

**KARIME SAAD**

**EFEITO DA PINEALECTOMIA NA REMODELAÇÃO DO OSSO  
ALVEOLAR DE RATOS SUBMETIDOS À MOVIMENTAÇÃO  
ORTODÔNTICA**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação  
em Patologia, área de concentração: Patologia  
Geral, da Universidade Federal do Triângulo  
Mineiro, como requisito parcial para obtenção  
do Título de Doutor.

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ CARLOS DOS REIS  
CO-ORIENTADORA: PROFA. DRA. VIRGÍNIA OLIVEIRA CREMA

Uberaba - MG, 2007

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela graça da existência, por ser meu pai, por me conduzir, guardar e iluminar!

Agradeço de forma muito especial, o Prof. Dr. Luiz Carlos dos Reis, meu orientador, por me aceitar, confiar em mim, por sua dedicação, disposição, pela amizade e por sua competência e orientação na realização deste trabalho.

À Profª. Dra. Virgínia Oliveira Crema, por seu profissionalismo e exemplo como pesquisadora, por ter acreditado na minha capacidade e realização deste estudo, com muita paciência e dedicação como co-orientadora, que se tornou grande amiga.

À Química do laboratório de Histologia Aparecida de Oliveira Tito, pelo ensinamento e dedicação de confecções de lâminas histológicas.

Aos professores do Departamento de Fisiologia da UFTM pela acolhida e atenção a mim dispensada.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia da UFTM pela colaboração na realização deste trabalho.

Ao Departamento de Patologia Especial, sob a chefia da Profª. Dra. Sheila Jorge Adad, pela oportunidade oferecida da utilização do sistema de captura de imagens da Disciplina de Patologia Especial da UFTM para realização deste trabalho.

À Sheila Adad, por permitir livre acesso ao seu laboratório possibilitando realizar parte da pesquisa.

À Técnica de Laboratório Jucélia Ribeiro Torres pela colaboração na confecção das lâminas

Aos colegas do laboratório de Histologia Rodolfo, Leonor e Nanci, obrigada pela agradável convivência.

À Vanessa Capuano, pelos momentos de motivação e superação de todos os obstáculos enfrentados na realização deste trabalho.

Aos colegas do Departamento de Fisiologia pela amizade e troca de experiências valorosas para a realização deste trabalho.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## **1. INTRODUÇÃO**

## **1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS**

A melatonina participa de vários processos fisiológicos, como: indução de sono, regulação da atividade gastrointestinal, funções imunológicas, cardiovascular, renal, reprodutora e ossos. Tem sido associada com a diferenciação osteoblástica, mineralização da matriz óssea. A produção desse hormônio reduz com o avançar da idade.

Além das implicações estéticas, o uso de aparelhos ortodônticos é importante para corrigir a má-oclusão, que pode gerar lesões na articulação têmporo-mandibular. O tratamento ortodôntico é baseado na aplicação de forças para a movimentação dentária, os estímulos gerados resultam na remodelação óssea. Atualmente, são realizados tratamentos ortodônticos independentemente da idade do indivíduo.

Embora existam estudos sobre a ação da melatonina no tecido ósseo, o papel funcional deste hormônio na remodelação óssea do periodonto em resposta aos estímulos gerados pelo aparelho ortodôntico ainda não é conhecido.

## 1.2. MELATONINA

A melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) é uma indolamina, derivada do aminoácido triptofano, tendo ainda como intermediário metabólico a serotonina. Foi o primeiro composto biologicamente ativo identificado na glândula pineal. Nos mamíferos, também é produzida pela retina e trato gastrointestinal. A melatonina é secretada em grande quantidade durante a noite, sendo que a luminosidade reduz sua produção (SILMAN; LEONE; HOOPER, 1979; REITER *et al.*, 2007).

A melatonina é solúvel em água e também em lipídeos, uma rara ocorrência na natureza, portanto, pode atuar em todas as partes das células. Outra característica desse hormônio é que ele atravessa as barreiras hemato-encefálica e placentária com facilidade, e é encontrado no núcleo celular formando associação com o DNA (HARDELAND; PANDI-PERUMAL, 2005).

A glândula pineal é um pequeno órgão mediano no cérebro, localizado abaixo do esplênio do corpo caloso com cerca de oito milímetros de comprimento. Diferente das outras glândulas, a regulação de sua secreção não é influenciada por hormônios secretados por outras glândulas ou tecidos. Sua síntese é controlada pelo núcleo supraquiasmático (NSQ), situado no hipotálamo, que constitui o relógio biológico mestre no organismo dos mamíferos, sincronizando a produção de melatonina com o ciclo claro/escuro (dia/noite) ambiental (SKENE; ARENDT, 2006).

A pineal pode ser considerada um órgão final de informação visual de luminosidade: as fibras nervosas da retina captam a luminosidade do ambiente e transmitem essa informação para o NSQ (através do trato retino-hipotalâmico), que por sua vez envia a informação até a pineal atuando em neurônios da coluna intermédia lateral da medula espinhal cervical, que atingem a pineal como fibras do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) simpático (HARDELAND; PANDI-PERUMAL; CARDINALLI, 2006).

Durante o dia o fluxo desta inervação simpática à pineal é baixo e a síntese de melatonina está reduzida. A partir do início do período escuro ocorre a ativação destas vias simpáticas que liberam noradrenalina (NA) e, através dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos nos pinealócitos, ativa a proteína cinase A, que aumenta a síntese de adenosina monofosfato cíclico (AMPC). Este por sua vez, ativa a N-acetiltransferase (NAT) que é uma enzima chave no processo de síntese de melatonina (MACCHI; BRUCE, 2004).

A atividade da pineal diminui com a idade, sugerindo que uma série de eventos biológicos ligados ao envelhecer pode ser relacionada com a diminuição da produção de melatonina. Outros aspectos funcionais da melatonina incluem sua ação como modulador do sistema imune, influência sobre a reprodução (ação antigonadotrófica), ação no tecido ósseo e um potente efeito antioxidante. A melatonina tem a capacidade de ativar mecanismos de eliminação de radicais livres e funcionar diretamente como agente antioxidante. Diante desses fatos existe a hipótese de que a melatonina poderia proteger as células removendo radicais livres como a hidroxila e o peroxinitrito e, na sua falta, ocorreriam lesões celulares e o processo de envelhecimento orgânico seria facilitado (REITER, 1996; REITER *et al.*, 2003; SOFIC *et al.*, 2005; REITER *et al.*, 2007).

O estudo da influência da melatonina sobre o tecido ósseo tem sido feito há certo tempo, com objetivo de esclarecer fatos como a escoliose (curvatura lateral da coluna vertebral) em humanos. Estudos relataram valores séricos de melatonina significativamente mais baixos em adolescentes com escoliose idiopática, sugerindo que a diminuição da concentração desse hormônio pode estar envolvida na patogênese da escoliose (HILIBRAND *et al.*, 1996; MACHIDA *et al.* 1996; SADAT-ALI; al-HABDAN; al-OTHMAN, 2000; GRIVAS; SAVVIDOU, 2007).

Estudos realizados por O'KELLY *et al.* (1999) em frangos, ratos e hamsters, demonstraram o desenvolvimento de escoliose em frangos após pinealectomia mas não

verificaram o mesmo efeito em ratos ou hamsters, sugerindo assim que o fator postural (posição bípede) é determinante para o desenvolvimento da doença. Recentemente foi demonstrado que em situação de manutenção de uma postura bípede, é possível provocar o aparecimento de escoliose pela pinealectomia e impedir seu desenvolvimento com a reposição hormonal de MLT (BAGNALL *et al.*, 1999; MACHIDA; DUBOUSSET; SATOH, 2001; MACHIDA *et al.*, 2005).

Foi demonstrado *in vitro* que células ósseas de ratos expostas a pequenas concentrações de melatonina expressam genes de algumas proteínas marcadoras ósseas, como a fosfatase alcalina, osteocalcina e osteopontina. Além disso, a melatonina é capaz de promover diferenciação de pré-osteoblastos em osteoblastos, ativar a produção de pré-colágeno tipo I por células ósseas humanas e ativar a mineralização da matriz extracelular, sugerindo sua participação na regulação do metabolismo ósseo (ROTH *et al.*, 1999; NAKADE *et al.*, 1999; OSTROWSKA *et al.*, 2003; CARDINALI, 2003; CUTANDO *et al.*, 2007).

Em ratos, a melatonina pode ter um papel antioxidante sobre o tecido ósseo, removendo o peroxinitrito, um oxidante tóxico formado da reação de superóxido e óxido nítrico. Desse modo, pode exercer um efeito estimulador sobre os osteoclastos, acelerando a reabsorção óssea (RALSTON *et al.*, 1995; GILAD *et al.*, 1997; SATOMURA *et al.*, 2007). Em camundongos, a administração de melatonina causou a expressão de osteoprotegerina (OPG) e impediu a expressão de RANK-L *in vitro*, inibindo a reabsorção óssea e aumentando a massa óssea (KOYAMA *et al.*, 2002).

Em estudo prévio em nosso laboratório, demonstramos que a pinealectomia reduz a espessura da tábua óssea e do disco epifisário da tíbia de ratos Wistar em fase de desenvolvimento ósseo (SAAD; DOS REIS, 2004).



### 1.3. PERIODONTO DE INSERÇÃO

O tecido ao redor dos dentes é denominado periodonto e subdividido em periodonto marginal ou de proteção e periodonto de sustentação ou de inserção. O periodonto de proteção ou marginal é composto pela gengiva livre, gengiva inserida e gengiva interdentária. O periodonto de sustentação é constituído pelo osso alveolar, ligamento periodontal e cemento. Sua função é fixar os dentes nos ossos da maxila e mandíbula. Além disso, funciona como um sistema para amortecimento das forças mastigatórias para evitar a fratura dos tecidos mineralizados do dente (KATCHBURIAN; ARANA, 2004).

O dente é constituído por esmalte e complexo dentina-polpa. O esmalte é um tecido epitelial acelular mineralizado, durante sua formação (amelogênese), os ameloblastos secretam a matriz orgânica composta por proteínas amelogeninas e não-amelogeninas. Posteriormente, na fase de maturação ocorre substituição dessa matriz por uma matriz inorgânica mineralizada. Sua matriz é constituída: 97% por cálcio na forma hidroxiapatita, flúor, potássio, fósforo e magnésio; 1% de componentes orgânicos e 2% água. O percentual de componentes inorgânicos na constituição do esmalte maduro torna o tecido mais duro do organismo e, por isso, extremamente friável (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O complexo dentina-polpa é formado por tecido conjuntivo mineralizado e não mineralizado, respectivamente. A formação da dentina (dentinogênese) é um processo biológico que inicia na odontogênese (dentina primária) e continua durante toda a vida (dentina secundária). Os odontoblastos, localizados na polpa dentária, secretam os componentes orgânicos (pré-dentina). Sua matriz extracelular é constituída por: colágeno tipo I (90%), III e V; fosforinas, fosfoproteínas, sialoproteínas dentinárias, proteínas morfogenéticas dentinárias, osteocalcina e osteonectina. Posteriormente, vesículas originárias dos odontoblastos formam centros de nucleação para o processo de biomineralização (TEN CATE, 2001).

### 1.3.1. OSSO ALVEOLAR

Os processos alveolares correspondem à zona dos ossos maxilar e mandibular, que contém os alvéolos dentários onde se inserem os dentes. Em mamíferos, o maxilar é a estrutura da região frontal do crânio que suporta os dentes superiores e forma uma parte do palato, da cavidade nasal e da órbita. É formada por dois ossos geminados, denominados maxilas, que, articulam-se entre si nas extremidades rostrais (na linha média) em sínfise (fixa) e, nas restantes superfícies recebe os ossos nasais, palatino, etmóide, frontal e, nas regiões laterais, com os zigomas (KATCHBURIAN; ARANA, 2004).

A parte da maxila e da mandíbula que constitui o sistema de ancoragem do dente no alvéolo, juntamente com o ligamento periodontal e o cimento, é denominado osso alveolar. O osso alveolar apresenta dois componentes: o osso alveolar propriamente dito (uma delgada lâmina óssea localizada imediatamente lateral ao ligamento periodontal) e o processo alveolar que é contínuo a ele (KATCHBURIAN; ARANA, 2004).

Os processos alveolares desenvolvem-se em conjunto com o desenvolvimento e erupção dos dentes e são gradativamente reabsorvidos com a perda dos dentes. Assim, os processos alveolares são estruturas dependentes dos dentes. Em conjunto com o cimento radicular e as fibras do ligamento periodontal, o osso alveolar constitui os tecidos de sustentação dos dentes e distribui as forças geradas durante a mastigação e outras formas de contato entre os dentes (VIGNERY; BARON, 1980).

O osso que recobre as superfícies radiculares é consideravelmente mais grosso na parte palatina do que na parte bucal ou vestibular da maxila. As paredes dos alvéolos são revestidas por osso compacto que na região interproximal está em relação com o osso esponjoso. O osso esponjoso contém trabéculas ósseas cujo tamanho e arquitetura são em parte, determinados geneticamente, e de outra parte são o resultado das forças a que os dentes estão expostos durante a função (VIGNERY; BARON, 1980).

A estrutura óssea é formada, mantida e remodelada pela ação de três células principais, osteoblastos, osteoclastos e osteócitos. Essas células estão presentes na superfície das trabéculas ósseas do osso esponjoso, superfícies externa e interna do osso cortical e inseridos no próprio osso. Os osteoblastos produzem a matriz (osteóide) que sofre posterior calcificação. Durante o processo de maturação e calcificação do osteóide, alguns osteoblastos são aprisionados transformando-se em osteócitos. Os osteócitos alojados nas lacunas do osso calcificado ligam-se entre si e com osteoblastos da superfície óssea por meio de prolongamentos citoplasmáticos que estão presentes em canaliculos. Os osteoclastos estão nas superfícies ósseas e desfazem o material ósseo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Os osteoblastos são as células responsáveis pela síntese de matriz orgânica de osso. São derivados de células osteoprogenitoras ou osteogênicas que se diferenciam em osteoblastos, e quando aprisionados na matriz óssea são denominados osteócitos. Diversas proteínas, os fatores de crescimento, atraem as células osteoprogenitoras e dirigem a sua diferenciação em osteoblastos (DUCY; SCHINKE; KARSENTY, 2000). Os osteoblastos são geralmente observados como um revestimento celular cuboidal ou achatado, único, mononucleado, situados diretamente sobre as superfícies interna e externa dos ossos. O osteoblasto possui aparelho de Golgi proeminente e um citoplasma basófilo, e apresenta retículo endoplasmático desenvolvido, o que reflete sua capacidade para síntese protéica. São ricos em fosfatase alcalina e sintetizam osteocalcina e proteoglicanos I e II (SMITH, 1993; KARSENTY, 2000).

Os osteoblastos ativos sintetizam e liberam colágeno tipo I para o espaço extracelular adjacente. Fibrilas de colágeno se alinham em arranjos regulares produzindo uma matriz orgânica denominada osteóide. No interior do osteóide, o íon cálcio é depositado como massas amorfas de fosfato de cálcio. A seguir, íons hidróxido e bicarbonato são gradualmente adicionados à fase mineral e cristais de hidroxiapatita maduros são formados lentamente. Existem proteínas ósseas que participam ativamente deste processo: a osteocalcina, que

contém resíduos de 3-carboxiglutamato, e tem afinidade pelo cálcio e forte avidéz pela hidroxiapatita não cristalizada; a osteonectina que se fixa no colágeno e forma cristais de hidroxiapatita; a enzima fosfatase alcalina, à qual é atribuído um papel estabilizador dos cristais de cálcio em formação no osso. Tanto a fosfatase alcalina quanto a osteocalcina são encontradas no plasma sanguíneo e seus níveis são considerados marcadores da atividade osteoblástica. Sabe-se que os osteoblastos possuem receptores para o paratormônio (PTH), vitamina D, prostaglandina E2 (PGE2) e glicocorticóides que modulam sua atividade (DUCY; SCHINKE; KARSENTY, 2000; KOGIANNI; NOBLE, 2007).

