

MARCELO SOUSA GOMES

**EFEITO DA INJEÇÃO DE TOXINA BOTULÍNICA TIPO A NO MÚSCULO
TEMPORAL, AVALIANDO O CRESCIMENTO CRANIOFACIAL EM RATOS**

CAMPINAS
2008

MARCELO SOUSA GOMES

**EFEITO DA INJEÇÃO DE TOXINA BOTULÍNICA TIPO A NO MÚSCULO
TEMPORAL, AVALIANDO O CRESCIMENTO CRANIOFACIAL EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Centro de Pós-Graduação / CPO São Leopoldo Mandic, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Ortodontia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Cecanho.

CAMPINAS
2008

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca "São Leopoldo Mandic"

G633e Gomes, Marcelo Sousa.
Efeito da injeção de toxina botulínica tipo A no músculo temporal, avaliando o crescimento craniofacial em ratos / Marcelo Sousa Gomes. - Campinas: [s.n.], 2008.
74f.: il.

Orientador: Rodrigo Cecanho.
Dissertação (Mestrado em Ortodontia) - C.P.O. São Leopoldo Mandic - Centro de Pós-Graduação.

1. Circunferência craniana. 2. Toxina botulínica tipo A. 3. Ortodontia. I. Cecanho, Rodrigo. II. C.P.O. São Leopoldo Mandic - Centro de Pós-Graduação. III. Título.

SÃO LEOPOLDO MANDIC
C.P.O. - CENTRO DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS

Folha de Aprovação

A dissertação intitulada: “EFEITO DA INJEÇÃO DE TOXINA BOTULÍNICA TIPO A NO MÚSCULO TEMPORAL, NO CRESCIMENTO CRANIOFACIAL EM RATOS” apresentada ao Centro de Pós-Graduação, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração: Ortodontia em 28/02/2008, à comissão examinadora abaixo denominada, foi aprovada após liberação pelo orientador.

Prof. (a) Dr Rodrigo Cecanho

Prof. (a) Dr.(a) Roberta Tarkany Basting Hofling

Prof. (a) Dr (a) Gisela André Peganini

DEDICATÓRIA

Este trabalho foi idealizado nos bancos da escola da graduação e ganhou força, pelo exemplo de meus mestres, durante o curso de especialização em ortodontia. Mestres que me ensinaram a arte da odontologia, a obtenção de prazer no processo de aprendizado e ensinar para compartilhar, sempre com humildade e perseverança.

A **DEUS** que fez com que o alicerce na fé e a certeza de seu amor guiassem meus passos à conclusão deste trabalho, ao senhor a dedicação de toda a minha vida.

Minha realização de fazer este trabalho não pode ser redigida no singular, mas sim no plural, onde faço de minha realização - nossa realização, sendo assim, dedico este trabalho a minha esposa e companheira **CRISTIANY**, que mais uma vez deixou que minha paixão pela ortodontia privasse nossa família da realização de nossos planos. A você, dedico e compartilho a realização de mais uma etapa vitoriosa em nossas vidas.

- ✓ Por seu amor e companheirismo;
- ✓ Por assumir, em minha ausência, o papel de pai;
- ✓ Por zelar por nossa família;
- ✓ Por sempre acreditar em meus sonhos e sonhar comigo.

Principalmente, por entender e compartilhar de minha realização profissional, mesmo sem entender claramente minha paixão pelo aprendizado, me apoiando sempre. A você, o meu agradecimento maior.

As nossas melhores obras que **DEUS** nos confiou, **FELIPE E ANNA LUISA**, razões de nossas vidas. A eles, esperamos ser sempre exemplos de dedicação e perseverança na realização dos estudos.

- ✓ Pelos beijos e abraços na volta para casa.
- ✓ Pelas horas que não estive ao lado de vocês, mas tenho a certeza que lhes retribuirei com o exemplo.

Recebam minha gratidão

Meus amados pais, **Sebastião Gomes Rocha e Maria José de S. Gomes**, por terem abdicado de suas vidas para que eu tivesse a oportunidade de estar aqui hoje concretizando mais este projeto. Pelo apoio incondicional nos estudos e pelo exemplo de vida.

