marcadamente aumentado. Os autores, diante dos resultados obtidos, sugeriram que a administração local de VEGF recombinante pode aumentar o nível de movimentação dentária induzida por aplicação de força mecânica. De acordo com os achados desse estudo, observa-se que a expressão de VEGF é estimulada por aplicação de força mecânica. Sugere-se que essa citocina influencia no recrutamento de células clásticas, pois sabe-se que, além de ser um dos principais fatores que envolvidos no processo angiogênico, o VEGF também propicia o aumento da permeabilidade vascular (SENGER *et al.*, 1983). Esta característica, por sua vez, propicia o processo de *clearance* que ocorre no ligamento periodontal sob pressão. O VEGF, confirmando o que já foi relatado anteriormente, tem a habilidade de induzir a função osteoclástica, assim como a neovascularização. Resultados obtidos por Konho *et al.* (2003) também sugerem que o VEGF aumenta expressivamente, após estímulo mecânico, o número de osteoclastos como um fator parácrino e que a movimentação ortodôntica é acelerada tanto pelo VEGF endógeno quanto pelo VEGF recombinante. A utilização dessa citocina poderá futuramente ser muito útil na clínica ortodôntica.

No lado de tensão, onde a hipóxia não é condição característica, quando respeitada a condição biológica e magnitude de força, tal como ocorre no lado pressionado (PROFFIT, 2002), o aumento progressivo detectado das citocinas estudadas, nos três grupos, pode ser decorrente do predomínio de fenômenos de neoformação característicos desta área, de acordo com Ferreira em 2002. Desde 1972, Rygh investigou as trocas vasculares que ocorriam no ligamento periodontal durante os primeiros 30 minutos de aplicação de força ortodôntica até o vigésimo oitavo dia. Ele constatou que dentro das primeiras 24 horas uma oclusão total ou

parcial da circulação sangüínea local ocorria, seguida pela desintegração das paredes dos vasos e degradação das células sangüíneas vermelhas entre o segundo e terceiros dias. O processo regenerativo, com proliferação de novos elementos celulares e vasculares, foi predominante depois do sétimo dia. No lado de tensão, a atividade vascular foi descrita como moderada no primeiro dia e intensa no segundo dia, evidenciando-se o aumento do número de vasos sangüíneos (RYGH *et al.*, 1986).

Neste estudo, ocorreu variação na expressão de FGF básico e VEGF nos diferentes tempos avaliados, nos lados testados quando comparado ao controle. Resultado semelhante foi encontrado no trabalho feito por Zahid *et al.* (2005), variando em relação ao tempo de maior expressão das citocinas estudadas, sendo mais lento no trabalho dos autores em questão. Deve-se levar em consideração que o grau de dano tecidual e espécime animal também difere daquele empregado neste experimento. Os autores citados trabalharam com coelhos submetidos à exodontia. Avaliaram temporal e espacialmente a regeneração da área lesada. Porém, a forma de expressão do FGF básico sempre foi maior em relação ao VEGF e ambos aumentaram sua expressão e diminuíram de forma muito semelhante ao encontrado neste trabalho. Ao final do tempo de observação, no lado de pressão, tanto o FGF básico quanto o VEGF voltam a aumentar sua expressão. Essa condição pode ser decorrente de um maior número de fibroblastos ativos e também de células endoteliais. Nesta fase observam-se fibroblastos expressando ativamente as citocinas estudadas e se reorganizando no ligamento que estava comprimido.

Os níveis aparentemente aumentados de FGF básico em relação ao VEGF podem ser explicados sob três aspectos fundamentais. O primeiro deles, a remodelação dentária, é uma reação que envolve basicamente o tecido conjuntivo (ligamento periodontal e osso alveolar), estando as ações do FGF básico mais

direcionadas devido aos seus constituintes celulares. Uma segunda possibilidade é que as ações desempenhadas pelo VEGF estão ligadas mais diretamente aos processos de neovascularização do tecido de inserção. Além disto, uma terceira explicação possível, é o efeito de modulação positiva que o FGF básico exerce sobre o VEGF. O VEGF é um peptídeo que desempenha papel muito específico na angiogênese, enquanto que o FGF básico é um peptídeo com atividade pleiotrópica com ampla ação na angiogênese, fibroplasia e formação de matriz (ZAHID *et al.*, 2005).