À medida que o osso completamente mineralizado se acumula e cerca o osteoblasto, a célula diminui sua atividade sintética e torna-se um osteócito. Os osteócitos derivam-se dos osteoblastos envolvidos pela matriz óssea, entretanto não são capazes de secretar componentes da matriz e constituem 90% de todas as células ósseas. Mesmo situados na profundidade do tecido ósseo, estabelecem contato com as células vizinhas através dos canaliculos, o que permite o fluxo intercelular de íons, nutrientes, metabólitos e pequenas moléculas, como mediadores químicos, que controlam o crescimento e desenvolvimento dos ossos (HAMAYA *et al.*, 2002; KOGIANNI; NOBLE, 2007).

Os osteoclastos são células móveis, gigantes, derivados da fusão de até 50 monócitos-macrófagos. Têm ciclo de vida curto e representam um tipo de célula óssea transiente que é inativada e removida por processos de apoptose. Secretam ácidos que diminuem o pH do microambiente ósseo ao seu redor (solubilizando o cálcio - descalcificação), collagenases e outras enzimas lisossômicas que atacam a matriz e a desfazem. Por descalcificar o osso e decompor o osteóide, o osteoclasto é capaz de escavar depressões arredondadas na superfície trabecular, subcortical e periostal cavando túneis na estrutura óssea. Essa destruição do osso faz parte do desenvolvimento, crescimento, manutenção e reparo normais do osso (NOXON *et al.*, 2001; KATAGIRI; TAKAHASSHI, 2002; TAKAHASHI *et al.*, 2007).

Fatores como o PTH, vitamina D e prostaglandinas exercem influência sobre a atividade dos osteoclastos, controlando seu funcionamento. Entretanto, esta influência não é direta, mas se origina de sinais parácrinos dados por moléculas produzidas pelos osteoblastos, onde estes fatores atuam (TSAY; CHEN; OYEN, 1999).

### 1.3.2. LIGAMENTO PERIODONTAL

Cada dente é fixo e separado do osso alveolar adjacente por uma estrutura de suporte, o ligamento periodontal. Sob condições normais, o ligamento periodontal ocupa cerca de 0,5 mm em largura ao redor de todas as partes da raiz. O maior componente do ligamento é uma rede de fibras colágenas, que se insere no cemento e no osso alveolar. Esse arranjo resiste ao deslocamento dental durante sua função normal (HASSEL, 1993).

O ligamento periodontal situa-se no espaço entre as raízes dos dentes e osso alveolar que circunda, até o nível aproximado de 1 mm apical à junção amelocementária. O tecido ósseo que cobre o alvéolo, no qual se inserem as fibras do ligamento periodontal, é do tipo cortical e se apresenta como uma linha radiopaca às vezes denominada "lâmina dura"; abaixo dele encontra-se o osso esponjoso (radiograficamente com aparência de uma malha) que é contíguo ao osso maxilar. O ligamento periodontal forma-se à medida que o dente se desenvolve e irrompe na cavidade oral, e sua estrutura não se esboça até que o dente entre em oclusão e seja aplicada a força funcional (TEN CATE, 2001).

O ligamento periodontal é constituído principalmente por fibroblastos (65% da população celular), que são responsáveis pelo metabolismo dos componentes da matriz extracelular como a produção dos vários tipos de fibras e da matriz do tecido conjuntivo. O fibroblasto é uma célula fusiforme ou estrelada e está alinhado ao longo da direção geral dos feixes de fibras (YEE, 1979; MARIOTTI; COCHRAN, 1990; CHO; GARANT, 2000).

O ligamento periodontal é constituído por dois tipos de fibras: as colágenas e as oxitalânicas. O colágeno é o principal elemento do componente fibroso no ligamento periodontal e sua função é resistir ao estresse de tensão, enquanto que as proteoglicanas da matriz extracelular resistem às forças compressivas. As fibras oxitalânicas foram descritas no ligamento periodontal e apresentam inserção cementária e, raramente, alveolar. Não estão associadas com a elastina e são compostas por fibrilina, microfibrila associada à glicoproteína, à proteoglicana, à fibronectina e à substância P. Sua função não está ainda bem estabelecida, no entanto é possível que desempenhe função de ancoragem, manutenção de elasticidade, guia para migração celular, estabilização dos vasos sanguíneos e regulação do fluxo vascular (ENGSTRÖM; GRANSTRÖM; THILANDER, 1988).

Todos os feixes principais de fibras colágenas do ligamento periodontal estão embutidas em cemento ou em osso. A porção embutida do feixe de fibras é chamada de fibra de Sharpey. No cemento, as fibras de Sharpey têm diâmetro menor e são mais densamente apinhadas que no osso alveolar (ENGSTRÖM; GRANSTRÖM; THILANDER, 1988).

A degradação das fibras colágenas velhas, a síntese de novas fibras e sua remodelação no ligamento periodontal ocorrem por indução da movimentação dentária para manutenção da nova relação dente-osso estabelecida. Foi verificado que as fibrilas colágenas do ligamento periodontal de mamíferos podem ser reabsorvidas sob condições fisiológicas por células mononucleares que se assemelham aos fibroblastos. Estas células são habitantes do ligamento periodontal normal e funcionante, e sua presença, assim como a dos osteoclastos em relação ao osso, indica reabsorção de fibras ocorrendo durante a renovação fisiológica ou remodelação do ligamento (TSURUTA *et al.*, 1982; CHO; GARANT, 2000).

O ligamento periodontal do rato é destituído de osteoclastos maduros em condições fisiológicas, entretanto, após a aplicação de força eles aparecem em poucos dias no lado de compressão (TEITELBAUM, 2000; NOXON *et al.*, 2001).

### 1.3.3. CEMENTO

O cimento é um tecido conjuntivo mineralizado e avascular do dente que deriva do ectomesênquima do saco folicular. Estruturalmente, a sua composição é semelhante à do osso, com cerca de 50% de hidroxiapatita e o restante é de material orgânico, principalmente colagênio do tipo I. Ele permite a inserção de fibras do ligamento periodontal. Pode ser classificado de acordo com a presença ou ausência de células (celular ou acelular) e quanto ao tipo de fibra colágena (extrínseca ou intrínseca). O cimento acelular com fibras extrínsecas é a variedade de cimento mais importante para o suporte do dente, contendo as fibras que ligam o elemento dentário ao osso, permitindo a sustentação do dente e a distribuição e neutralização de forças oclusais (OWENS, 1975; CHO; GARANT, 2000).

São encontrados cementoblastos na superfície radicular, em diferentes graus de diferenciação, e suas células progenitoras, com distribuição similar à dos osteoblastos nas superfícies ósseas. O cimento não sofre remodelação como o osso alveolar e o ligamento periodontal, sendo continuamente depositado ao longo da vida. Entretanto, a reabsorção do cimento pode ocorrer em certas condições, como durante a reabsorção dos dentes decíduos, processos patológicos e com o movimento ortodôntico excessivo do dente. Nesses casos, são encontrados cementoclastos mononucleares, ou células gigantes mononucleadas, na superfície do cimento (OWENS, 1975; BOSSHARDT; SCHROEDER, 1991; SAYGIN; GIANNOBILE; SOMERMAN, 2000).

#### 1.4. TRATAMENTO ORTODÔNTICO

O tratamento ortodôntico é baseado no princípio do movimento dentário, ou seja, se uma pressão prolongada é aplicada em um dente, fatalmente ocorrerá o seu deslocamento. A movimentação dentária induzida é um processo biológico múltiplo, caracterizado por reações sequenciais do tecido periodontal em resposta às forças aplicadas. Os estímulos provocados geram alterações teciduais que, em conjunto com a ativação de mediadores químicos, resultam na remodelação óssea (HELLER; NANDA, 1979; MOSTAFA; WEAKS-DYBVIG; OSDOBY, 1983).

Durante o movimento dentário inicial, as células do ligamento periodontal são comprimidas e o fluido extracelular do periodonto é extravasado para os espaços medulares. Na zona de pressão, o tecido de sustentação fibroso é reconstituído através da substituição quase completa das fibras velhas por novos elementos fibrosos, alterações vasculares precoces como estase, isquemia, diminuição gradual de capilares, presença de trombos, completa obliteração de vasos sangüíneos e degeneração vascular também são descritas no lado de pressão do ligamento periodontal durante a movimentação ortodôntica (YOSHIKAWA, 1981; KI, 1990).

O ligamento periodontal desempenha um papel fundamental para que a movimentação dentária ocorra. Sua compressão induz estímulos geradores de inflamação local, favorecendo o surgimento de um microambiente susceptível à remodelação óssea. Durante o tratamento ortodôntico, o osso é removido em algumas áreas e adicionado em outras, enquanto o dente se move carregando os tecidos de sustentação. A remodelação óssea é um processo dinâmico que envolve atividade celular coordenada entre osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. 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 tração e reabsorção na face em compressão (FULLMER, 1966; CHO; GARANT,



2000; ATTAL *et al.*, 2001). Como a maior parte do processo de movimentação é mediada pelo ligamento periodontal, o movimento dentário é, antes de qualquer coisa, um fenômeno ligado ao mesmo (HILL, 1998).

No processo de movimentação ortodôntica participam uma série de mediadores químicos, reguladores locais e sistêmicos como fator de crescimento para fibroblastos (FGF), fator de crescimento insulina-like (IGF), citocinas como interleucina 1 (IL1) que exercem efeitos sobre diversas células (BARON; TROSS; VIGNERY, 1984; ASHIZAWA; SAHARA, 1998).

### **1.5. REMODELAÇÃO ÓSSEA**

A remodelação do tecido conjuntivo mineralizado e não-mineralizado é essencial à movimentação dentária. Forças mecânicas exercidas sobre o dente são transmitidas ao periodonto iniciando a atividade remodeladora que facilita a movimentação. A magnitude da força exercida durante a movimentação dentária induzida é um dos fatores importantes para o sucesso nos resultados. A remodelação óssea durante a movimentação ortodôntica dentária induzida é um contínuo processo de equilíbrio caracterizado por reabsorção óssea no lado de compressão e deposição de osso no lado de tensão. É resultante da aplicação de força mecânica sobre o dente, que gera aumento de esforço do ligamento periodontal por geração de sinais elétricos que desencadeiam proliferação e diferenciação celular (HELLER; NANDA, 1979; ENGSTROM; GRANSTRÖM; THILANDER, 1988; HILL, 1998; KI, 1990; KOBAYASHI; UDAGAWA, 2007).

A remodelação e o rearranjo do osso alveolar são indispensáveis para a estabilização dos dentes após a movimentação dentária, sendo que o ligamento periodontal tem importante

função na ativação da remodelação óssea por ser um fator de interface entre dente e osso alveolar (KOBAYASHI; UDAGAWA, 2007).

Durante a movimentação dentária induzida o ligamento periodontal é temporariamente perturbado, podendo causar reabsorção cementária. A remodelação do cimento tem sido associada com a remodelação do ligamento periodontal e do osso alveolar. O ligamento adapta-se rapidamente ao turnover ósseo enquanto são depositadas camadas adicionais de cimento de acordo com a orientação das fibras de Sharpey (LEE *et al.*, 2004).

A reabsorção e formação óssea são realizadas por osteoclastos e osteoblastos, respectivamente. A remodelação óssea é iniciada com a conversão de uma área inativa em um sítio de remodelação, constituindo a fase de ativação que envolve a proliferação de vasos sanguíneos que são necessários para conduzir as células de reabsorção. O osteoclasto promove a formação de uma cavidade e é reposicionado em outro local a ser reabsorvido. Enquanto isso o osteoblasto é recrutado para preenchimento da cavidade deixada pelo osteoclasto. O intervalo entre o fim da reabsorção e o começo da formação óssea é a fase de reversão reversa, quando o osso velho é recoberto por uma fina camada de substância composta por colágeno e matriz rica em aminoglicosídeos e glicoproteínas (GRIMM, 1972; SMITH, 1993; HILL, 1998).

A identificação de mediadores químicos no microambiente ósseo demonstra uma interação entre osteoblastos e osteoclastos no processo de remodelação. Os osteoblastos produzem o ligante do ativador do receptor NF Kappa B (RANKL) e também a osteoprotegerina (OPG). O RANKL se liga ao seu receptor (RANK) na membrana de osteoclastos ativando a função desta célula de realizar a reabsorção óssea. A OPG (também conhecida como fator inibidor de osteoclastogênese) é uma proteína semelhante aos membros da família de receptor para o fator de necrose tumoral (TNF) com efeito inibidor da atividade osteoclástica, pois é liberada para o interstício e funciona como um ligante solúvel para o

RANK, reduzindo sua ação ativadora sobre osteoclastos (HAYNES *et al*, 2001; BOYCE; XING, 2007). A disponibilidade maior ou menor do RANKL (em função da quantidade de OPG) mostrou ser crítica para o recrutamento e ativação de osteoclastos e controle da reabsorção óssea (HOFBAUER; NEUBAUER; HEUFELDER, 2001; BOYCE; XING, 2007).

Algumas proteínas encontradas no plasma servem como marcadores da atividade de formação ou reabsorção ósseas, permitindo inferir, de modo indireto, sobre a predominância de ação osteoblástica ou osteoclástica. Embora não seja possível precisar de que local do organismo estão se originando estes marcadores, sua quantificação, associada a outros procedimentos técnicos auxilia no estudo da remodelação óssea (VIEIRA, 1999).

Entre os marcadores associados à formação óssea existem a osteocalcina e a fosfatase alcalina. A osteocalcina é a proteína não colágena abundante no osso e na dentina; possui 49 aminoácidos (entre eles três ácidos glutâmicos que lhe confere a capacidade de ligar íons cálcio); é sintetizada predominantemente pelos osteoblastos diferenciados, sendo incorporada à matriz óssea na mineralização da osteóide. Parece ter funções também no recrutamento de osteoclastos para o local de remodelação óssea (HASHIMOTO *et al.*, 2001). A fosfatase alcalina é uma glicoproteína específica secretada por osteoblastos com papel na mineralização óssea, cuja quantificação sérica é um marcador útil para acompanhamento do remodelamento ósseo (VIEIRA, 1999).

Como marcadores do processo de reabsorção óssea temos: hidroxiprolina, fosfatase ácida tartarato-resistente (TRAP) e moléculas interligadoras do colágeno tipo I (N-Telopeptídeo, C-Telopeptídeo, Piridinolina e Desoxipiridinolina). A hidroxiprolina constitui aproximadamente 13% do conteúdo da molécula de colágeno e sua concentração sérica representa a degradação das várias formas de colágeno. Antes de ser excretada a hidroxiprolina é metabolizada sendo que a excreção urinária representa apenas 10% do catabolismo real do colágeno. Não é específica do tecido ósseo, sendo sua excreção

influenciada pela ingestão de alimentos que contenham colágeno – gelatina (HILL, 1998). A TRAP é uma enzima lisossômica presente primariamente no osso, próstata, plaquetas, eritrócitos e baço e sua quantificação reflete mais o número do que a atividade dos osteoclastos. Já as moléculas interligadoras do colágeno tipo I são atualmente os melhores marcadores bioquímicos da reabsorção óssea e, mostram boa correlação com estudos histomorfométricos (KATAGIRI; TAKAHASSHI, 2002).

### **1.6. REABSORÇÃO RADICULAR**

A reabsorção radicular é uma condição clínica que pode ocorrer fisiologicamente quando da substituição da dentição decídua pela definitiva, ou então devido a um processo patológico, do qual resulta a destruição do cemento e dentina com conseqüente perda do dente. Considera-se que, a hipótese de reabsorção idiopática, ela é o resultado de lesões dos tecidos do ligamento periodontal ou do tecido pulpar. Esta situação clínica pode ser conseqüência de traumatismos que desencadearam luxações, fraturas radiculares ou avulsões, bem como ser resultante de infecções crônicas da polpa ou das estruturas periodontais. Existem ainda relatos de reabsorções radiculares atribuídas ao movimento dentário induzido ortodonticamente (BREZNIAK; WASSERSTEIN, 1993; LEE et al., 2004; FUSS; TSEISIS; LIN, 2003; ARMSTRONG, 2006).