Aos meus familiares pelo apoio e incentivo, em especial, aos meus irmãos e colegas de odontologia, **Maurício Gomes e Silvania Gomes**, pela amizade e companheirismo que sempre tiveram comigo e, em especial na minha formação.

Guardarei sempre em minhas melhores lembranças:

A todos os colegas da "Turma 01/04" que durante toda a caminhada me fortaleceram com um sorriso amigo e me incentivaram à concretização deste trabalho. Em especial, aos queridos amigos **Leonardo Becali Guaitolin e Marcelo Trabuco** que se tornaram amigos fiéis e, porque não dizer irmãos camaradas. A vocês, dedico à co-autoria deste trabalho, pois sem vocês não teria sido possível sua realização. Permita-me sempre partilhar de suas amizades.

Recebam meu respeito e gratidão

Prof. Dr. Rodrigo Cecanho, por ser mais que um orientador, e sim mestre amigo, professor dedicado e sempre presente; orientando com seriedade, ética e paciência.

A colega, **Dra. Helena Cristina Francisco Pereira da Silva** pela colaboração imprescindível na realização deste trabalho. Por sua generosidade, coleguismo e, sobre tudo sua paciência. A você, meus mais sinceros agradecimentos.

Prof. Dr. Jurandir Barbosa pelo exemplo de professor e profissional, o meu muito obrigado pelos ensinamentos de sua filosofia. Sempre ficarei orgulhoso de ter sido seu aluno.

A todos os Professores da sua equipe, em especial aos professores da "Turma 01/04", **Dr. Roberto A. Torres, Dr. Paulo Lopez, Dr. Alécio e Dra. Maria Eugênia**.

Aos funcionários da faculdade São Leopoldo Mandic, **Baltazar** (Radiologia), **Tatiana** (Fisiologia), por todo carinho e atenção dedicados a mim e, imprescindíveis para a realização da parte técnica deste trabalho.

RESUMO

O crescimento facial acentuadamente horizontal ou vertical é fator etiológico importante nas más-oclusões e causador de aspectos antiestéticos para a face. A direção de crescimento craniofacial, bem como o desenvolvimento de algumas estruturas ósseas, pode ser alterada pela extirpação de músculos da face ou pela administração de drogas que estimulem ou inibem o crescimento do crânio, contribuindo para o entendimento do processo de crescimento e também das possíveis formas de alteração na direção de crescimento. A toxina botulínica do tipo A (Botox[®]) gera um bloqueio na condução neuromuscular e produz uma paralisia muscular localizada por denervação química temporária. Partindo deste pressuposto, observamos uma forma de inibir músculos faciais no auxílio dos tratamentos das displasias esqueléticas, sendo coadjuvantes nos tratamentos de ortodontia e ortopedia facial e no controle dos eixos de crescimento da face. O objetivo deste trabalho foi verificar se a injeção local de toxina botulínica tipo A (Botox[®]) nos músculos temporais poderia causar alterações craniofaciais em ratos durante seu crescimento. Foram utilizados 21 ratos machos Wistar com 20 dias. Os animais foram divididos em três grupos: a) grupo masseter Botox[®] (realizada a injeção da Toxina botulínica tipo A - Botox[®] no temporal); b) grupo veículo temporal (realizada a injeção de soro fisiológico); c) grupo controle temporal (não foi realizada nenhuma injeção). Foram realizadas radiografias laterais das faces utilizando um cefalostato individualizado com distâncias padronizadas para evitar distorções e avaliação cefalométrica, com desenho cefalométrico e medidas realizadas através do programa de informática CorelDRAW. As medidas cefalométricas angulares e lineares demonstraram que os três grupos, após 90 dias, apresentaram variáveis estatisticamente insignificantes entre si. Conclui-se que o músculo temporal não participa como auxiliar na formação anatômica craniofacial.

Palavras-chave: Crescimento da face. Cefalometria.