Rabie e Lu (2004) investigaram a estimulação do FGF básico sobre a expressão de VEGF em experimento que envolvia a utilização de enxertos ósseos alogênicos e seu processo de cicatrização. A investigação tinha como objetivo identificar a expressão de VEGF na presença de FGF básico presente em uma matriz óssea intramembranosa durante o processo de cicatrização dos enxertos alogênicos colocados em defeitos ósseos artificialmente produzidos em mandíbulas de coelho. Após três semanas, as peças foram processadas histotecnica e seguiu-se imunohistoquímica e hibridização *in situ* para VEGF. Os resultados demonstraram que o FGF básico existente na membrana estimulou, de forma marcante, a expressão de VEGF na área enxertada. FGF básico amplifica a cicatrização da área enxertada devido a potencialização da vascularização obtida decorrente da modulação positiva induzida ao VEGF.

O conhecimento adquirido com esse estudo e a utilização dos princípios básicos sobre mecanismos moleculares que participam da biologia da movimentação ortodôntica pode ser útil para futuras investigações acerca dos níveis destas citocinas, os quais podem influenciar e interferir no processo de reorganização do tecido de suporte que acompanha o movimento dentário induzido.

7. CONCLUSÕES

Respeitadas as características do presente estudo, os resultados observados possibilitam as seguintes conclusões:

1. Ocorrem modificações importantes no periodonto das unidades submetidas à aplicação de força ortodôntica, predominando fenômenos de neoformação no lado de tensão e de destruição no lado de pressão, nos primeiros dias de aplicação de força;
2. A expressão de FGF básico e VEGF está aumentada durante a movimentação ortodôntica;
3. Os níveis de expressão variam ao longo do período da movimentação ortodôntica e se relacionam aos eventos de remodelação do ligamento periodontal;
4. O FGF básico alcança níveis mais elevados do que o VEGF sugerindo uma participação maior desta citocina na remodelação do ligamento periodontal;
5. A expressão destas citocinas, em menor escala, em áreas específicas dos controles sugere uma produção constitutiva por células do tecido dentário.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATTAL, U.; BLAUSHILD, N. *et al.* (2001). "Histomorphometric study of the periodontal vasculature during and after experimental tipping of the rat incisor." *Arch Oral Biol* 46(10): 891-900.
- AUERBACH, R.; AUERBACH, W.; POLAKOWSKI, I. (1991). "Assays for angiogenesis: a review." *Pharmacol Ther* 51(1): 1-11.
- BANAI, S.; SHWEIKI, D. *et al.* (1994). "Upregulation of vascular endothelial growth factor expression induced by myocardial ischaemia: implications for coronary angiogenesis." *Cardiovasc Res* 28(8): 1176-9.
- BATAILLE, R.; CHAPPARD, D. *et al.* (1991). "Recruitment of new osteoblasts and osteoclasts is the earliest critical event in the pathogenesis of human multiple myeloma." *J Clin Invest* 88(1): 62-6.
- BAUMRIND, S. e BUCK, D. L. (1970). "Rate changes in cell replication and protein synthesis in the periodontal ligament incident to tooth movement." *Am J Orthod* 57(2): 109-31.
- BERNICK, S. (1960). "Vascular supply to the developing teeth of rats." *Anat Rec* 137: 141-51.
- BERTOLINI, D. R.; NEDWIN, G. E.; BRINGMAN, T. S.; SMITH, D. D.; MUNDY, G. R. (1986). "Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors." *Nature* 319(6053): 516-8.
- BRAIDMAN, I. P. e ANDERSON, D. C. (1993). "Role of bone matrix in osteoclast recruitment in cultured fetal rat calvariae." *J Bone Miner Res* 8(2): 231-8.
- BREY, E. M.; KING, T. W. *et al.* (2002). "A technique for quantitative three-dimensional analysis of microvascular structure." *Microvasc Res* 63(3): 279-94.
- BREY, E. M.; LALANI, Z. *et al.* (2003). "Automated selection of DAB-labeled tissue for immunohistochemical quantification." *J Histochem Cytochem* 51(5): 575-84.
- BRODIN, P.; LINGE, L. *et al.* (1996). "Instant assessment of pulpal blood flow after orthodontic force application." *J Orofac Orthop* 57(5): 306-9.
- BROGI, E.; WU, T.; NAMIKI, A.; ISNER, J. M. (1994). "Indirect angiogenic cytokines up regulate VEGF and bFGF gene expression in vascular smooth muscle cells, whereas hypoxia upregulates VEGF expression only." *Circulation* 90(2): 649-52.
- BRUDVIK, P. e RYGH, P. (1993). "Non-clast cells start orthodontic root resorption in the periphery of hyalinized zones." *Eur J Orthod* 15(6): 467-80.
- BRUDVIK, P. e RYGH, P. (1991). "Root resorption after local injection of prostaglandin E2 during experimental tooth movement." *Eur J Orthod* 13(4): 255-63.