### **1.7. MODELOS ANIMAIS DE ESTUDO**

O emprego de modelos animais para estudos na área de ortodontia tem viabilizado a análise de alguns aspectos do periodonto e de outras estruturas associadas que dificilmente seriam estudados em humanos. Nos estudos envolvendo os tecidos periodontais, o rato é comumente empregado por apresentar algumas vantagens em relação a outros animais. Dentre estas vantagens pode-se salientar o baixo custo, facilidade de manipulação, manutenção em condições ambientais e sanitárias (incluindo dietas especiais) controladas e possibilidade de realizar estudos em animais especiais (ex: com imunodeficiências). Além disso, a similaridade anatômica do periodonto é importante, visto que, em ratos, os molares apresentam tecido periodontal com estrutura e organização muito semelhantes ao dos humanos (HELLER; NANDA, 1979).

## **2. OBJETIVOS**

## **2.1. OBJETIVO GERAL**

Verificar os efeitos da melatonina sobre a remodelação óssea do periodonto de sustentação, especialmente sobre os osteoblastos e osteoclastos, nos primeiros molares superiores em resposta à movimentação dentária induzida por tratamento ortodôntico pelo período de quinze dias, em ratos pinealectomizados ou submetidos à cirurgia fictícia.

## **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Nos primeiros molares superiores submetidos ou não ao tratamento ortodôntico do grupo controle e do grupo pinealectomizado:

- Avaliar possíveis alterações morfológicas dos componentes do periodonto de sustentação: osso alveolar, ligamento periodontal e cimento
- Analisar a densidade de osteoblastos e de osteoclastos
- Verificar a ocorrência de reabsorção radicular

### **3. JUSTIFICATIVA**

A realização do presente estudo foi proposta considerando:

que a melatonina é um hormônio que exerce algumas influências já relatadas sobre células ósseas, facilitando a formação óssea e reduzindo perdas ósseas;

que no tratamento ortodôntico existe movimentação dentária que provoca remodelação do osso alveolar, dependente de ação dos osteoblastos e osteoclastos;

que o tratamento ortodôntico tem sido realizado cada vez mais em indivíduos com idade mais avançada, nos quais a secreção de melatonina pode estar em declínio;

que não existem relatos de estudo do periodonto sob condições de movimentação induzida na presença ou não de melatonina.



## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

#### 4.1. ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Neste estudo foram utilizados 10 ratos (*Rattus norvegicus*) machos, da linhagem Wistar, criados e mantidos no biotério da disciplina de Fisiologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM). As condições do biotério eram: temperatura entre 20°C e 23°C, umidade entre 40% e 70% e iluminação com ciclos claro-escuro de 12/12 horas. Os animais recebiam água e comida (ração comercial Nuvilar CR1) *ad libitum*.

Os animais foram submetidos à retirada cirúrgica da pineal (pinelectomia) aos 5 dias de vida e mantidos no biotério até o início da fase seguinte do experimento. Aos 120 dias de vida foi realizada a fixação de aparelho ortodôntico em todos animais. A partir de então os animais passaram a receber alimento pastoso feito à base de ração moída, fubá e água, que permitia consistência adequada para que os mesmos pudessem se alimentar melhor.

O protocolo de pesquisa está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi enviado à Comissão de Ética no Uso de Animais da UFTM para análise.

## 4.2. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

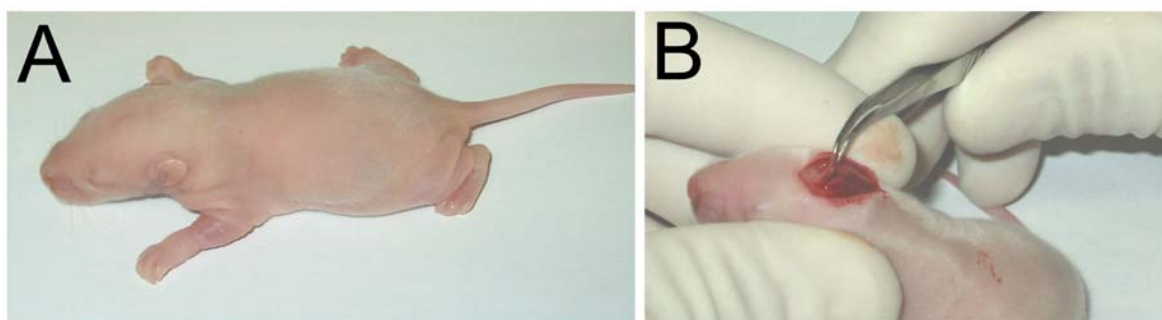
### 4.2.1. PINEALECTOMIA

Aos cinco dias de vida os animais foram submetidos à crioanestesia para a retirada da pineal (Figura 1). A crioanestesia consiste em colocá-los em ambiente de baixa temperatura (cerca de -8 a -10°C) durante 15 minutos, até que não se notem mais movimentos e que a respiração e batimentos cardíacos estejam muito reduzidos (PHIFER; TERRY, 1986). Nesta condição os animais mantêm um metabolismo baixo e a sensibilidade dolorosa é bastante reduzida. Este procedimento é amplamente aceito entre a comunidade científica como método para anestesia de animais jovens de pequeno porte, sendo recomendado inclusive pelo Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos da América (National Institutes of Health, 2000). Nesta idade os animais são muito suscetíveis a agentes químicos como os anestésicos gerais, ocorrendo alta taxa de mortalidade em decorrência do seu uso.

Imediatamente após a retirada dos animais do ambiente frio, estes foram pesados e colocados em decúbito ventral. Foi feita incisão em forma de U na calota craniana, na região da sutura parieto-occipital utilizando tesoura cirúrgica. Com auxílio de pinças adequadas a pele, os tecidos subcutâneo e ósseo foram seccionados e elevados, sendo facilmente visualizada a glândula pineal logo abaixo, entre os hemisférios cerebrais e o cerebelo. Através de pinçamento suave a pineal foi retirada e os tecidos seccionados foram rebaixados. A sutura foi realizada com o uso de adesivo comercial (Super Bonder<sup>®</sup>) utilizado neste tipo de procedimento em razão do tempo gasto e porque a fragilidade dos tecidos demanda um processo de sutura mais demorado e com uso de fios cirúrgicos que poderiam ser retirados quando os animais fossem recolocados com as mãos.

Ainda sob crioanestesia os animais receberam marcação com injeção de 0,05 ml de tinta Nanquim no subcutâneo, em uma das patas ou em regiões do dorso, para permitir sua identificação futura. A cirurgia fictícia foi realizada seguindo as mesmas etapas da pinealectomia, inclusive com o levantamento do tecido subcutâneo e ósseo, visualizando assim a pineal, contudo não houve a sua retirada.

Após a cirurgia e a marcação, os animais foram mantidos sob luz incandescente para receberem calor e obterem recuperação mais rápida. Todos os animais foram então recolocados junto com a mãe e mantidos em condições



**Figura 1. Pinealectomia em rato Wistar.** (A) Animal aos cinco dias de vida após crioanestesia; (B) Retirada da glândula Pineal por pinçamento.

#### 4.2.2. COLOCAÇÃO DO APARELHO ORTODÔNTICO

Aos 120 dias, os animais dos grupos controle e pinealectomizados, tiveram seus pesos registrados, foram anestesiados com Tiopental sódico (Thiopentax<sup>®</sup> - Cristália) na dose de 40 mg/kg de peso, administrado por via intra-peritoneal para receberem um aparelho ortodôntico. Esse aparelho foi confeccionado com um fio ortodôntico de 0,8 mm, colocado circundando o primeiro molar superior esquerdo (como banda), adaptado a uma mola ortodôntica (Mola fechada - Morelli - Ni-Ti ) com 6 mm de comprimento, exercendo uma força de 0,2 j (medida

com tensiômetro - Morelli) e foi adaptado um amarrilho em volta dos incisivos centrais superiores e fixado com resina fotopolimerizável (Z 100 - 3M<sup>®</sup>) (Figura 2).

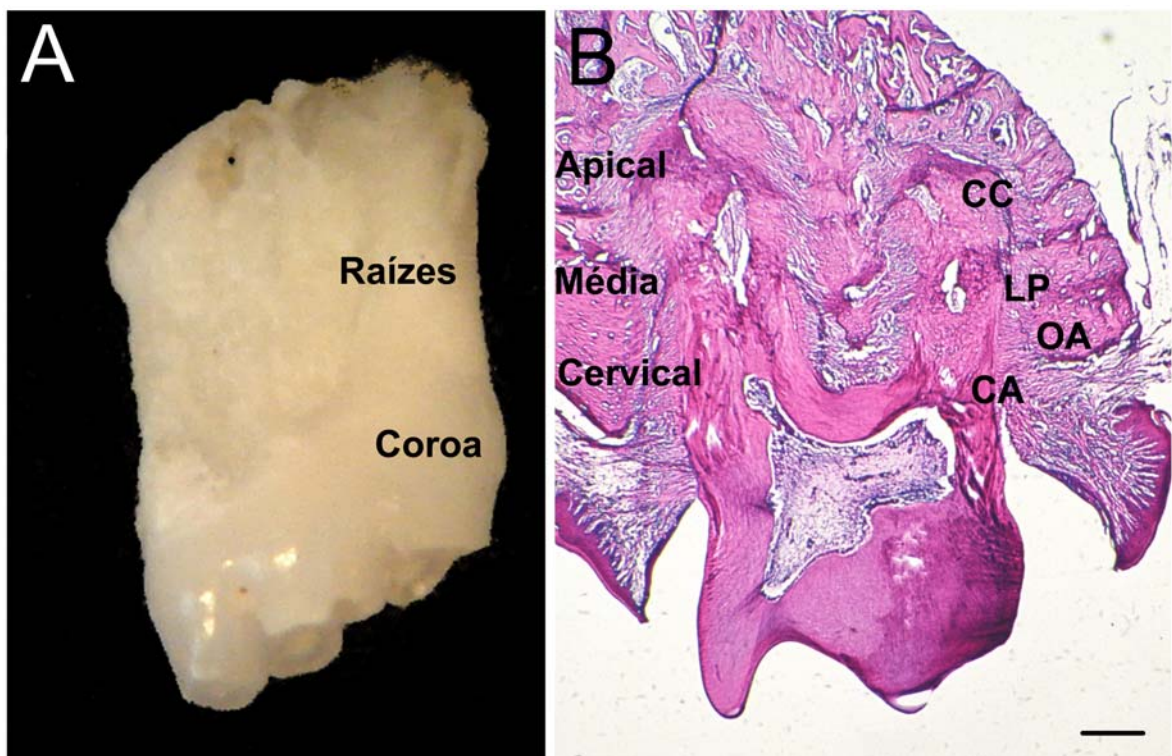
Os primeiros molares do lado esquerdo receberam o aparelho ortodôntico enquanto os primeiros molares contralaterais de cada animal não foram submetidos à fixação de aparelho ortodôntico e serviram como controle para o estudo comparativo. Após 15 dias de tratamento ortodôntico, os animais foram sacrificados por exposição a ambiente saturado de vapor de éter anestésico. As maxilas foram retiradas, dissecadas e processadas para estudo dos molares por microscopia de luz comum.



**Figura 2.** Colocação de aparelho ortodôntico em primeiro molar superior esquerdo de um rato Wistar.

### 4.3. PROCESSAMENTO DO MATERIAL BIOLÓGICO

Os primeiros molares de ratos possuem cinco cúspides e cinco raízes subdivididas em região: cervical, média e apical. Os dentes são fixados no alvéolo pelo periodonto de sustentação: osso alveolar, ligamento periodontal e cemento (Figura 3). As amostras foram fixadas em formaldeído a 10% por 48 horas, descalcificadas em ácido nítrico a 5% por sete dias, desidratadas em banhos de concentração crescente de etanol, diafanizadas e incluídas em parafina, de acordo com métodos convencionais. Foram realizados cortes transversais da maxila seriados de 5  $\mu\text{m}$ . Três secções histológicas de cada região da raiz (cervical, médio e apical) foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) e Tricrômico de Masson com diferenciação fosfomolibdica (Hematoxilina férrica-Fuccina ácida-Azul de anilina).



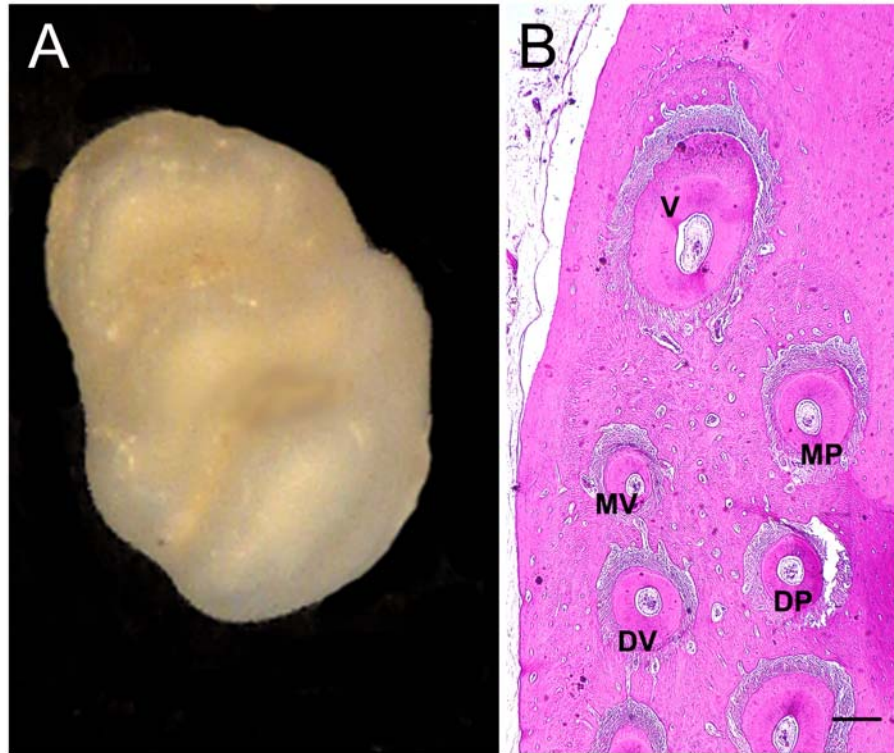
**Figura 3. Primeiro molar superior de rato Wistar longitudinal.** Coloração HE. (A) Aspecto macroscópico do dente: coroa e raízes; (B) Dente inserido no alvéolo pelo periodonto de inserção: osso alveolar (AO), ligamento periodontal (LP), cemento acelular (CA) e cemento celular (CC); Regiões da raiz: cervical, média e apical. (B) Barra = 400  $\mu\text{m}$ .