ABSTRACT

Facial growth direction, when overly horizontal or vertical is cause of bad occlusion and an anti-aesthetic factor for the face. Some experiments have shown that craniofacial growth direction, as well as the development of some bone structures, may be modified by extirpating facial and cranial muscles, which contributes for understanding the growth process, and also for possible ways of changing the growth direction through manipulation of the muscles involved in such process. The botulinum toxin type A binds to terminal receptors found on motor nerves, thus generating an interruption in the neuromuscular conduction and producing a muscular paralysis located by temporary chemical denervation. From this assumption, we see a way of inhibiting facial muscles to aid treatments for skeletal dysplasias, as a coadjuvant for conventional facial orthopedic treatments in conducting facial growth axes, for conventional orthodontic treatments, and for orthosurgical treatments which need less acting force from some muscles. The aim of this work was to verify if local injection of botulinum toxin type A (Botox®) in temporal muscles might cause craniofacial changes in growing rats. Twenty-one 20-day old male Wistar rats were radiographed and cephalometrically assessed. They were divided in three groups: a) Botox® masseter group (injection of botulinum toxin type A - Botox® - on the masseter); b) vehicle masseter group (injection of physiological serum); c) control masseter group (no injection). The angular and linear cephalometrical measures showed that the three groups had statistically insignificant variables among them ($p > 0.05$). Therefore the temporal muscle does not participate as aid in the craniofacial anatomical formation.

Keywords: Facial growth. Cephalometrics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Músculos faciais e a relação com os padrões de crescimento e desenvolvimento facial: a) face curta e b) face longa.....	34
Figura 2 - Representação do músculo temporal.....	37
Figura 3 - Posicionador dos ratos para a tomada radiográfica - Cefalostato.....	47
Figura 4 - Componentes do cefalostato desenvolvido por SILVA (2007) para aquisição de teleradiografias laterais em ratos. 1 - mesa; 2 - torre; 3 - olivas; 4 - suporte para filmes; 5 - posicionador do cone do aparelho de raios X.	47
Figura 5 - Animal em posição para radiografia (cefalostato - filme - cilindro).	48
Figura 6 - Radiografia do animal posicionada em moldura milimetrada para a padronização da imagem sem ampliação.	49
Figura 7 - Imagem digitalizada contendo o desenho cefalométrico e os pontos para mensuração das grandezas angulares e lineares.	50
Figura 8 - Desenho cefalométrico e os pontos de referência.	52
Figura 9 - Desenho cefalométrico com as retas e planos, como referência dos trabalhos de Tsolakis et al (1997).	52
Figura 10 - Imagem demonstrando a obtenção das medidas angulares no programa de informática CorelDRAW.	53

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

µg	- Micrograma
µL	- Microlitro
A-Me	- Distância entre o ponto mais anterior do osso alveolar na concavidade do incisivo inferior e o ponto mais ântero-inferior da borda da mandíbula
Ang.	- Ângulo
Cd-Me	- Distância entre o ponto mais superior do processo coronóide e o ponto mais ântero-inferior da borda da mandíbula.
cm	- Centímetro
Co-A	- Distância entre o ponto mais superior e posterior do côndilo e o ponto mais anterior do osso alveolar na concavidade do incisivo inferior
Co-I	- Distância entre o ponto mais superior e posterior do côndilo e o ponto mais anterior do osso alveolar na convexidade do incisivo inferior
Co-Me	- Distância entre o ponto mais superior e posterior do côndilo e o ponto mais ântero-inferior da borda da mandíbula
Co-Mf	- Distância entre o ponto mais superior e posterior do côndilo e o ponto posterior do forame mandibular
Div.	- Divisão
DL	- Dose letal
DV	- Dimensão vertical: é obtida entre os pontos V e T', ambos construídos, onde o ponto V corresponde à intersecção de uma linha descrita como linha A, a qual é perpendicular à linha E-Na passando pelo ponto U e o ponto T' que corresponde à intersecção da linha A com a linha Gn-Pg
FMA	- Ângulo formado entre o plano de Frankfurt e o plano mandibular
g	- Grama
Go-Me	- Distância entre o ponto pósterio-inferior da borda da mandíbula e o ponto mais ântero-inferior da borda da mandíbula
Kg	- Kilograma
kVp	- Quilovoltagem/pico
mA	- Miliamperagem

mm	- Milímetros
Me-Go/Z-Cd	- Ângulo gôníaco - intersecção entre a linha que une os pontos Me-Go e os pontos Z e Cd.
Mu-Mi	- Distância entre o ponto na intersecção entre o osso alveolar maxilar na superfície mesial do primeiro molar superior e o ponto na intersecção entre o osso alveolar mandibular na superfície mesial do primeiro molar inferior.
N	- Newton
Or-Po	- Plano de Frankfurt (distância entre o ponto orbital e o pório anatômico)
Pa-T	- Distância correspondente à altura do crânio
s	- Segundo
S-Go	- Distância de um ponto medial na sincondrose inter-esfenoidal e o ponto mais póstero-inferior da borda da mandíbula
TBA	- Toxina Botulínica tipo- A
Z-Me	- Distância entre o ápice mais posterior do processo angular e o ponto mais ântero-inferior da borda da mandíbula