- CANALIS, E.; VARGHESE, S. *et al.* (1992). "Role of platelet derived growth factor in bone cell function." *Growth Regul* 2(4): 151-5.
- CHO, M. I. e GARANT, P. R. (2000). "Development and general structure of the periodontium." *Periodontol* 2000 24: 9-27.
- COCCIA, P. F.; KRIVIT, W.; CERVENKA, J.; CLAWSON, C.; KERSEY, J. H.; KIM, T. H.; NESBIT, M. E.; RAMSAY, N. K.; WARKENTIN, P. I.; TEITELBAUM, S. L.; KAHN, A. J.; BROWN, D. M. (1980). "Successful bone-marrow transplantation for infantile malignant osteopetrosis." *N Engl J Med* 302(13): 701-8.
- CONN, G.; SODERMAN, D. D.; SCHAEFFER, M. T.; WILE, M.; HATCHER, V. B.; THOMAS, K. A. (1990). "Purification of a glycoprotein vascular endothelial cell mitogen from a rat glioma-derived cell line." *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(4): 1323-7.
- COOPER, S. M. e SIMS, M. R. (1989). "Evidence of acute inflammation in the periodontal ligament subsequent to orthodontic tooth movement in rats." *Aust Orthod J* 11(2): 107-9.
- DAVIDOVITCH, Z. (1991). "Tooth movement." *Crit Rev Oral Biol Med* 2(4): 411-50.
- DAVIDOVITCH, Z.; NICOLAY, O. F. *et al.* (1988). "Neurotransmitters, cytokines, and the control of alveolar bone remodeling in orthodontics." *Dent Clin North Am* 32(3): 411-35.
- DETMAR, M.; BROWN, L. F.; BERSE, B.; JACKMAN, R. W.; ELICKER, B. M.; DVORAK, H. F.; CLAFFEY, K. P. (1997). "Hypoxia regulates the expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) and its receptors in human skin." *J Invest Dermatol* 108(3): 263-8.
- DVORAK, H. F.; DETMAR, M.; CLAFFEY, K. P.; NAGY, J. A.; VAN DE WATER, L. SENGGER, D. R. (1995-A). "Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: an important mediator of angiogenesis in malignancy and inflammation." *Int Arch Allergy Immunol* 107(1-3): 233-5.
- DVORAK, H. F.; BROWN, L. F.; DETMAR, M.; DVORAK, A. M. (1995-B). "Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis." *Am J Pathol* 146(5): 1029-39.
- ENGSTROM, C.; GRANSTROM, G. *et al.* (1988). "Effect of orthodontic force on periodontal tissue metabolism. A histologic and biochemical study in normal and hypocalcemic young rats." *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 93(6): 486-95.
- FERRARA, N.; HOUCK, K. A.; JAKEMAN, L. B.; WINER, J.; LEUNG, D. W. (1991). "The vascular endothelial growth factor family of polypeptides." *J Cell Biochem* 47(3): 211-8.
- FOLKMAN, J. e M. KLAGSBRUN, M. (1987-A). "Angiogenic factors." *Science* 235(4787): 442-7.

FOLKMAN, J. e KLAGSBRUN, M. (1987-B). "Vascular physiology. A family of angiogenic peptides." *Nature* 329(6141): 671-2.

FOLKMAN, J. e SHING, Y. (1992). "Angiogenesis." *J Biol Chem* 267(16): 10931-4.

FOLKMAN, J. (1995). "Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease." *Nat Med* 1(1): 27-31.

GAENGLER, P. e MERTE, K. (1983). "Effects of force application on periodontal blood circulation. A vital microscopic study in rats." *J Periodontal Res* 18(1): 86-92.