#### 4.4. AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA

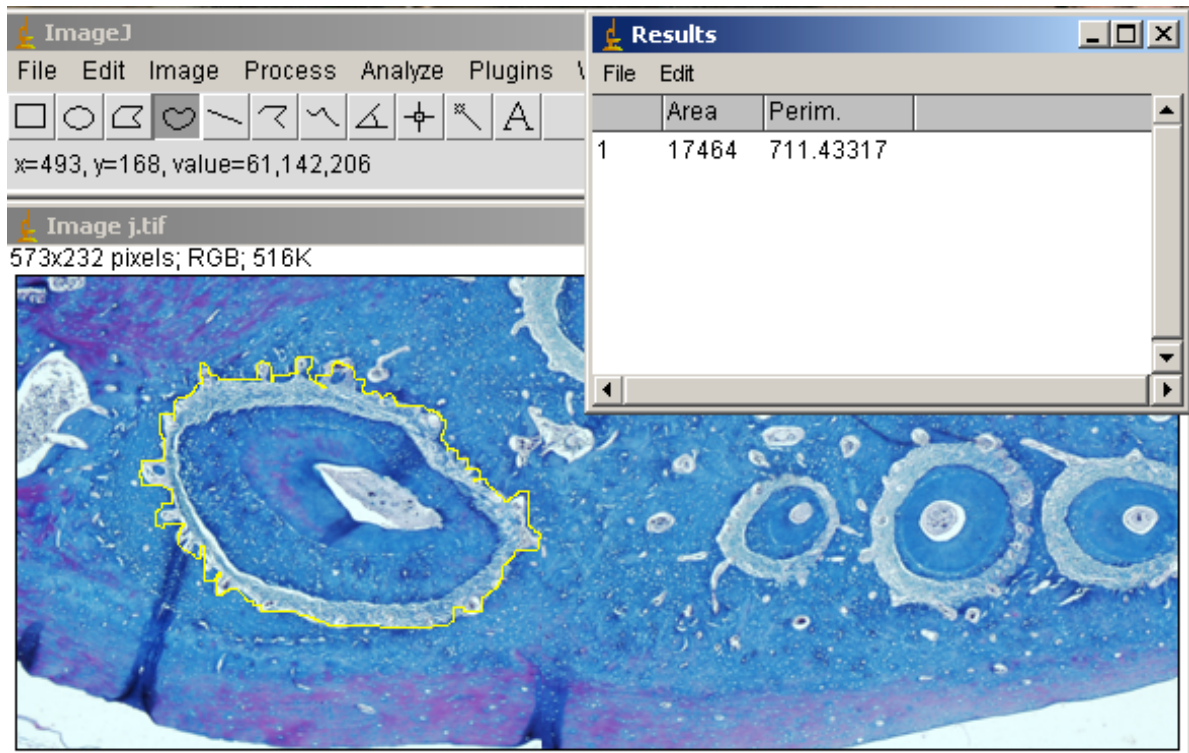
Para a avaliação morfológica, foram examinadas três secções histológicas de cada região das raízes (cervical, média e apical) e apenas uma secção para a avaliação morfométrica das estruturas constituintes do periodonto de inserção nos primeiros molares superiores (tratados e não com aparelho ortodôntico) dos animais pinealectomizado e controle. Foram avaliadas as raízes: vestibular (V), méso-vestibular (MV), disto-vestibular (DV), méso-palatino (MP) e disto-palatino (DP) de cada dente (Figura 4).

Para verificar o efeito da melatonina na remodelação óssea induzida pelo aparelho ortodôntico foi avaliada a morfologia do osso alveolar e a densidade de osteoclastos e osteoblastos ao redor das raízes dentais. A morfologia do ligamento periodontal e cemento foi avaliada, bem como a integridade da estrutura das raízes, ou seja, presença ou não de reabsorção radicular.

Para a avaliação morfométrica da densidade de osteoclastos e osteoblastos, o número de células no osso ao redor de cada raiz foi contado manualmente em microscópio Axiolab HBO50/AC (Zeiss®). Em seguida imagens dos cortes histológicos foram capturadas em microscópio Eclipse 80i com câmera OS-Fi1 (Nikon®) e através do software analisador de imagens Image J (National Institutes of Health, USA) o perímetro ósseo ao redor de cada raiz foi determinado (Figura 5). A densidade de células foi expressa como número total de células dividido pelo perímetro ósseo. Apenas uma secção histológica de cada região da raiz (cervical, média e apical) dos molares de cada lado, dos animais do grupo controle e pinealectomizado, foi avaliada garantindo que a mesma célula não fosse examinada mais de uma vez.



**Figura 4. Primeiro molar superior de rato Wistar.** Coloração HE. (A) Aspecto macroscópico do plano oclusal do dente com cinco cúpides; (B) Raízes: vestibular (V), méso-vestibular (MV), disto-vestibular (DV), méso-palatino (MP) e disto-palatino (DP). (B) Barra = 400  $\mu$ m.



**Figura 5. Imagem da análise no software Image J das raízes do primeiro molar superior de rato Wistar.**



#### 4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi montado um banco de dados eletrônico com o programa Microsoft Excel<sup>®</sup> para análise estatística; os dados foram analisados com o programa eletrônico GraphPad InStat<sup>®</sup>.

Através do teste de Kolmogorov-Smirnov, as variáveis foram testadas para verificar se a distribuição era normal. Quando a distribuição foi normal, foram utilizados testes paramétricos, para a comparação entre dois grupos o teste de “t” de Student e, entre três grupos análise de variância (ANOVA).

As diferenças observadas foram consideradas significativas quando a probabilidade de rejeição da hipótese de nulidade foi menor que 0,05 (5%).

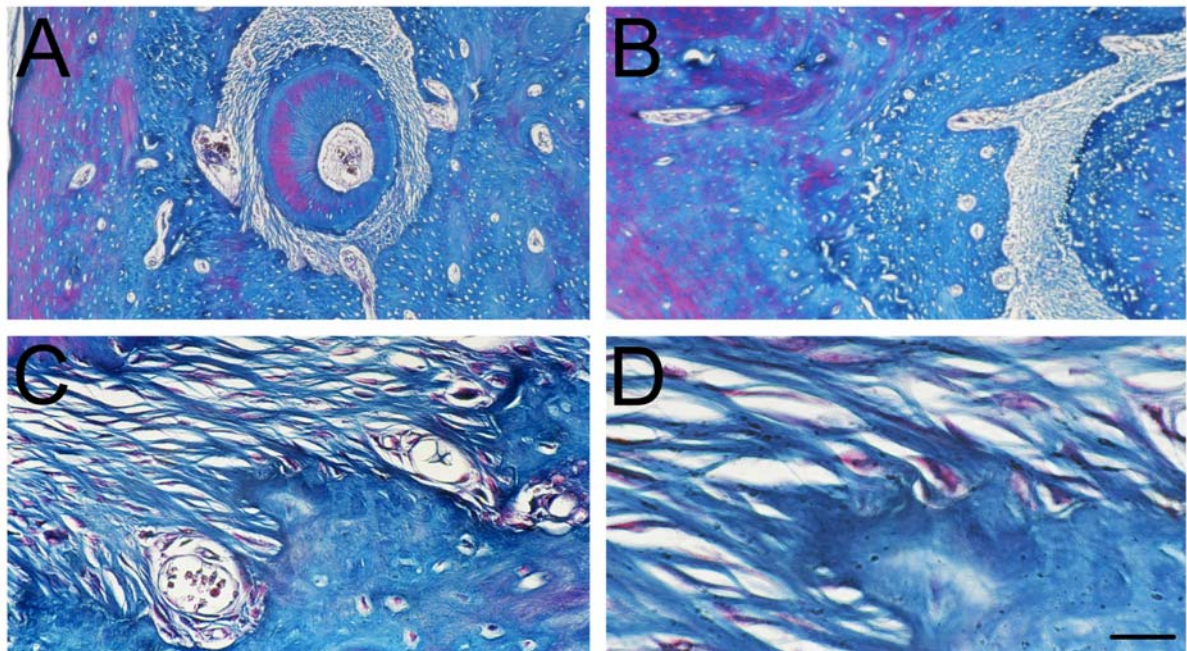
## **5. RESULTADOS**

### **5.1. AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA**

As estruturas do periodonto de inserção (osso alveolar, ligamento periodontal e cemento) do primeiro molar superior do lado não tratado e do lado tratado com aparelho ortodôntico do grupo controle e do grupo pinealectomizado não apresentaram diferenças morfológicas entre as três secções histológicas das regiões (cervical, média e apical) observadas. Por isto, a avaliação morfométrica foi realizada apenas em uma secção de cada região da raiz.

### 5.1.1. OSSO ALVEOLAR

O osso alveolar reveste o alvéolo, contínuo com o osso maxilar, onde a raiz do dente se fixa pelo periodonto de inserção: cimento, ligamento periodontal e osso alveolar. O osso do processo alveolar e as tábuas ósseas da maxila apresentaram sistemas de Harvers, com osteócitos aprisionados em lacunas e separados por lamelas de matriz extracelular. O limite do osso alveolar com o osso do processo alveolar foi observado contínuo do lado externo (Figura 6A). Enquanto no lado interno, apresentou-se com margens irregulares recobertas por osteoblastos (Figura 6B). Seus osteócitos apareceram dispersos aleatoriamente e separados pela matriz extracelular com grande quantidade de colágeno tipo I (Figura 6C). As fibras de Sharpey apareceram inseridas no osso alveolar (figura 6 D). Foi observada presença de osso inter-radicular em todos os casos, exceto nas secções mais superficiais da região cervical.

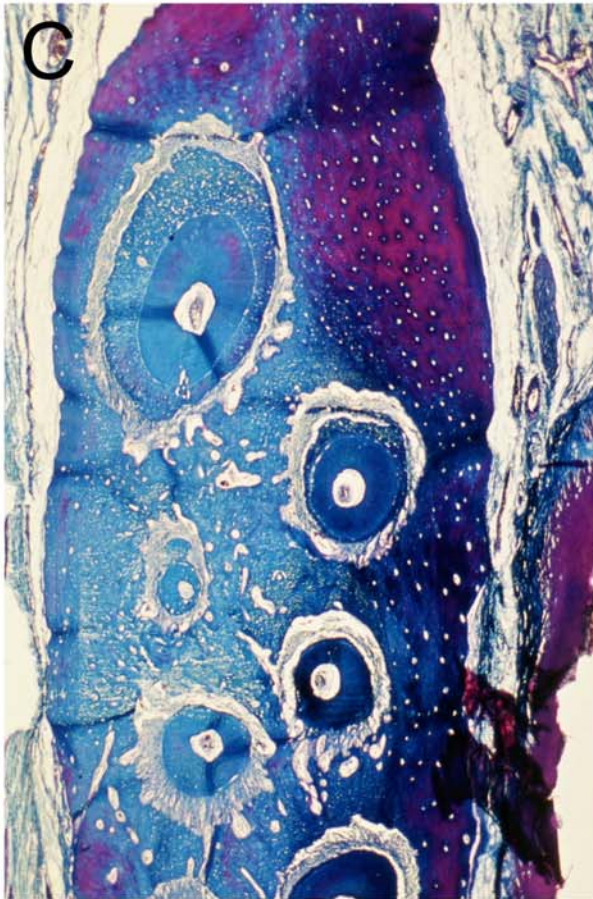


**Figura 6. Aspecto morfológico de osso alveolar de primeiro molar superior de rato Wistar.** Coloração Tricrômico de Masson. (A) No alvéolo contínuo com o osso maxilar (seta), raiz do dente fixa pelo periodonto de inserção: cimento (C), ligamento periodontal (LP) e osso alveolar (OA); (B) Osso alveolar com margens irregulares no lado interno e contínuo com o osso maxilar no externo (seta); (C) Osteoblastos (Ob) revestem o osso alveolar e osteócitos (Os) aprisionados nas lacunas separados por matriz óssea (azul); (D) Fibras de Sharpey inseridas no osso alveolar (cabeça de seta). (A) Barra = 100 µm; (B) Barra = 50 µm; (C) Barra = 25 µm; (D) Barra = 10 µm.

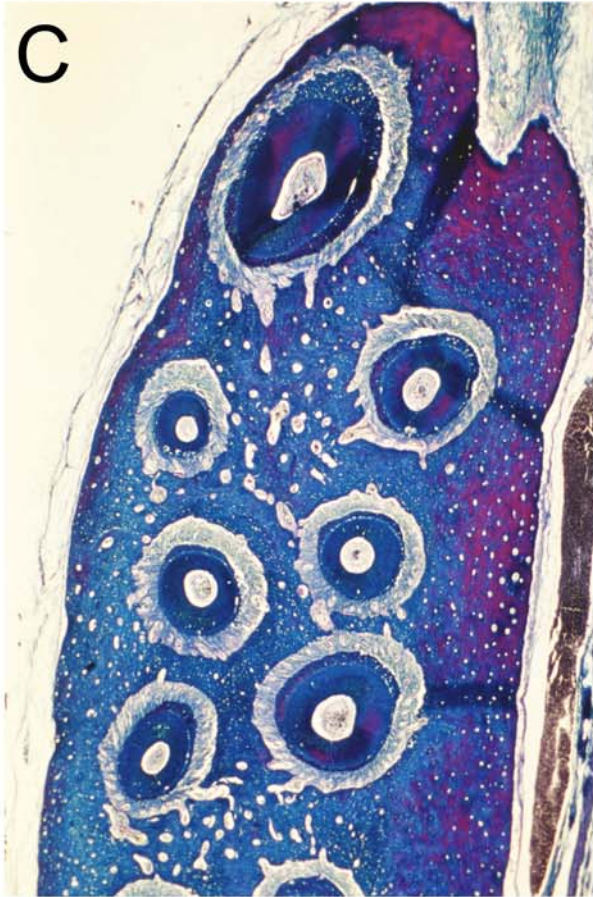
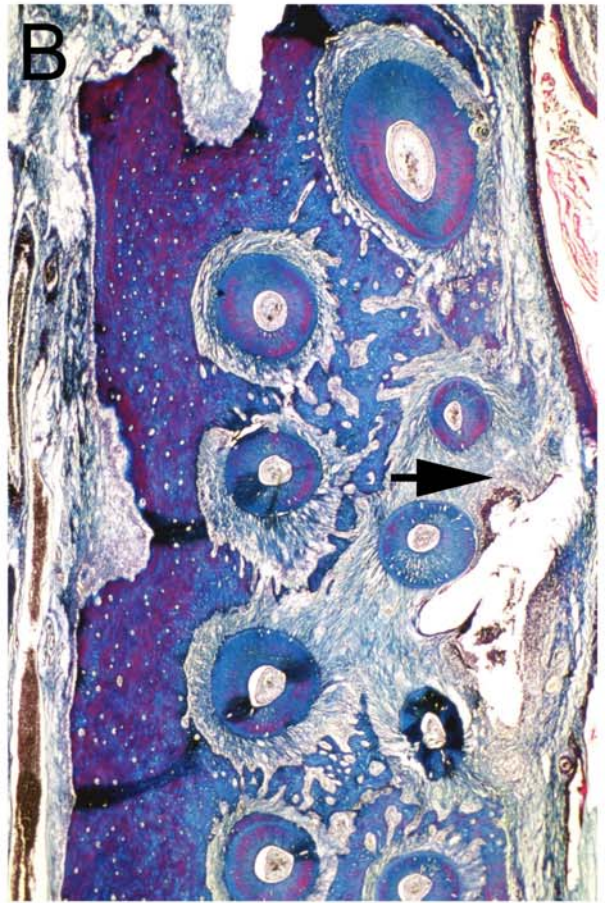
### 5.1.1.1. REABSORÇÃO ÓSSEA

Não foram vistas diferenças morfológicas entre os lados não tratado dos animais dos grupos controle e pinealectomizado. O osso alveolar apresentou o aspecto morfológico esperado nas três regiões radiculares estudadas. Foram vistos sistemas de Harvers, com osteócitos aprisionados em lacunas e separados por lamelas de matriz extracelular nos ossos do processo alveolar e da tábua óssea. O osso do processo alveolar apareceu contínuo com o osso alveolar. O osso alveolar apresentou osteócitos dispersos na matriz extracelular, osteoblastos e osteoclastos na superfície óssea. Não foram vistas áreas de reabsorção óssea no lado não tratado dos grupos controle e pinealectomizado nas regiões, cervical, média e apical das raízes (Figuras 7 A, 7 C, 8 A, 8 C, 9 A e 9 C).

Na região cervical das raízes, o lado tratado com aparelho ortodôntico apresentou reabsorção óssea em 100% dos casos no grupo controle (20% área vestibular total, 40% méso-vestibular, 20% disto-vestibular e 20% méso-vestibular e disto-vestibular) e 100% no grupo pinealectomizado (40% área vestibular total, 20% méso-vestibular, 20% disto-vestibular e 20% méso-vestibular e distal). Entretanto, em todos os animais pinealectomizados a destruição óssea foi aparentemente mais acentuada, quando comparado com o controle (Figura 7 B e 7 D). Na região média das raízes, o lado tratado com aparelho ortodôntico apresentou reabsorção óssea em 100% no grupo controle (40% vestibulo-mesial; 20% méso-vestibular e disto-vestibular; 40% disto-vestibular) e 100% no grupo pinealectomizado (60% méso-vestibular e 40% disto-vestibular). Contudo, em todos os animais pinealectomizados a destruição óssea foi aparentemente mais acentuada, quando comparado com o controle (Figura 8 B e D). Na região apical das raízes, o lado tratado com aparelho ortodôntico apresentou reabsorção óssea em 40% nos grupos controle e pinealectomizados (disto-vestibular). Entretanto, a destruição óssea foi aparentemente mais acentuada nos animais pinealectomizados (Figura 9 B e 9 D).