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 Estudo longitudinal do crescimento craniofacial	15
2.2 Crescimento craniofacial - pesquisa em animais	19
2.3 Relação entre a musculatura e a morfologia craniofacial	24
2.4 Toxina botulínica	40
3 PROPOSIÇÃO	45
4 MATERIAIS E MÉTODO	46
5 RESULTADOS	55
6 DISCUSSÃO	59
7 CONCLUSÃO	68
REFERÊNCIAS	69
ANEXO A - FOLHA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	74

1 INTRODUÇÃO

A pesquisa científica vem desvendando fatores extremamente importantes no campo do diagnóstico e tratamento das patologias ortopédicas da face e suas oclusopatias correspondentes. Os fatores etiológicos das más-oclusões, como a hereditariedade e a gênese dos tecidos, bem como a inter-relação com as especialidades médicas e o uso de drogas coadjuvantes nos tratamentos e monitoramento preventivo do crescimento e desenvolvimento da face, estão sendo estudados para aperfeiçoar as atividades clínicas na ortodontia (Proffit, Fields, 1983).

Vários foram os autores que estudaram e preconizaram suas teorias para o crescimento e desenvolvimento do crânio e da face. Nos anos 60, os conceitos atuais surgiram com uma visão alternativa aos clássicos conceitos genéticos. Em 1962, foi formalizada a teoria da matriz funcional Moss (Enlow, 1993). Segundo o autor, o crescimento e a forma de todos os tecidos esqueléticos, incluindo ossos e unidades esqueléticas maiores na região craniofacial não são geneticamente determinados e resultam das demandas funcionais e fenômenos biofísicos que fazem parte do ambiente epigenético.

Entretanto, a hipótese funcional não exclui a possível influência de fatores genéticos no crescimento e na forma do esqueleto craniofacial. Nas suas superfícies periosteal e endosteal, os ossos crescem por aposição, não significando necessariamente que os ossos cresçam igualmente por aposição em todas suas superfícies.

Os ossos podem manter seu formato e tamanho por aposição e

reabsorção diferenciais, processo chamado de remodelação (Enlow, 1993). Os fatores extrínsecos locais podem modular (estimular ou restringir) o crescimento compensatório das cartilagens secundárias, como os músculos e sua neurofunção.

Considerações sobre fatores que influenciam, determinam ou dirigem o crescimento e desenvolvimento facial usualmente envolvem discussões sobre fatores genéticos e ambientais, os quais não agem de forma isolada e independente, mas sob condições favoráveis. Um fator ambiental pode alterar a expressão fenótica que um gene promoveria. Isto condiz com o conceito prevalente sobre a origem multifatorial da má-oclusão (combinação genética e fatores ambientais) e reafirma que determinados tratamentos podem ter algum efeito sobre os traços característicos do indivíduo (Hartsfield, 2002). Portanto, os fatores genéticos são importantes, mas as interações, durante a vida, entre a hereditariedade e o meio ambiente são determinantes na expressão do padrão de crescimento. O relacionamento entre o padrão de crescimento excessivamente vertical e a função anormal da musculatura tem recebido considerável atenção, sendo que, a redução da eficiência dos músculos elevadores da mandíbula, como o músculo temporal, tem sido associada à etiologia do padrão de face longa (Sassounim, Nanda, 1964).

Para a comprovação de uma técnica de diagnóstico e tratamento que envolva o crescimento e desenvolvimento da face são necessárias pesquisas e a utilização prévia em animais antes da utilização em humanos, para que seja eticamente viável. Os resultados são avaliados através de radiografias do crânio e do estudo em cefalometria e craniometria.