GAGLIARDI, A. R.; HENNIG, B.; COLLINS, D. C. (1996). "Antiestrogens inhibit endothelial cell growth stimulated by angiogenic growth factors." *Anticancer Res* 16(3A): 1101-6.

GOEDE, V.; SCHMIDT, T.; KIMMINA, S.; KOZIAN, D.; AUGUSTIN, H. G. (1998). "Analysis of blood vessel maturation processes during cyclic ovarian angiogenesis." *Lab Invest* 78(11): 1385-94.

GOSPODAROWICZ, D. (1989). "Expression and control of vascular endothelial cells: proliferation and differentiation by fibroblast growth factors." *J Invest Dermatol* 93(2 Suppl): 39S-47S.

GOSPODAROWICZ, D.; ABRAHAM, J. A.; SCHILLING, J. (1989). "Isolation and characterization of a vascular endothelial cell mitogen produced by pituitary-derived folliculo stellate cells." *Proc Natl Acad Sci U S A* 86(19): 7311-5.

GRIEVE, W. G., 3rd; JOHNSON, G. K. et al. (1994). "Prostaglandin E (PGE) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) levels in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement." *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 105(4): 369-74.

GRIMM, F. M. (1972). "Bone bending, a feature of orthodontic tooth movement." *Am J Orthod* 62(4): 384-93.

GUEVARA, M. J. e McCLUGAGE, S. G. Jr. (1980). "Effects of intrusive forces upon the microvasculature of the dental pulp." *Angle Orthod* 50(2): 129-34.

HAMERSKY, P. A.; WEIMER, A. D. *et al.* (1980). "The effect of orthodontic force application on the pulpal tissue respiration rate in the human premolar." *Am J Orthod* 77(4): 368-78.

HARADA, S.; NAGY, J. A.; SULLIVAN, K. A.; THOMAS, K. A.; ENDO, N.; RODAN, G. A.; RODAN, S. B. (1994). "Induction of vascular endothelial growth factor expression by prostaglandin E2 and E1 in osteoblasts." *J Clin Invest* 93(6): 2490-6.

HELLER, I. J. e NANDA, R. (1979). "Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontic tooth movement. An experimental study." *Am J Orthod* 75(3): 239-58.

HELLSING, E. e HAMMARSTROM, L. (1996). "The hyaline zone and associated root surface changes in experimental orthodontics in rats: a light and scanning electron microscope study." *Eur J Orthod* 18(1): 11-8.

HUGHES, S. E. (1997). "Differential expression of the fibroblast growth factor receptor (FGFR) multigene family in normal human adult tissues." *J Histochem Cytochem* 45(7): 1005-19.

ICHIKI, Y.; SMITH, E. A.; LEROY, E. C.; TROJANOWSKA, M. (1997). "Basic fibroblast growth factor inhibits basal and transforming growth factor-beta induced collagen alpha 2(I) gene expression in scleroderma and normal fibroblasts." *J Rheumatol* 24(1): 90-5.

KAKU, M.; KOHNO, S.; KAWATA, T.; FUJITA, I.; TOKIMASA, C.; TSUTSUI, K.; TANNE, K. (2001). "Effects of vascular endothelial growth factor on osteoclast induction during tooth movement in mice." *J Dent Res* 80(10): 1880-3.

KING, G. J. e HOLTROP, M. E. (1975). "Actin-like filaments in bone cells of cultured mouse calvaria as demonstrated by binding to heavy meromyosin." *J Cell Biol* 66(2): 445-51.

KING, G. J.; KEELING, S. D. *et al.* (1994). "Histomorphometric study of alveolar bone turnover in orthodontic tooth movement." *Bone* 12(6): 401-9.

KOHN, S.; NAGY, J. A.; DVORAK, H. F.; DVORAK, A. M. (1992). "Pathways of macromolecular tracer transport across venules and small veins. Structural basis for the hyperpermeability of tumor blood vessels." *Lab Invest* 67(5): 596-607.

KOHN, S.; KAKU, M.; TSUTSUI, K.; MOTOKAWA, M.; OHTANI, J.; TENJO, K.; TOHMA, Y.; TOKIMASA, C.; FUJITA, T.; KAWATA, T.; TANNE, K. (2003). "Expression of vascular endothelial growth factor and the effects on bone remodeling during experimental tooth movement." *J Dent Res* 82(3): 177-82.