**Figura 7. Reabsorção óssea na região cervical após tratamento ortodôntico em ratos Wistar de grupo controle e pinealectomizado.** Coloração Tricrômico de Masson. (A) lado não tratado de animal controle; (B) reabsorção óssea (seta) no lado tratado com aparelho ortodôntico de animal controle; (C) lado não tratado de animal pinealectomizado; (D) reabsorção óssea (seta) no lado tratado com aparelho ortodôntico de animal pinealectomizado. Barra = 400  $\mu$ m.





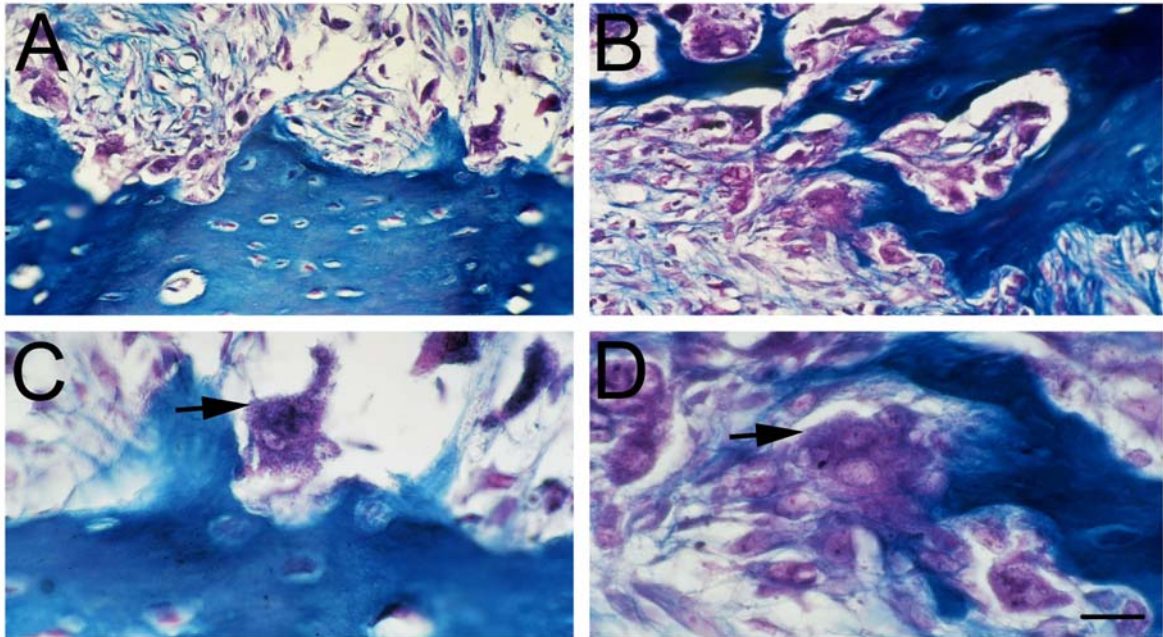
**Figura 8. Reabsorção óssea na região média após tratamento ortodôntico em ratos Wistar de grupo controle e pinealectomizado.** Coloração Tricrômico de Masson. (A) lado não tratado de animal controle; (B) reabsorção óssea (seta) no lado tratado com aparelho ortodôntico de animal controle; (C) lado não tratado de animal pinealectomizado; (D) reabsorção óssea (seta) no lado tratado com aparelho ortodôntico de animal pinealectomizado. Barra = 400  $\mu$ m.



**Figura 9. Reabsorção óssea na região apical após tratamento ortodôntico em ratos Wistar de grupo controle e pinealectomizado.** Coloração Tricrômico de Masson. (A) lado não tratado de animal controle; (B) reabsorção óssea (seta) no lado tratado com aparelho ortodôntico de animal controle; (C) lado não tratado de animal pinealectomizado; (D) reabsorção óssea (seta) no lado tratado com aparelho ortodôntico de animal pinealectomizado. Barra = 400  $\mu$ m.

### 5.1.1.2. OSTEOCLASTOS

Os osteoclastos foram vistos no lado não tratado e tratado no espaço do ligamento periodontal dos primeiros molares superiores dos animais do grupo controle e pinealectomizado. Essas células apareceram próximas ou fixas ao osso alveolar nas depressões conhecidas como lacunas de Howship. Em ambos os lados apareceram como células gigantes, multinucleadas e com citoplasma acidófilo (Figura 10).



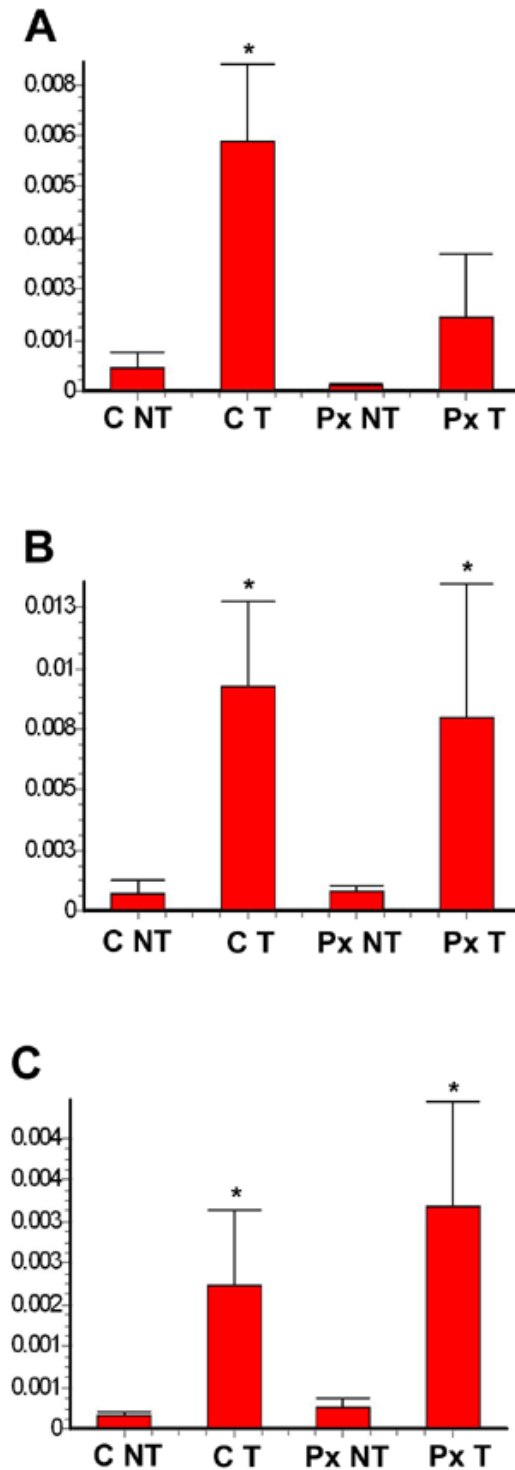
**Figura 10. Osteoclastos em área de reabsorção óssea após tratamento ortodôntico em ratos Wistar de grupo controle e pinealectomizado.** Coloração Tricrômico de Masson. (A e C) Osteoclasto (seta) no lado tratado com aparelho ortodôntico de animal controle; (B e D) Osteoclasto (seta) no lado tratado com aparelho ortodôntico de animal pinealectomizado. (A e B) Barra = 25 µm; (C e D) Barra = 10 µm.

Foi realizada uma avaliação morfométrica dos osteoclastos nas três regiões da raiz (cervical, média e apical) dos primeiros molares superiores dos lados não tratado e tratado com aparelho ortodôntico dos animais do grupo controle e do grupo pinealectomizado.

No grupo Controle, a diferença da densidade de osteoclastos do lado não tratado e do lado tratado foi estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ) nas três regiões da raiz (cervical, média e apical). Na região cervical, no lado tratado ( $0,00624 \pm 0,00195$ ) a densidade de osteoclastos foi maior que no lado não tratado ( $0,00058 \pm 0,00037$ ). Na região média, no lado tratado ( $0,00946 \pm 0,00360$ ) a densidade de osteoclastos foi maior que no lado não tratado ( $0,00076 \pm 0,00053$ ). Na região apical, no lado tratado ( $0,00220 \pm 0,00115$ ) a densidade de osteoclastos maior que no lado não tratado ( $0,00022 \pm 0,00044$ ) (Figura 11). Entre as três regiões da raiz no lado não tratado, a diferença da densidade de osteoclastos não foi estatisticamente significante ( $p = 0,11$ ). Entre as três regiões da raiz do lado tratado, a diferença da densidade de osteoclastos foi estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ).

No grupo Pinealectomizado, a diferença da densidade de osteoclastos no lado não tratado ( $0,00015 \pm 0,00005$ ) e no lado tratado ( $0,00182 \pm 0,00161$ ) não foi estatisticamente significante ( $p = 0,09$ ) na região cervical da raiz. Na região média, no lado tratado ( $0,00816 \pm 0,00022$ ) a densidade de osteoclastos foi maior que no lado não tratado ( $0,00082 \pm 0,00022$ ), houve uma diferença estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ). Na região apical, no lado tratado ( $0,00344 \pm 0,00159$ ) a densidade de osteoclastos foi maior que no lado não tratado ( $0,00034 \pm 0,00015$ ), houve uma diferença estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ) (Figura 11). Entre as três regiões da raiz (cervical, média e apical) no lado não tratado, a diferença da densidade de osteoclastos foi estatisticamente significante ( $p < 0,001$ ). Entre as três regiões da raiz no lado tratado, a diferença da densidade de osteoclastos foi estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ).

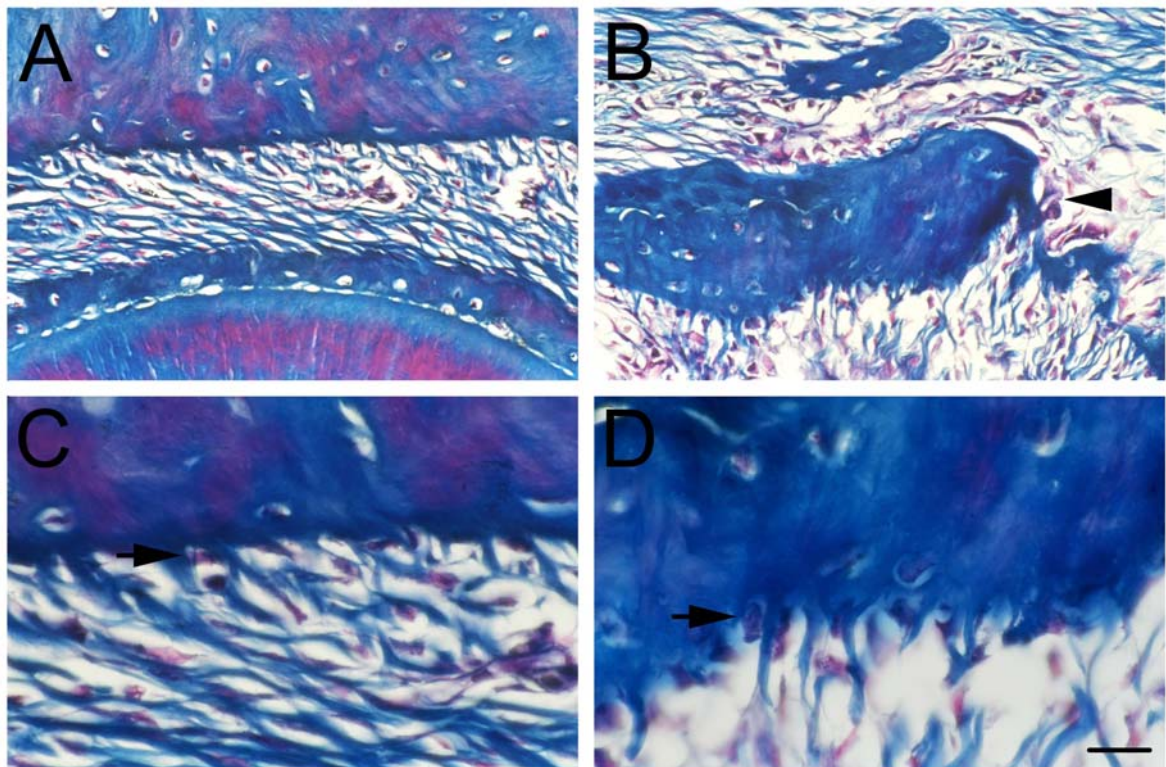
Quando comparados os grupos controle e pinealectomizado, no lado não tratado, a diferença da densidade de osteoclastos tratado nas regiões cervical, média e apical não foi estatisticamente significante ( $p > 0,05$ ). Enquanto no lado tratado, a diferença da densidade de osteoclastos na região cervical foi estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ) e, nas regiões média e apical não foi estatisticamente significante ( $p > 0,05$ ).



**Figura 11.** Média da Densidade de Osteoclastos em ratos Wistar de grupo controle (C) e pinealectomizado (Px) no lado não tratado (NT) e após tratamento ortodôntico (T). (A) Região cervical; (B) Região média; (C) Região apical. \*Teste t,  $p < 0,05$ ; C NT versus C T; Px NT versus Px T. .

### 5.1.1.3. OSTEÓBLASTOS

Os osteoblastos foram vistos em todos os casos tratados ou não revestindo o osso alveolar nos primeiros molares dos animais dos grupos controle e pinealectomizado. Os osteoblastos apareceram revestindo o osso alveolar e os osteócitos separados por matriz óssea (Figura 12).



**Figura 12. Osteoblastos em área de remodelação óssea após tratamento ortodôntico em ratos Wistar de grupo controle.** Coloração Tricrômico de Masson. (A e C) Osteoblastos (seta) no lado não tratado com aparelho ortodôntico; (B e D) Osteoblastos (seta) no lado tratado com aparelho ortodôntico. (A e B) Barra = 25 µm; (C e D) Barra = 10 µm.

Foi realizada uma avaliação morfométrica dos osteoblastos nas três regiões da raiz (cervical, média e apical) dos primeiros molares superiores dos lados não tratado e tratado com aparelho ortodôntico dos animais do grupo controle e do grupo pinealectomizado.

No grupo Controle, a diferença da densidade de osteoblastos do lado não tratado e do lado tratado foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) na região cervical, e nas regiões média e apical não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Na região cervical, no lado tratado ( $0,03620 \pm 0,00746$ ) a densidade de osteoblastos foi menor que no lado não tratado ( $0,04440 \pm 0,00415$ ). Na região média, a densidade de osteoblastos do lado tratado ( $0,02660 \pm 0,01811$ ) foi similar à do lado não tratado ( $0,02960 \pm 0,01152$ ). Também na região apical, a densidade de osteoblastos do lado tratado ( $0,03800 \pm 0,00212$ ) foi similar à do lado não tratado ( $0,04400 \pm 0,00212$ ) (Figura 13). Entre as três regiões da raiz do lado não tratado, a diferença da densidade de osteoblastos foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Entre as três regiões da raiz do lado tratado, a diferença da densidade de osteoblastos não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

No grupo Pinealectomizado, a diferença da densidade de osteoblastos no lado não tratado e no lado tratado não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) nas regiões cervical, média e apical da raiz. Na região cervical, no lado tratado ( $0,05740 \pm 0,02982$ ) a densidade de osteoblastos foi maior que no lado não tratado ( $0,04060 \pm 0,01146$ ). Na região média, no lado tratado ( $0,03320 \pm 0,00743$ ) a densidade de osteoblastos foi menor que no lado não tratado ( $0,04040 \pm 0,00498$ ). Na região apical, no lado tratado ( $0,03460 \pm 0,00384$ ) a densidade de osteoblastos foi maior que no lado não tratado ( $0,04220 \pm 0,01188$ ) (Figura 13). Entre as três regiões da raiz (cervical, média e apical) do lado não tratado, a diferença da densidade de osteoblastos não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Entre as três regiões da raiz do lado não tratado, a diferença da densidade de osteoblastos não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

Quando comparados os grupos controle e pinealectomizado, a diferença da densidade de osteoblastos nas regiões cervical, média e apical não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) no lado não tratado e no lado tratado.