Estudos como Silva (2007) mostram bons resultados em tratamentos que utilizam medicamentos para estimular e inibir o aumento das forças dos músculos faciais na alteração do desenvolvimento craniofacial. A toxina botulínica - tipo A

BOTOX®, injetada, em doses terapêuticas, por via intramuscular, produz, por denervação química, uma paralisia muscular localizada que resulta em atrofia do músculo, e posterior desenvolvimento de novos receptores extrajuncionais para a acetilcolina. Assim, a debilidade instalada acaba se revertendo (Pierson et al., 1996).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Estudo longitudinal do crescimento craniofacial

O conhecimento dos mecanismos que regem e direcionam o crescimento e o desenvolvimento do complexo craniofacial é o objetivo de diversas pesquisas, bem como as influências sobre ele.

Estudos que avaliam as mudanças durante o crescimento foram relatados por Björk (1969), que examinou o crescimento craniofacial de crianças por meio de implantes metálicos (inseridos nas arcadas dentárias) e descreveu dois tipos de rotação mandibular durante o crescimento: a rotação para frente (anti-horária) e a rotação para trás (horária). A fim de descrever os tipos de crescimento mandibular, o autor subdividiu estas rotações e salientou que, nem sempre, o centro de rotação da mandíbula localiza-se na articulação têmporo-mandibular. Descreveu que a rotação mandibular para frente (anti-horária) pode ser Tipo I, onde o centro de rotação localiza-se na articulação temporal, resultando em uma mordida profunda e ocorrendo uma pressão da arcada superior pelo arco inferior ocasionando pequeno desenvolvimento da altura facial anterior; Tipo II, onde o centro de rotação está localizado nas bordas incisais dos dentes anteriores, em virtude de um acentuado desenvolvimento da altura facial posterior e normal da altura facial anterior, tornando o mento proeminente e o Tipo III, onde o centro de rotação está localizado na altura dos pré-molares (em casos de sobressaliência da maxila ou da mandíbula), ocasionando um aumento da altura facial posterior e diminuição da altura anterior da face e resultando em um mento mais proeminente. As rotações para trás são menos freqüentes comparadas às anteriores e podem ser de dois tipos: Tipo I, onde o centro de rotação está localizado na articulação temporal (resultando em aumento

da altura facial anterior e mordida aberta) e Tipo II, onde o centro de rotação está localizado no ponto mais distal da oclusão dos molares ocorrendo concomitantemente ao crescimento em direção sagital nos côndilos da mandíbula. Clinicamente, descreveu ser possível, durante o período de crescimento, a detecção destas rotações, por meio de sete sinais estruturais considerados em razão da direção de crescimento dos côndilos mandibulares, os quais podem ou não estar presentes em sua totalidade. São eles: inclinação do côndilo mandibular, curvatura do conduto dentário inferior, forma da borda inferior da mandíbula, inclinação da sínfise, ângulo interincisivo, angulação dos pré-molares e molares e altura facial inferior da face.

Björk & Skieller (1983) observaram o complexo processo de rotação mandibular que ocorre durante o crescimento normal e anormal da mandíbula em estudo longitudinal de 25 anos. Mediante o uso de implantes metálicos, descreveram que os diferentes padrões de rotação mandibular podem ser mais bem compreendidos se a rotação for dividida em três componentes descritos como: rotação total, rotação da matrix e rotação intermatrix, que demonstram diferentes inter-relações individuais durante todo o período de desenvolvimento e permitem mensurar a remodelação no bordo inferior da mandíbula (sendo esta importante para o ortodontista, pois o tratamento ortodôntico é capaz de influenciar estes componentes de rotação e, por conseqüência, a remodelação óssea mandíbula). Suas descobertas não sustentaram a idéia de que a matrix seja o fator dominante e que a formação óssea seja secundária no crescimento mandibular, mas apontaram uma considerável independência no desenvolvimento destes.