KOHN, T.; MATSUMOTO, Y. *et al.* (2002). "Experimental tooth movement under light orthodontic forces: rates of tooth movement and changes of the periodontium." *J Orthod* 29(2): 129-35.

KVINNSLAND, S.; HEYERAAS, K. *et al.* (1989). "Effect of experimental tooth movement on periodontal and pulpal blood flow." *Eur J Orthod* 11(3): 200-5.

LARA, V. S.; FIGUEIREDO, F. *et al.* (2003). "Dentin-induced in vivo inflammatory response and in vitro activation of murine macrophages." *J Dent Res* 82(6): 460-5.

LEW, K. K. (1989). "Orthodontically induced microvascular injuries in the tension zone of the periodontal ligament." *J Nihon Univ Sch Dent* 31(3): 493-501.

LILJA, E.; LINDSKOG, S.; HAMMARSTROM, L. (1983). "Histochemistry of enzymes associated with tissue degradation incident to orthodontic tooth movement." *Am J Orthod* 83(1): 62-75.

MAGLIONE, D.; GUERRIERO, V.; VIGLIETTO, G.; DELLI-BOVI, P.; PERSICO, M. G. (1991). "Isolation of a human placenta cDNA coding for a protein related to the vascular permeability factor." *Proc Natl Acad Sci U S A* 88(20): 9267-71.

MAJEWSKI, S.; MARCZAK, M.; SZMURLO, A.; JABLONSKA, S.; BOLLAG, W. (1996). "Interleukin-12 inhibits angiogenesis induced by human tumor cell lines in vivo." *J Invest Dermatol* 106(5): 1114-8.

MELSEN, B. (2001). "Tissue reaction to orthodontic tooth movement--a new paradigm." *Eur J Orthod* 23(6): 671-81.

MIDDLETON, J.; NEIL, S.; WINTLE, J.; CLARK-LEWIS, I.; MOORE, H.; LAM, C.; AUER, M.; HUB, E.; ROT, A. (1997). "Transcytosis and surface presentation of IL-8 by venular endothelial cells." *Cell* 91(3): 385-95.; KITAMURA, M.; NOZAKI, T.;

TERASHIMA, A.; ASANO, T.; OKADA, H. (1999). "Regeneration of periodontal tissues by basic fibroblast growth factor." *J Periodontal Res* 34(7): 425-30.

MURAKAMI, S.; TAKAYAMA, S. *et al.* (1999). "Regeneration of periodontal tissues by basic fibroblast growth factor." *J Periodontal Res* 34(7): 425-30.

NABEL, E. G.; YANG, Z. Y.; PLAUTZ, G.; FOROUGH, R.; ZHAN, X.; HAUDENSCHILD, C. C.; MACIAG, T.; NABEL, G. J. (1993). "Recombinant fibroblast growth factor-1 promotes intimal hyperplasia and angiogenesis in arteries in vivo." *Nature* 362(6423): 844-6.

NAKAMURA, M.; NAKAMURA, T. K. *et al.* (1986). "Vascular changes in the pressure zones of rat molar periodontium following orthodontic tooth movement." *Nippon Kyosei Shika Gakkai Zasshi* 45(1): 126-34.

OGAWA, T.; ISHII, N. *et al.* (2002). "Changes in response properties of periodontal mechanoreceptors during tooth movement in rats." *J Med Dent Sci* 49(3): 95-101.

PALMON, A.; ROOS, H.; REICHENBERG, E.; GROSSKOP, A.; BAR KANA, I.; PITARU, S.; REDLICH, M. (2001). "Basic fibroblast growth factor suppresses tropoelastin gene expression in cultured human periodontal fibroblasts." *J Periodontal Res* 36(2): 65-70.

PE'ER, J.; SHWEIKI, D. *et al.* (1995). "Hypoxia-induced expression of vascular endothelial growth factor by retinal cells is a common factor in neovascularizing ocular diseases." *Lab Invest* 72(6): 638-45.

PEPPER, M. S.; BELIN, D.; MONTESANO, R.; ORCI, L.; VASSALLI, J. D. (1990). "Transforming growth factor-beta 1 modulates basic fibroblast growth factor-induced proteolytic and angiogenic properties of endothelial cells in vitro." *J Cell Biol* 111(2): 743-55.