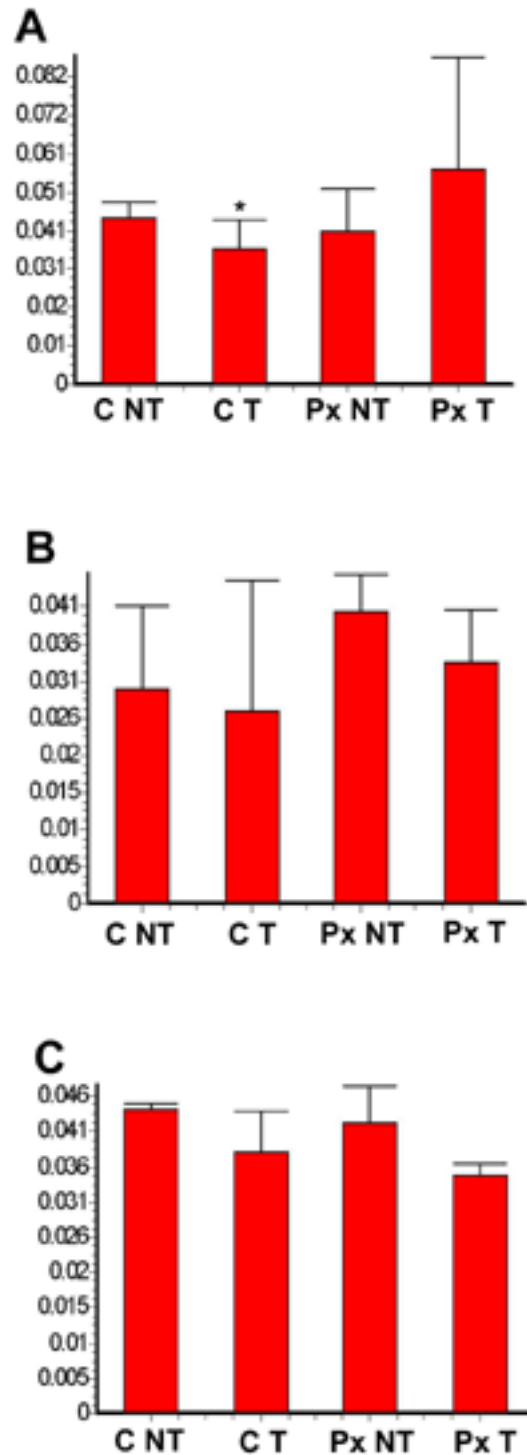
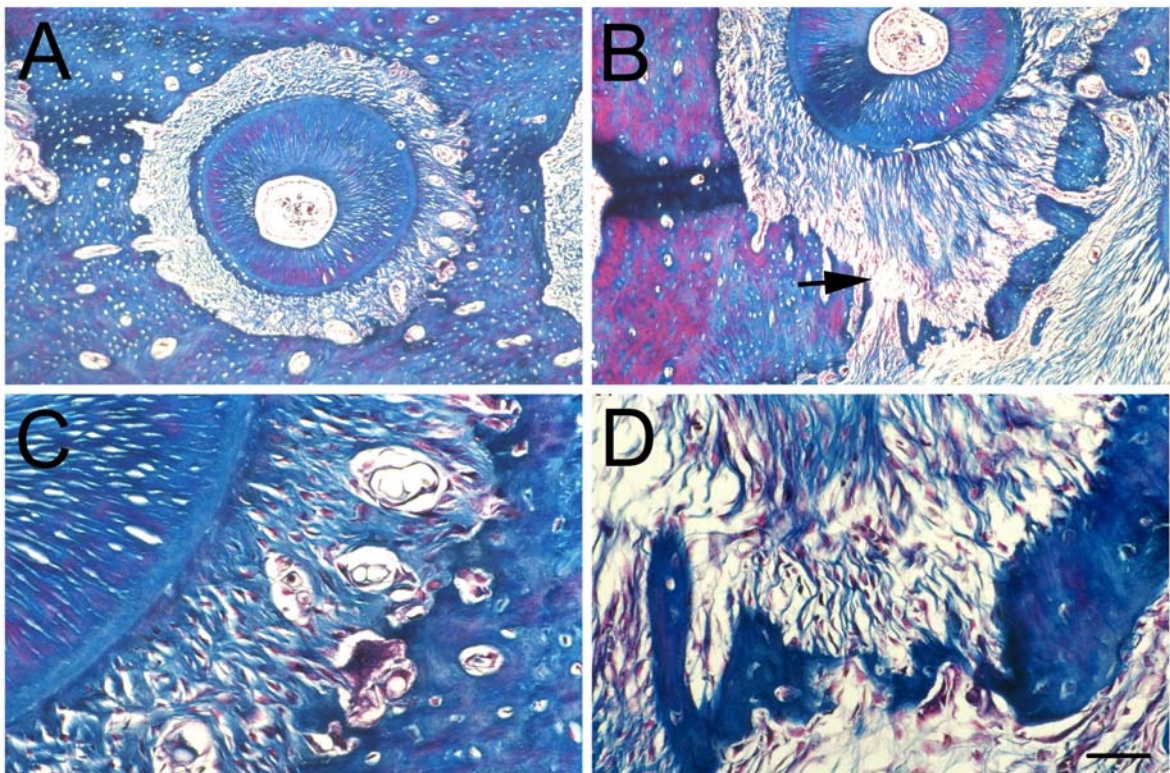


Figura 13. Média da Densidade de Osteoblastos em ratos Wistar de grupo controle (C) e pinealectomizado (Px) no lado não tratado (NT) e após tratamento ortodôntico (T). (A) Região cervical; (B) Região média; (C) Região apical. \*Teste t,  $p < 0,05$ ; C NT *versus* C T.

### 5.1.2. LIGAMENTO PERIODONTAL

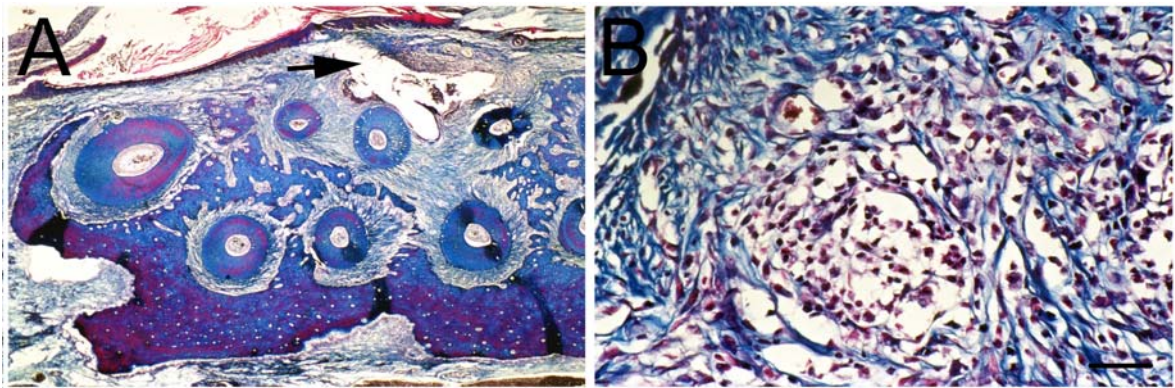
Houve alteração da estrutura do espaço do ligamento periodontal em todos nos lados tratados com aparelho ortodôntico dos grupos controle e pinealectomizado, especialmente na inserção das fibras periodontais no osso alveolar. No lado não tratado com aparelho ortodôntico dos grupos controle e pinealectomizados, o ligamento periodontal apresentou normal com largura constante e uniforme em toda sua extensão. Suas fibras colágenas paralelas entre si e as fibras de Sharpey inseridas perpendicularmente às superfícies óssea e cementária (Figura 14 A e C). No lado tratado com aparelho ortodôntico dos grupos controle e pinealectomizados, as fibras de Sharpey foram vistas desorganizadas, não estavam inseridas no osso alveolar e cimento devido à área de reabsorção óssea existente (figura 14 B e D).



**Figura 14.** Estrutura do ligamento periodontal após tratamento ortodôntico em ratos Wistar de grupo controle. Coloração Tricrômico de Masson. (A e C) lado não tratado com aparelho ortodôntico; (B e D) área de reabsorção óssea no lado tratado com aparelho ortodôntico. (A e B) Barra = 100  $\mu$ m; (C e D) Barra = 25  $\mu$ m.

### 5.1.3. BOLSA PERIODONTAL

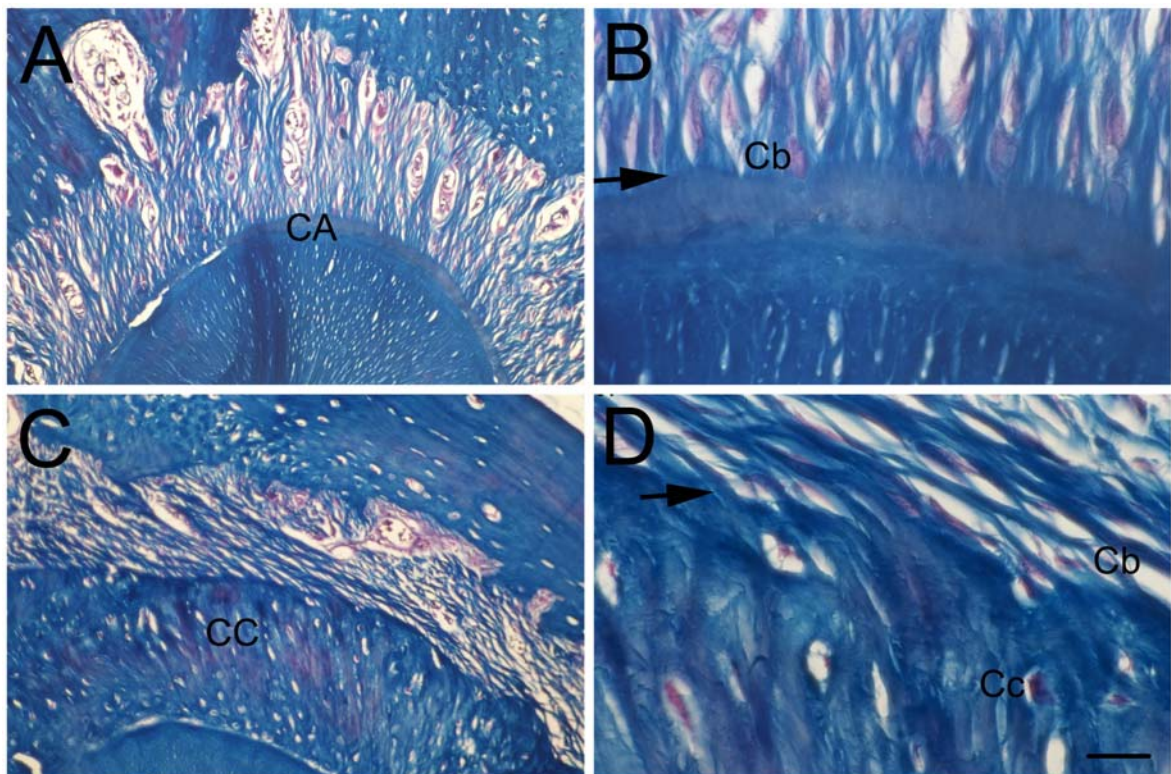
Foi observada uma lesão inflamatória com células mononucleares envolvendo os tecidos do periodonto de sustentação. Em 40% dos animais do grupo controle e pinealectomizados, foram observadas lesões similares à bolsa periodontal no lado tratado com aparelho ortodôntico (Figura 15).



**Figura 15. Lesão após tratamento ortodôntico em ratos Wistar de grupo controle.** Coloração Tricrômico de Masson. (A) Lesão (seta) no lado tratado com aparelho ortodôntico; (B) infiltrado inflamatório mononuclear. (A) Barra = 400  $\mu\text{m}$ ; (B) Barra = 25  $\mu\text{m}$ .

#### 5.1.4. CEMENTO

O aspecto morfológico do cimento não apresentou diferenças entre os lados não tratados e tratados com aparelho ortodôntico nos primeiros molares dos animais dos grupos controle e pinealectomizado. Foram vistas as fibras de Sharpey inseridas na matriz extracelular. Na região cervical, foi visto cimento acelular revestido por cementoblastos (Figura 16 A e B), e nas regiões média e apical, cimento celular os cementócitos aprisionados em lacunas e separados por matriz extracelular (Figura 16 C e D). A espessura do cimento foi vista aumentada na face mesial em todos os casos tratados e não tratados (Figuras 7, 8 e 9).



**Figura 16. Estrutura do cimento acelular e celular após tratamento ortodôntico em ratos Wistar.** Coloração Tricrômico de Masson. (A e C) Cimento acelular (CA) revestido por cementoblastos (Cb) e fibras de Sharpey inseridas na matriz extracelular (seta); (B e D) Cimento celular revestido por cementoblastos (Cb), cementócitos (Cc) aprisionados em lacunas separadas por matriz extracelular (azul) e fibras de Sharpey inseridas na matriz extracelular (seta). (A e B) Barra = 50 µm; (C e D) Barra = 10 µm.

### 5.1.5. REABSORÇÃO RADICULAR

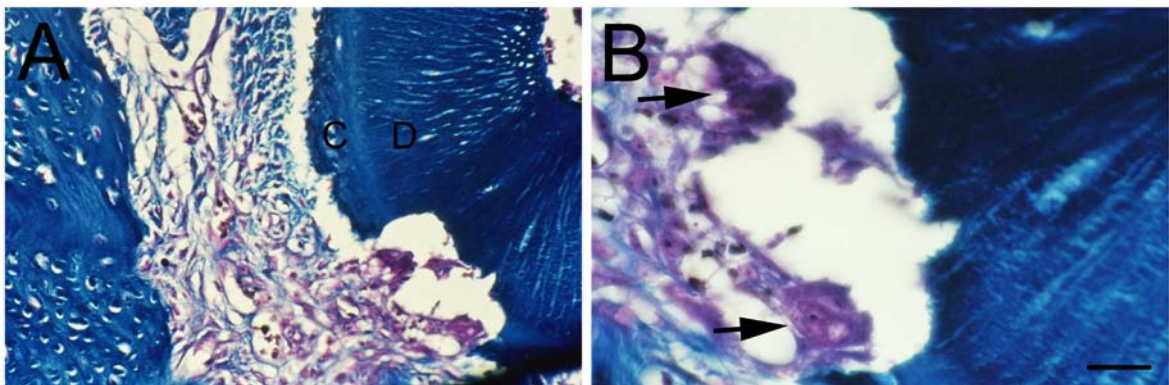
Os odontoclastos foram vistos no lado não tratado e tratado no espaço do ligamento periodontal dos primeiros molares superiores dos animais do grupo controle e pinealectomizado em áreas de reabsorção radicular de cimento e dentina. As células foram observadas multinucleadas com citoplasma acidófilo (Figura 17).

Na região cervical das raízes, houve reabsorção radicular nos casos tratados com aparelho ortodôntico em 40% dos casos do grupo controle (40% na face distal da raiz V, 40% na face distal da raiz MV e 20% na face mesial da raiz DV) e em 40% dos casos pinealectomizados (20% na face mesial das raízes MV, DV e DP e 20% na face distal da raiz V). No lado não tratado, houve reabsorção radicular em 60% dos casos do grupo controle (40% na face distal da raiz V, 40% na face distal da raiz MV e 20% na face distal da raiz MP) e 20% dos casos do grupo pinealectomizado (20% dos casos na face distal da raiz V e MV). Houve uma redução cerca de 30% do lado não tratado com aparelho ortodôntico dos animais pinealectomizados.