Bishara & Jacobsen (1985), por um estudo longitudinal e transversal, compararam e descreveram a relação dentofacial dos três tipos faciais (longo,

normal e curto) em 20 homens e 15 mulheres, dos 5 aos 25 anos, analisando 48 parâmetros cefalométricos e a estatura corporal. A investigação mostrou que 77% dos indivíduos mantiveram seu padrão facial dos 5 aos 25 anos, havendo, portanto, uma forte tendência a manter o tipo facial com a idade. Em 23% dos indivíduos, houve uma mudança no tipo facial, explicada pelo fato de que os casos analisados situavam-se entre dois tipos faciais. Os indivíduos de cada tipo facial apresentaram uma grande variação no tamanho e nas relações entre as várias estruturas dentofaciais. Foram encontradas diferenças significantes entre os parâmetros dentofaciais de homens e mulheres de um mesmo padrão facial. Além disso, as diferenças entre os tipos faciais não foram idênticas entre homens e mulheres. A análise longitudinal dos dados indicou resultados mais representativos do que as comparações transversais. Pois as alterações de crescimento são geralmente sutis e de magnitude não exatamente observável quando os dados são avaliados transversalmente.

Linden (1986) descreveu o padrão de desenvolvimento de faces longas e curtas e as limitações no tratamento ortodôntico. Considerou que a supressão do desenvolvimento vertical durante o tratamento é seguida por um aumento excessivo na altura facial inferior da face durante os anos seguintes, ou seja, o crescimento remanescente minimiza o efeito do tratamento sobre a morfologia esquelética. Além disso, imagens obtidas mediante ressonância magnética revelaram que o tamanho dos músculos nos indivíduos de face longa eram 30% menores quando comparados aos indivíduos normais. A mordida aberta dentária poderia ocorrer em indivíduos de face longa ou com relações esqueléticas normais, sendo que as mordidas abertas de origem esqueléticas seriam de grande magnitude e os fatores responsáveis pelo controle do crescimento craniofacial não estão localizados nos ossos ou no

periodonto, mas sim, nos componentes funcionais (principais responsáveis pelo desenvolvimento da divergência em relação ao padrão de face normal dos indivíduos de face longa ou curta).

Nanda (1988) avaliou longitudinalmente o padrão de desenvolvimento facial de 16 homens e 16 mulheres com displasias verticais com o objetivo de investigar em qual período pós-natal é possível reconhecer o estabelecimento do padrão de face longa e de face curta e, se este padrão persiste durante o crescimento. O estudo indicou que os padrões de desenvolvimento da face curta e da face longa são estabelecidos em idades precoces, sendo evidentes antes da erupção dos dentes permanentes e do surto de crescimento puberal. Além disso, as características dimensionais da face curta e da face longa progressivamente acentuam-se na adolescência. Descreveu ainda, que a diferença fundamental entre o padrão de face curta e de face longa é encontrada no segmento anterior da face, ou seja, as diferenças na forma facial vertical são resultantes de diferenças morfológicas que estão constantemente associadas ao aumento dimensional seletivo nos segmentos anteriores da face. Verificou que as mulheres de padrão de face longa são mais precoces no tempo do surto de crescimento, seguidas das mulheres de face curta, homens de face longa e homens de face curta. Ao final, considerou estes dados importantes na planificação do tratamento ortodôntico.

van der Beek et al. (1991) investigaram o crescimento vertical da face por meio de um estudo longitudinal de 72 meninas de 7 a 14 anos de idade, agrupadas segundo o valor do ângulo do plano mandibular em mordida aberta ou profunda esquelética. As correlações encontradas indicaram que as alterações no plano mandibular estão mais relacionadas à altura facial anterior do que à altura facial posterior e a probabilidade de desenvolvimento da mordida aberta esquelética foi

maior em indivíduos que apresentavam, em estágios precoces, uma altura facial anterior aumentada e plano mandibular excessivo.

Enlow (1993) descreveu que um grande avanço foi alcançado no conhecimento do processo de crescimento e desenvolvimento craniofacial pelo conceito da "matriz funcional" de Moss. Em síntese, a teoria afirma que um determinado osso cresce em resposta às relações funcionais estabelecidas por todos os tecidos moles que se relacionam com a estrutura óssea. Portanto, esta teoria sustenta que a origem, o crescimento e a manutenção de todos os tecidos ósseos são sempre respostas secundárias, compensatórias e obrigatórias às funções dos tecidos moles circundantes, os quais são denominados de matrizes funcionais. Relatou ainda, que além da "teoria de Moss", várias outras, como a "lei de Wolff" (1899) tentou explicar os mecanismos que controlam o crescimento craniofacial. A "lei de Wolff" afirma que a forma se inter-relaciona com a função. O osso cresce e se desenvolve de forma que as forças fisiológicas que agem sobre ele são acomodadas pelo processo de desenvolvimento ósseo, adaptando sua estrutura às funções.