PEPPER, M. S.; FERRARA, N.; ORCI, L.; MONTESANO, R. (1992). "Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro." *Biochem Biophys Res Commun* 189(2): 824-31.

PERINETTI, G.; PAOLANTONIO, M. *et al.* (2002). "Alkaline phosphatase activity in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement." *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 122(5): 548-56.

PERTOVAARA, L.; KAIPAINEN, A.; MUSTONEN, T.; ORPANA, A.; FERRARA, N.; SAKSELA, O.; ALITALO, K. (1994). "Vascular endothelial growth factor is induced in response to transforming growth factor-beta in fibroblastic and epithelial cells." *J Biol Chem* 269(9): 6271-4.

PLATE, K. H.; BREIER, G.; RISAU, W. (1994). "Molecular mechanisms of developmental and tumor angiogenesis." *Brain Pathol* 4(3): 207-18.

RABIE, A. B. e LU, M. (2004). "Basic fibroblast growth factor up-regulates the expression of vascular endothelial growth factor during healing of allogeneic bone graft." *Arch Oral Biol* 49(12): 1025-33.

REITAN, K. (1951). "The initial tissue reaction incident to orthodontic tooth movement as related to the influence of function; an experimental histologic study on animal and human material." *Acta Odontol Scand Suppl* 6: 1-240.

REITAN, K. (1974). "Initial tissue behavior during apical root resorption." *Angle Orthod* 44(1): 68-82.

REITAN, K. e KVAM, E. (1971). "Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement." *Angle Orthod* 41(1): 1-14.

REITAN, K. e KVAM, E. (1971). "Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement." *Angle Orthod* 41(1): 1-14.

REN, Y.; MALTHA, J. C. *et al.* (2002). "Cytokine levels in crevicular fluid are less responsive to orthodontic force in adults than in juveniles." *J Clin Periodontol* 29(8): 757-62.

RODY, W. J., Jr.; KING, G. J. *et al.* (2001). "Osteoclast recruitment to sites of compression in orthodontic tooth movement." *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 120(5): 477-89.

ROODMAN, G. D. (1991). "Osteoclast differentiation." *Crit Rev Oral Biol Med* 2(3): 389-409.

ROODMAN, G. D. (1999). "Cell biology of the osteoclast." *Exp Hematol* 27(8): 1229-41.

RYGH, P. (1974). "Elimination of hyalinized periodontal tissues associated with orthodontic tooth movement." *Scand J Dent Res* 82(1): 57-73.

RYGH, P. (1972-A). "Ultrastructural cellular reactions in pressure zones of rat molar periodontium incident to orthodontic tooth movement." *Acta Odontol Scand* 30(5): 575-93.

RYGH, P. (1972-B). "Ultrastructural vascular changes in pressure zones of rat molar periodontium incident to orthodontic movement." *Scand J Dent Res* 80(4): 307-21.

RYGH, P.; BOWLING, K.; HOVLANDSDAL, L.; WILLIAMS, S. (1986). "Activation of the vascular system: a main mediator of periodontal fiber remodeling in orthodontic tooth movement." *Am J Orthod* 89(6): 453-68.

RYGH, P. (1976). "Ultrastructural changes in tension zones of rat molar periodontium incident to orthodontic tooth movement." *Am J Orthod* 70(3): 269-81.

RYGH, P. (1977). "Orthodontic root resorption studied by electron microscopy." *Angle Orthod* 47(1): 1-16.

SAADEH, P. B.; MEHRARA, B. J.; STEINBRECH, D. S.; DUDZIAK, M. E.; GREENWALD, J. A.; LUCHS, J. S.; SPECTOR, J. A.; UENO, H.; GITTES, G. K.; LONGAKER, M. T. (1999). "Transforming growth factor-beta1 modulates the expression of vascular endothelial growth factor by osteoblasts." *Am J Physiol* 277(4 Pt 1): C628-37.

SALO, J.; LEHENKARI, P. *et al.* (1997). "Removal of osteoclast bone resorption products by transcytosis." *Science* 276(5310): 270-3.

SANDY, J. R. (1992). "Tooth eruption and orthodontic movement." *Br Dent J* 172(4): 141-9.

SANDY, J. R. (1993). "DNA changes in mechanically deformed osteoblasts: a new hypothesis." *Br J Orthod* 20(1): 1-11.