Na região média das raízes, houve reabsorção radicular nos casos tratados com aparelho ortodôntico em 80% do grupo controle (20% dos casos na face vestibular e 40% na face distal da raiz V, 40% dos casos na face distal da raiz MV, 20% dos casos na face mesial da raiz DV e 20% na face mesial da raiz DP) e em 40% no grupo pinealectomizado (20% dos casos MV e DP na face por mesial e em 20% V na face distal e MV na face palatina). No lado não tratado, houve reabsorção radicular em 40% dos casos do grupo controle (20% dos casos nas raízes V, MV e MP por distal e 20% em MV por palatina) e em 40% no grupo pinealectomizado (20% dos casos na face por mesial da raiz MV e DP e em 20% na face distal da raiz V e na face palatina da raiz MV). Os resultados mostraram uma redução de 50%

de reabsorção radicular no lado tratado do grupo pinealectomizado, mas no lado não tratado foram similares.

Na região apical das raízes, no lado tratado com aparelho ortodôntico foram observadas áreas de reabsorção radicular em 100% dos casos do grupo controle (40% dos casos na face mesial e 20% na face distal da raiz V, 60% dos casos na face distal e 20% na face palatina da raiz MV, 20% dos casos na face mesial e 20% na face distal da raiz DV, 40% dos casos na face distal da raiz MP e 20% dos casos na face mesial e 40% na face distal da raiz DP) e em 80% dos casos do grupo pinealectomizado (20% dos casos na face vestibular da raiz V, 20% dos casos na face distal da raiz MV, 20% dos casos na face mesial e 20% na face vestibular da raiz DV, 20% dos casos na face palatina MP e 20% dos casos na face mesial e 20% na face vestibular da raiz DP). No lado não tratado, houve reabsorção radicular em 40% dos casos do grupo controle (20% dos casos na face distal da raiz MP e 20% dos casos na face méσιο-distal da raiz V e MV) e em 20% do grupo pinealectomizado (face palatina da raiz MV). Nos animais pinealectomizados, houve uma redução 20% dos casos de reabsorção radicular no lado tratados e de 50% do lado não tratado com aparelho ortodôntico.



**Figura 17. Reabsorção radicular após tratamento ortodôntico em ratos Wistar.** Coloração Tricrômico de Masson. (A) Reabsorção radicular: cimento (C) e dentina (D); (B) Odontoclastos (seta). (A) Barra = 400  $\mu$ m; (B) Barra = 25  $\mu$ m.

## **6. DISCUSSÃO**

Neste trabalho foi realizada movimentação dentária induzida nos primeiros molares superiores de ratos machos de 120 dias, pinealectomizados e controles, em um período de 15 dias. A avaliação dos tecidos de sustentação das unidades submetidas à aplicação de força ortodôntica revelou importantes modificações no ligamento periodontal e no osso alveolar. Os osteoclastos foram vistos no lado controle e nas áreas de reabsorção óssea dos casos tratados, sendo nesses em quantidades maiores. Os osteoblastos estiveram presentes em todos os casos tratados ou não revestindo o osso alveolar. Houve alteração da estrutura do espaço do ligamento periodontal nos lados tratados com aparelho ortodôntico dos grupos controle e pinealectomizado, especialmente na inserção das fibras periodontais no osso alveolar. A espessura do cemento foi vista aumentada na face mesial em todos os casos tratados e não tratados. Houve reabsorção radicular tanto no grupo tratado como no não tratado.

Neste estudo, optamos pelo método proposto por HELLER e NANDA (1979), colocação de aparelho ortodôntico o qual não sofreu reativação durante o período



experimental. A escolha desse modelo de estudo ocorreu por sua semelhança aos aparelhos ortodônticos utilizados normalmente nas clínicas ortodônticas para correção de má-oclusões.

As alterações morfológicas do periodonto de sustentação visualizadas neste experimento por microscopia óptica foram semelhantes aos achados mencionados nos clássicos estudos de REITAN e KVAM (1971) e HELLER e NANDA (1979). As avaliações dos tecidos de sustentação das raízes dentárias dos primeiros molares superiores de ratos, submetidas à aplicação de força ortodôntica, revelaram importantes modificações no ligamento periodontal e no osso alveolar.

HELLER e NANDA (1979) avaliaram, em ratos, os efeitos da alteração metabólica das fibras periodontais no movimento ortodôntico. Os resultados foram semelhantes ao do nosso estudo, onde a resposta histológica típica à aplicação de força ortodôntica pode ocorrer na presença de um periodonto alterado fisicamente.

As forças mecânicas agem juntamente sobre o osso e cimento, unidos pelo ligamento periodontal, e ao ser aplicada uma força sobre o dente, cria-se no lado de pressão uma desorganização do ligamento periodontal e uma ação compressiva idêntica sobre os limites fisiológicos da superfície radicular e óssea, provocando uma reabsorção óssea (ROBERTS-HARRY; SANDY, 2004). O mecanismo da reabsorção óssea durante o movimento ortodôntico envolve uma série de etapas direcionadas para a remoção dos constituintes minerais e orgânicos da matriz óssea pelos osteoclastos, auxiliados pelos osteoblastos. Neste processo os osteoblastos desempenham um papel regulador central, servindo como mediadores da ação hormonal sobre o osso e influenciando a ação de osteoclastos por comunicação parácrina (DUCY; SCHINKE; KARSENTY, 2000).

Osteoclastos estavam presentes na superfície óssea estudada tanto no grupo controle como no pinealectomizado. Nestes animais houve a diferença estatisticamente significativa da densidade de osteoclastos do lado não tratado e tratado, demonstrando que as forças geradas

pelo aparelho ortodôntico promoveram uma ativação do processo de reabsorção óssea. Houve menor número de osteoclastos observados nas superfícies do osso periodontal de ratos pinealectomizados, sugerindo que a melatonina influencia o processo de ativação de osteoclastos e/ou sua eliminação por apoptose.

Os osteoblastos apareceram tanto no grupo controle e pinealectomizado, dos lados tratado e não tratado. A diferença estatisticamente significativa da densidade de osteoblastos entre as três regiões radiculares apenas no lado não tratado do grupo controle indica um padrão de comportamento oposto ao dos osteoclastos.

É possível que no nosso experimento a ativação de osteoclastos possa ter sido reduzida na ausência de melatonina através de um mecanismo que incluiu mediadores liberados pelos osteoblastos e que o menor número de osteoblastos represente uma situação ainda de predomínio de reabsorção sobre a formação de novo material ósseo.

A movimentação dentária e remodelação óssea associada a esse processo sofre influência de vários fatores já conhecidos como hormônios e mediadores da resposta inflamatória. Entre os hormônios, são relatadas influências de tiroxina e paratormônio, facilitando a movimentação dentária (SHIRAZI, DEHPOUR; JAFARI, 1999; SHIRAZI, KHOSROWSHAHI; DEHPOUR, 2001). Fatores produzidos durante a reação inflamatória, que acompanha o movimento do dente, como as prostaglandinas e o óxido nítrico facilitam a movimentação, enquanto o cálcio dificulta esta movimentação (SEIFI, ESLAMI; SAFFAR, 2003). Com relação à vitamina D, existem relatos contraditórios: sua presença aumenta o número de osteoclastos e facilita a movimentação dentária (KAWAKAMI, 1990), que não interfere na movimentação dentária (TAKANO-YAMAMOTO, 1992) e ainda que aumenta a mineralização óssea (KAWAKAMI; TAKANO-YAMAMOTO, 2004).

Os animais dos grupos controle e pinealectomizado não tratados com aparelho ortodôntico apresentaram fibras do ligamento periodontal organizadas e distendidas, discretos

osteoblastos e osteoclastos. Houve alteração da estrutura do espaço do ligamento periodontal em todos nos lados tratados com aparelho ortodôntico dos grupos controle e pinealectomizado, especialmente na inserção das fibras periodontais no osso alveolar.

Como o cimento é mais resistente do que o tecido ósseo, geralmente essas forças causam reabsorção óssea, promovendo o movimento dentário (CHO e GARANT, 2000). Foram observados tanto no grupo controle como no pinealectomizado, o aumento da espessura do cimento do lado mesial, indicando que a melatonina não deve ter um efeito nesse processo.

ROTH et al (1999) demonstraram que a melatonina é capaz de promover diferenciação de osteoblastos e mineralização da matriz óssea *in vitro*. NAKADE *et al.*(1999) verificaram que a adição de melatonina a cultura de osteoblastos é capaz de ativar a proliferação destas células e a produção de colágeno tipo I, um dos componentes da matriz óssea. A falta de trabalhos relacionando pinealectomia e remodelação óssea alveolar sugere uma hipótese que poderia ser considerada: a ausência de melatonina reduziria, *in vivo*, a proliferação e atividade de osteoblastos, com conseqüente redução da formação do osso alveolar.

Na literatura há vários relatos de modelos experimentais semelhantes cujos resultados se mostram opostos. LADIZESKY et al. (2001) relataram que a ovariectomia em ratas reduz a densidade óssea e esta situação não é melhorada pela administração de melatonina aos animais por via oral, enquanto KOYAMA et al. (2002) demonstraram que a administração parenteral de melatonina aumentou a densidade óssea em camundongos, através de uma ação ativadora de osteoblastos e da deposição de cálcio.

A remodelação óssea é um processo cíclico. Admite-se que o início desse ciclo seja dado por um sinal originado dos osteoblastos e osteócitos de superfície, que dirigem a migração e/ou diferenciação das células responsáveis pela reabsorção óssea, os osteoclastos. O resultado da atividade dessas células é uma verdadeira escavação óssea e liberação, para a

corrente circulatória, de produtos da degradação do tecido ósseo - aminoácidos e íons. Uma vez completada esta fase, os osteoclastos deixam o local da reabsorção e, após vários dias, são substituídos por células formadoras de tecido ósseo, os osteoblastos. O resultado da atividade dessas células é o preenchimento das cavidades deixadas pelos osteoclastos com tecido ósseo recém-sintetizado (KOBAYASHI e UDAGAWA, 2007). O caráter cíclico do processo de remodelação óssea sugere a existência de um mecanismo de acoplamento entre a reabsorção e formação óssea, neste estudo foi bem demonstrado.

Na medida em que envelhecemos nosso sistema imunológico vai perdendo o desempenho vigilante, diminuindo as defesas e permitindo que nosso organismo fique mais vulnerável às constantes agressões. As pesquisas atuais têm nos sugerido haver uma importante relação entre alguns hormônios (Estrogênio, Testosterona, DHEA, Melatonina, e Hormônio do Crescimento) e o Sistema Imunológico (STEPAN, 1987). Nesse ponto a Melatonina vem se destacando como um agente de manutenção da harmonia e do funcionamento do sistema imunológico. A quantidade de melatonina produzida pelo organismo decresce com o passar do tempo, depois da puberdade, chegando a concentrações sanguíneas irrisórias nos idosos. Essa constatação levantou a suspeita de que a perda gradual de melatonina poderia precipitar o processo do envelhecimento (SACK *et al.*, 1986; PIERPAOLI, W. *et al.*, 1991).

A análise das demais estruturas associadas ao periodonto de sustentação mostrou aspectos morfológicos compatíveis com a ação das forças remodeladoras, entretanto, parece que não há influência da melatonina em vários deles.

RYGH (1977) estudou o processo de reabsorção de cemento e dentina induzida ortodonticamente e concluiu que, por uma aplicação contínua de força ortodôntica, o processo de reabsorção acontecerá. Existem duas formas de reabsorção radicular: fisiológica e patológica. A primeira ocorrendo em dentes decíduos, como parte do processo de esfoliação

(fase de rizólise) do dente e a segunda, podendo ser causada por pressão de dentes impactados sobre os dentes adjacentes, reimplantes dentários, trauma oclusal crônico, tumores benignos e malignos, lesões periapicais, distúrbios metabólicos e sistêmicos, hereditariedade, tratamento ortodôntico e fatores idiopáticos. Dentre essas determinantes, a movimentação ortodôntica parece ser o fator mais relevante dessa alteração (FUSS; TSEISS; LIN, 2003; LEE *et al.*, 2004). Em concordância, a reabsorção radicular vista no lado tratado dos grupos controle e pinealectomizado, indica que a melatonina não deve ter um efeito nesse processo.

A quantidade de melatonina produzida pelo organismo decresce com o passar do tempo, depois da puberdade, chegando a concentrações sanguíneas bastante baixas nos idosos (SACK *et al.*, 1986; PIERPAOLI, W. *et al.*, 1991). Para esclarecer sua influência e tentar correlacionar com o que pode advir do uso de aparelho ortodôntico em uma população idosa, cuja melatonina pode estar em declínio. Além disso, à medida que envelhecemos nosso sistema imunológico (que participa da reação no local de movimentação ortodôntica) reduz sua capacidade de atuar favoravelmente e pode até prejudicar o organismo. Pesquisas têm sugerido uma importante relação entre alguns hormônios (estrogênio, testosterona, DHEA, melatonina, e hormônio do crescimento) e o sistema imunológico (STEPAN, 1987). Nesse ponto, a melatonina vem se destacando como um agente de manutenção da harmonia e do funcionamento do sistema imunológico, além de influenciar células ósseas.

Finalmente, na clínica odontológica, as técnicas de Ortodontia têm sido aplicadas cada vez mais em um público diferenciado, os adultos e mesmo idosos. Com o envelhecimento, a glândula pineal diminui sua função havendo uma queda da secreção do hormônio melatonina, através desse estudo percebemos que é importante verificar as forças aplicadas ao periodonto de inserção em adultos, devido a uma reabsorção óssea maior em animais pinealectomizados.

## **7. CONCLUSÕES**

Os resultados desse estudo sugerem que a melatonina exerce um importante efeito na remodelação óssea em ratos submetidos à ação de forças pelo aparelho ortodôntico. Esse conhecimento pode ser importante na clínica odontológica, para o uso seguro de aparelhos ortodônticos em adultos e idosos, quando a glândula pineal diminui a secreção de melatonina.

No grupo controle, o aumento significativo da densidade de osteoclastos do lado tratado em relação ao não tratado sugere um efeito da ação de forças do aparelho ortodôntico sobre essas células. Além da ação de forças do aparelho ortodôntico, a diferença estatisticamente significativa da densidade de osteoclastos entre as três regiões radiculares nos animais pinealectomizados sugere um efeito da melatonina.

A diferença estatisticamente significativa da densidade de osteoblastos entre as três regiões radiculares apenas no lado não tratado do grupo controle indica um padrão de comportamento oposto ao dos osteoclastos.

A alteração morfológica similar observada na estrutura do ligamento periodontal nos lados tratados com aparelho ortodôntico controle e pinealectomizado indica que a melatonina não deve ter um efeito nesse processo.

O aumento da espessura do cimento na face mesial em todos os casos nos lados tratados e não tratados dos grupos controle e pinealectomizado indica que a melatonina não deve ter um efeito nesse processo.

A reabsorção radicular tanto no lado tratado como no não tratado dos grupos controle e pinealectomizado indica que a melatonina não deve ter um efeito nesse processo.

## RESUMO

A melatonina participa de vários processos fisiológicos incluindo indução de sono, atividade gastrointestinal, função dos sistemas imunológico, cardiovascular, renal, reprodutor e sobre a fisiologia óssea. O objetivo deste estudo foi avaliar o envolvimento da melatonina na remodelação do osso alveolar de ratos submetidos a tratamento ortodôntico. Dez ratos wistar machos foram submetidos, sob crióanestesia, à pinealectomia ou cirurgia fictícia aos 5 dias de vida. Aos 120 dias de idade os animais foram anestesiados com Tiopental sódico e o aparelho ortodôntico foi fixado usando resina adesiva. Após 15 dias de tratamento ortodôntico os animais foram sacrificados por exposição a ambiente saturado de vapor de éter anestésico. As maxilas foram dissecadas, fixadas com formaldeído 10%, descalcificadas com ácido nítrico, desidratadas e embebidas em parafina. Secções transversais dos terços cervical, médio e apical das raízes dos molares foram analisadas. A análise morfológica mostrou uma intensa destruição do osso alveolar dos ratos pinealectomizados submetidos a tratamento ortodôntico, quando comparados ao grupo controle.