SCHULZE-OSTHOFF, K.; RISAU, W.; VOLLMER, E.; SORG, C. (1990). "In situ detection of basic fibroblast growth factor by highly specific antibodies." *Am J Pathol* 137(1): 85-92.

SENGER, D. R.; GALLI, S. J.; DVORAK, A. M.; PERRUZZI, C. A.; HARVEY, V. S.; DVORAK, H. F. (1983). "Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid." *Science* 219(4587): 983-5.

SHIRAZI, M.; NILFOROUSHAN, D. *et al.* (2002). "The role of nitric oxide in orthodontic tooth movement in rats." *Angle Orthod* 72(3): 211-5.

SHWEIKI, D.; ITIN, A.; SOFFER, D.; KESHET, E. (1992). "Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis." *Nature* 359(6398): 843-5.

STENVIK, A. e MJOR, I. A. (1970). "Pulp and dentine reactions to experimental tooth intrusion. A histologic study of the initial changes." *Am J Orthod* 57(4): 370-85.

STOREY, E. (1973). "The nature of tooth movement." *Am J Orthod* 63(3): 292-314.

TANG, M. P.; SIMS, M. R. *et al.* (1993). "Evidence for endothelial junctions acting as a fluid flux pathway in tensioned periodontal ligament." *Arch Oral Biol* 38(3): 273-6.

TAJIMA, S. e IZUMI, T. (1996). "Differential in vitro responses of elastin expression to basic fibroblast growth factor and transforming growth factor beta 1 in upper, middle and lower dermal fibroblasts." *Arch Dermatol Res* 288(12): 753-6.

TAKAYAMA, S.; MURAKAMI, S.; MIKI, Y.; IKEZAWA, K.; TASAKA, S.; TERASHIMA, A.; ASANO, T.; OKADA, H. (1997). "Effects of basic fibroblast growth factor on human periodontal ligament cells." *J Periodontal Res* 32(8): 667-75.

TERRANOVA, V. P.; ODZIEMIEC, C.; TWEDEN, K. S.; SPADONE, D. P. (1989). "Repopulation of dentin surfaces by periodontal ligament cells and endothelial cells. Effect of basic fibroblast growth factor." *J Periodontol* 60(6): 293-301.

TONDER, K. J. (1983). "Vascular reactions in the dental pulp during inflammation." *Acta Odontol Scand* 41(4): 247-56.

TSUKADA, H.; ISHIKAWA, H. *et al.* (2000). "Developmental changes of the vasculature in the periodontal ligament of rat molars: a scanning electron microscopic study of microcorrosion casts." *J Periodontal Res* 35(4): 201-7.

TURNER, H.; RUBEN, M. P. *et al.* (1969). "Visualization of the microcirculation of the periodontium." *J Periodontol* 40(4): 222-30.

VANDEVSKA-RADUNOVIC, V. (1999). "Neural modulation of inflammatory reactions in dental tissues incident to orthodontic tooth movement. A review of the literature." *Eur J Orthod* 21(3): 231-47.

VANDEVSKA-RADUNOVIC, V.; KRISTIANSEN, A. B. *et al.* (1994). "Changes in blood circulation in teeth and supporting tissues incident to experimental tooth movement." *Eur J Orthod* 16(5): 361-9.

VILLASCHI, S. e NICOSIA, R. F. (1993). "Angiogenic role of endogenous basic fibroblast growth factor released by rat aorta after injury." *Am J Pathol* 143(1): 181-90.

VOEST, E. E.; KENYON, B. M.; O'REILLY, M. S.; TRUITT, G.; D'AMATO, R. J.; FOLKMAN, J. (1995). "Inhibition of angiogenesis in vivo by interleukin 12." *J Natl Cancer Inst* 87(8): 581-6.

WONG, M. E.; J. O., HOLLINGER, *et al.* (1996). "Integrated processes responsible for soft tissue healing." *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 82(5): 475-92.

ZENGO, A. N.; R. J. PAWLUK, *et al.* (1973). "Stress-induced bioelectric potentials in the dentoalveolar complex." *Am J Orthod* 64(1): 17-27.

ZUO, J.; J. JIANG, *et al.* (2004). "Effects of basic fibroblast growth factor on osteoclasts and osteoclast-like cells." *Biochem Biophys Res Commun* 318(1): 162-7.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)