Os resultados sugerem que a melatonina desempenha um importante papel na remodelação do osso alveolar de ratos submetidos a tratamento ortodôntico. Possivelmente, a melatonina estimula a atividade de osteoblastos e a formação óssea. Além disso, a melatonina pode exercer um efeito inibitório na atividade de osteoclastos, causando uma maior reabsorção óssea em ratos pinealectomizados.



## ABSTRACT

Melatonin participates in a wide variety of physiological functions, including sleep induction, gastrointestinal activity, immune defense response, cardiovascular function, renal function and reproduction. This hormone also has effect in bone physiology, modulating osteoblasts and osteoclast activity. The aim of this study was to evaluate the involvement of melatonin on rat alveolar bone remodeling submitted to orthodontic treatment. Ten male Wistar rats were submitted to cryoanesthesia and pinealectomized or sham operated at five days of birthday. At 120 days of age, the animals were anesthetized with thiopental sodium and the orthodontic appliances (NiTi coil) were fixed between first molar and incisor teeth using an adhesive resin. After fifteen days of orthodontic treatment the animals were sacrificed by exposition to a saturated anesthetic ether vapor environment. The maxillas were dissected, fixed with formaldehyde 10%, decalcified with nitric acid, dehydrated and embedded in paraffin. Transversal sections of cervical, medium and apical first molar root were analyzed. Morphological analysis showed greater alveolar bone destruction of pinealectomized rats pinealectomized submitted to orthodontic treatment compared to control group. The results suggest that melatonin plays an important role in alveolar bone remodeling of rats submitted to the orthodontic treatment probably stimulating osteoblasts action and bone formation. Also, the melatonin also exerts an inhibitory effect on osteoclasts activity and it causes greater bone reabsorption in pinealectomized rats.

## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ARMSTRONG, D. *et al.* Root resorption after orthodontic treatment. **Aust Orthod J**, v. 22, n. 2, p. 153-60, 2006.
- ASHIZAWA, Y.; SAHARA, N. Quantitative evaluation of newly formed bone in the alveolar wall surrounding the root during the initial stage of experimental tooth movement in the rat. **Arch Oral Biol**, v. 43, n. 6, p. 473-84, 1988.
- ATTAL, U. *et al.* Histomorphometric study of the periodontal vasculature during and after experimental tipping of the rat incisor. **Arch Oral Biol**, v. 46, n.10, p. 891-900, 2001.
- BAGNALL, K. *et al.* The effects of melatonin therapy on the development of scoliosis after pinealectomy in the chicken. **J Bone Joint Surg**, v. 81-A, n.2, p.191-199, 1999.
- BARON, R.; TROSS, R.; VIGNERY, A. Evidence of sequential remodeling in rat trabecular bone: morphology, dynamic, histomorphometry and changes during skeletal maturation. **Anat Rec**, v. 208, n. 1, p. 137-145, 1984.
- BOSSHARDT, D. D.; SCHROEDER, H. E. Initiation of a cellular extrinsic fiber cementum on human teeth. **Cell Tissue Res**, v. 263, p. 311-324, 1991.
- BREZNIAK, N.; WASSERSTEIN, A. Root resorption after orthodontic treatment: Part 2. Literature review. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 103, n. 21, p. 38-46, 1993.
- BOYCE, B. F.; XING, L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. **Arthritis Res Ther**, v. 9, n. 1, S1, 2007.
- CARDINALI, D. P. *et al.* Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives. **J Pineal Res**, v. 34, n. 2, p. 81-87, 2003.
- CHO, M; GARANT, P. R. Development and general structure of the periodontium. **Periodontol**, v. 25, n. 1, p. 9-27, 2000.
- CUTANDO, A. *et al.* Melatonin: Potential Functions in the Oral Cavity. **J Periodontol**, v. 78, n. 6, p. 1094-1102, 2007.
- DUCY, P.; SCHINKE, T.; KARSENTY, G. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. **Science**, v. 289, n. 1, p. 1501-1504, 2000.
- ENGSTRÖM, C.; GRANSTRÖM, G.; THILANDER, B. Effect of orthodontic force on periodontal tissue metabolism. A histologic and biochemical study in normal and hypocalcemic young rats. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 93, n. 6, p. 486-495, 1988.
- FULLMER, H. M. Histochemical studies of periodontium. **J Dent Res**, v. 45, n. 3, p. 469-477, 1966.
- FUSS, Z.; TSEHIS, I.; LIN, S. Root resorption--diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors. **Dent Traumatol**, v. 19, n. 4, p. 175-82, 2003.
- GILAD, E. *et al.* Melatonin is a scavenger of peroxynitrite. **Life Sci**, v. 60, n. 10, p. 169-175, 1997.

GRIMM, F. M. Bone bending, a feature of orthodontic tooth movement. **Am J Orthod**, v. 62, n. 4, p. 384-392, 1972.

GRIVAS, T.B.; SAVVIDOU, O. D. Melatonin the "light of night" in human biology and adolescent idiopathic scoliosis. **Scoliosis**, v. 4, n. 2, p. 1-14, 2007.

HAYNES, D. R. *et al.* Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) regulate osteoclast formation by cells in the human rheumatoid arthritic joint. **Rheumatology (Oxford)**, v. 40, n. 6, p. 623-630, 2001.

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

HARDELAND R., PANDI-PERUMAL S.R., CARDINALI D.P. Melatonin. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 38, n. 3, p. 313-316, 2006.

HARDELAND, R; PANDI-PERUMAL, S. R. Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: Actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug. **Nutr Metab**, p. 3-15, 2005.

HASHIMOTO, F. *et al.* Administration of osteocalcin accelerates orthodontic tooth movement induced by a closed coil spring in rats. **Eur J Orthod**, v. 23, n.5, p. 535-545, 2001.

HASSEL, T. M. Tissues cells of the periodontium. **Periodontol 2000**, v. 3, p. 9-38, 1993.

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

HILIBRAND, A. S. *et al.* The role of melatonin in the pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis. **Spine**, v.21, n. 10, p. 1140-1146, 1996.

HILL, P. A. Bone remodeling. **Br J Orthod**, v. 25, n. 2, p. 101-107, 1998.

HOFBAUER, L. C.; NEUBAUER, A.; HEUFELDER, A. E. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin:potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. **Cancer**, v. 92, n. 3, p. 460-70, 2001.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. S. F. **Histologia Básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KARSENTY, G. Bone formation and factors affecting this process. **Matrix Biol**, v.19, n. 2, p. 85-89, 2000.

KATAGIRI, T.; TAKAHASHI, N. Regulatory mechanisms of osteoblast and osteoclast differentiation. **Oral Dis**, v. 8, n. 3, p. 147-159, 2002.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. **Histologia e Embriologia Oral**. 2. ed., Rio de Janeiro: Guanabara, 2004.

KAWAKAMI M. Effects of local application of 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> on experimental tooth movement in rats. **Osaka Daigaku Shigaku Zasshi**, v. 35, n.1, p. 128-146, 1990.

KAWAKAMI, M.; TAKANO-YAMAMOTO, T. Local injection of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> enhanced bone formation for tooth stabilization after experimental tooth movement in rats. **J Bone Miner Metab**, v. 22, n. 6, p. 541-546, 2004.

KI, H. R. The effects of orthodontic forces on the mechanical properties of the periodontal ligament in the rat maxillary molars. **Am J Orthod Dentofac Orthop**, v. 98, p. 533-543, 1990.

KOBAYASHI, Y.; UDAGAWA, N. Mechanisms of alveolar bone remodeling. **Clin Calcium**, v. 17, n. 2, p. 209-216, 2007.

KOGIANNI, G.; NOBLE, B. S. The biology of osteocytes. **Curr Osteoporos Rep**, v. 5, n. 2, p. 81-86, Jun. 2007.

KOYAMA, H. *et al.* Melatonin at pharmacologic doses increases bone mass by suppressing resorption through down-regulation of the RANKL-mediated osteoclast formation and activation. **J Bone Miner Res**, v. 17, n. 7, p. 1219-1229, 2002.

LADIZESKY, M. G. *et al.* Effect of melatonin on bone metabolism in ovariectomized rats. **Life Sci**, v. 70, n. 5, p. 557-565, 2001.

LEE, A. *et al.* Root resorption: the possible role of extracellular matrix proteins. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 126, p. 173-177, 2004.

MACCHI, M. M., BRUCE J.N. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. **Front Neuroendocrinol**, v. 25, p. 177-195, 2004.

MACHIDA, M. *et al.* Melatonin a possible role in pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis. **Spine**, v. 21, n. 10, p. 1147-1152, 1996.

MACHIDA, M.; DUBOUSSET, J.; SATOH, T. Pathologic mechanism of experimental scoliosis in pinealectomized chickens. **Spine**, v.26, n. 17, p. 385-391, 2001.

MARIOTTI, A.; COCHRAN, D. L. Characterization of fibroblasts derived from human periodontal ligament and gingiva. **J Periodontol**, v. 61, n. 2, p. 103-111, 1990.

MOSTAFA, Y. A.; WEAKS-DYBVIG, M.; OSDOBY, P. Orchestration of tooth movement. **Am J Orthod**, St. Louis, v. 83, n. 3, p. 245-250, 1983.

NAKADE, O. *et al.* Melatonin stimulates proliferation and type I collagen synthesis in human bone cells in vitro. **J Pineal Res**, v. 27, n.2, p. 106-110, 1999.

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

O'KELLY, C. *et al.* The production of scoliosis after pinealectomy in young chickens, rats, and hamsters. **Spine**, v. 24, n. 1, p. 35-43, 1999.

- OSTROWSKA, Z. *et al.* The relationship between bone metabolism, melatonin and other hormones in sham-operated and pinealectomized rats. **Endocr Regul**, v. 37, p. 211-224, 2003.
- OWENS, P. D. A. Patterns of mineralization in the roots of premolar teeth in dogs. **Arch oral Biol**, Oxford, v. 20, p. 709-712, 1975.
- PHIFER, C. B.; TERRY, L. M. Use of hypothermia for general anesthesia in preweaning rodents. **Physiol behav**, v. 38, n. 6, p. 887-890, 1986.
- PIERPAOLI, W. *et al.* The pineal control of aging. The effects of melatonin and pineal grafting on the survival of older mice. **Ann N Y Acad Sci**, v. 621, p. 291-313, 1991.
- RALSTON, S. H. *et al.* Nitric oxide: cytokine-induced regulator of bone resorption. **J Bone and Mineral Research**, v. 10, p. 1040-1049, 1995.
- ROTH, J. A. *et al.* Melatonin promotes osteoclast differentiation and bone formation. **J Biol Chem**, v. 274, n. 31, p. 22041-22047, 1999.
- REITAN, K.; KVAM, E. Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement. **Angle Orthod**, v. 41, n. 1, p. 1-14, 1971.
- REITER, J. R. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. **Europ J Endocrinol**, v. 134, p. 412-420, 1996.
- REITER, J. R. *et al.* Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions. **Acta Biochim Pol**, v. 54, p. 1-9, 2007.
- REITER, J. R. *et al.* Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. **Acta Biochim Pol**, v. 50, n. 4, p. 1129-1146, 2003.
- RYGH, P. Orthodontic root resorption studied by electron microscopy. **Angle Orthod, Appleton**, v. 47, n. 1, p.1-15, 1977.
- ROBERTS-HARRY, D.; SANDY, J. Orthodontics. Part 11: orthodontic tooth movement. **Br Dent J**, v. 196, n. 7, p. 391-394, 2004.
- SAAD, K.; REIS, Luiz Carlos dos . Influência da melatonina sobre o desenvolvimento corporal e ósseo de ratos. **Revista Médica de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 14, n. 4, p. 228-232, 2004.
- SACK, R. L. *et al.* Human melatonin production decreases with age. **J Pineal Res**, v. 3, n. 4, p. 379-388, 1986.
- SADAT-ALI, M.; al-HABDAN, I.; al-OTHMAN, A. Adolescent idiopathic scoliosis. Is low melatonin a cause? **Joint Bone Spine**, v. 67, n. 1, p. 62-64, 2000.
- SATOMURA, K. *et al.* Melatonin at pharmacological doses enhances human osteoblastic differentiation in vitro and promotes mouse cortical bone formation in vivo. **J Pineal Res**, v. 42, n. 3, p. 231-239, 2007.

- SAYGIN, N.E.; GIANNOBILE, W. V.; SOMERMAN, M.J. Molecular and cell biology of cementum. **Periodontol** 2000, v. 24, p. 73-98, 2000.
- SEIFI, M.; ESLAMI, B.; SAFFAR, A. S. The effect of prostaglandin E2 and calcium gluconate on orthodontic tooth movement and root resorption in rats. **Eur J Orthod**, v. 25, n. 2, p. 199-204, 2003.
- SHIRAZI, M.; DEHPOUR, A. R.; JAFARI, F. The effect of thyroid hormone on orthodontic tooth movement in rats. **J Clin Pediatr Dent**, v. 23, n. 3, p. 259-264, 1999.
- SHIRAZI, M.; KHOSROWSHAHI, M.; DEHPOUR, A. R. The effect of chronic renal insufficiency on orthodontic tooth movement in rats. **Angle Orthod**, v. 71, n. 6, p. 494-498, 2001.
- SILMAN, R. E.; LEONE, R. M.; HOOPER, R. J. L. Melatonin, the pineal gland and human puberty. **Nature**, v. 282, p. 301-303, 1979.
- SKENE, D.J.; ARENDT, J. Human circadian rhythms: physiological and therapeutic relevance of light and melatonin. **Ann Clin Biochem**, v. 43, p. 344-353, 2006.
- SMITH, R. Bone physiology and the osteoporotic process. **Respir Med**, v. 87, p. 3-7, 1993.
- STEPAN, J. J. Bone loss and biochemical indices of bone remodeling in surgically induced postmenopausal women. **Bone**, v. 8, p. 279-284, 1987.
- SOFIC, E. *et al.* Antioxidant capacity of the neurohormone melatonin. **J Neural Transm**, v. 112, n. 3, 2005.
- TAKAHASHI, N. *et al.* Regulation of osteoclast polarization. **Odontology**, v. 95, n. 1, p. 1-9, 2007.
- TAKANO-YAMAMOTO, T. *et al.* Effect of age on the rate of tooth movement in combination with local use of 1,25(OH)2D3 and mechanical force in the rat. **J Dent Res**, v. 71, n. 8, p. 1487-1492, 1992.
- TALIC, N. F. *et al.* Proliferation of epithelial rests of Malassez during experimental tooth movement. **Am J Orthod Dentofac Orthop**, v. 123, n. 5, p. 527-533, 2003.
- TEITELBAUM, S. L. Bone resorption by osteoclasts. **Science**, v. 289, n. 5484, p. 1504-1508, 2000.
- TEN CATE, A. R. **Histologia Bucal, Desenvolvimento, Estrutura e Função**. 5. ed., Rio de Janeiro: Guanabara, 2001.
- TSAY, T. P.; CHEN, M. H.; OYEN, O. J. Osteoclast activation and recruitment after application of orthodontic force. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 115, n. 3, p. 323-330, 1999.
- TSURUTA, M. *et al.* Effect of experimental tooth movement on the mechanical strength of periodontium in the rat mandibular first molar. **Archs Oral Biol**, v. 27, p. 875-879, 1982.

VIEIRA, J. G. Considerações sobre os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo e sua utilidade prática. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 43, p. 415-422, 1999.

VIGNERI, A.; BARON, R. Dynamic histomorphometric of alveolar bone remodeling in the adult rat. **Anat Rec**, v. 196, n. 2, p. 191-200, 1980.

YEE, J. A. Response of periodontal ligament cells to orthodontic force: ultrastructural identification of proliferating fibroblasts. **Anat Rec**, v. 194, n. 4, p. 603-614, 1979.

YOSHIKAWA, K. Biomechanical principles tooth movement. **Dental Clin North Am**, Philadelphia, v. 25, n. 1, p. 19-26, 1981.



# 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](#)