Hartsfield (2002) discutiu a interação genética e ambiental no crescimento e desenvolvimento das dimensões verticais, pois, clinicamente, as interações entre esses fatores podem explicar o sucesso do tratamento em diferentes pacientes.

2.2 Crescimento craniofacial - pesquisa em animais

Pesquisas que descrevem as alterações mecânicas sobre o crescimento craniofacial em animais foram relatadas por Horowitz & Shapiro (1955), após remoção unilateral e bilateral de músculos masseteres de ratos de 30 dias e

verificação radiográfica após quatro meses. A remoção unilateral do músculo masseter ocasionou, no lado não operado, um desvio da face com conseqüente cruzamento da mordida. O lado que recebeu a remoção muscular apresentou redução do arco zigomático, curvatura do corpo mandibular para baixo e lateralmente, deflexão medial do processo angular e diminuição da mandíbula, especialmente na altura do ramo ascendente, que também apresentou uma remodelação característica e correspondente alteração de sua arquitetura interna. Observaram ainda, curvatura do arco maxilar e alteração severa da relação oclusal em ambos os lados, sendo evidente, no lado operado, mordida aberta, ausência de atrição dental e atrofia do processo alveolar. Estas alterações extremas não foram evidentes com a remoção bilateral do masseter, a qual ocasionou apenas uma leve mordida aberta bilateral na altura do primeiro molar. Concluíram que as alterações craniofaciais observadas resultaram do desequilíbrio funcional entre os músculos mastigatórios remanescentes.

Cleall et al. (1968) descreveram as mudanças nas estruturas da face média do esqueleto craniofacial de ratos a fim de avaliar a quantidade e a direção de crescimento, do período pós-natal até a idade adulta, através de uma técnica de corantes vitais e comparada à técnica de radiografias cefalométricas laterais e avaliação microscópica do crescimento ósseo. Deduziram que a análise cefalométrica foi irreal, provavelmente devido aos erros de posicionamento dos animais no cefalostato (especialmente desenvolvido para este estudo) e pela dificuldade de localização dos pontos cefalométricos nas impressões fotográficas utilizadas na realização do traçado.

Os efeitos de agentes medicamentosos sobre o crescimento craniofacial foram relatados por Miura et al. (1969) que avaliaram, através de radiografias

cefalométricas, os efeitos de injeções diárias de hormônio de crescimento em ratos experimentais de 21 e 51 dias de idade. Observaram que a dose utilizada foi suficiente para produzir mudanças no padrão de crescimento dentofacial (diferentemente para cada componente craniofacial). Tais mudanças foram marcantes nas proeminências nasal, goníaca e no prognatismo mandibular graças aos diferentes tipos de formação óssea.

Moore (1973) observou que a remoção bilateral do músculo masseter em ratos recém-nascidos resulta em significativa diminuição do tamanho das áreas associadas à inserção deste músculo, como o processo angular e condilar. Seus achados sustentaram a "teoria da matriz funcional de Moss", na qual a mandíbula é composta por unidades esqueléticas de desenvolvimento autônomo inter-relacionado à função.

Entretanto Engstrom et al. (1982), ao descreverem os efeitos da deficiência de vitamina D e cálcio no crescimento craniofacial de ratos, relataram que a análise cefalométrica poderia ser utilizada na descrição do crescimento e desenvolvimento normal, em diferentes idades, durante a vida pós-natal de ratos. Os autores também questionaram a hipótese de Jonston que em 1986 sustentou a idéia do côndilo ser um retificador ou ajustador funcional. Utilizaram 60 ratos de 4 semanas divididos em 5 grupos que receberam os seguintes tratamentos: A-condilectomia, B-protrusão, C-condilectomia e protrusão, D-controle e E- apenas acesso cirúrgico e, avaliaram a morfologia mandibular através de radiografias cefalométricas obtidas com um cefalostato (especialmente construído para estes animais), realizadas no início e após 30 dias do experimento. Concluíram que a ausência de côndilo tem um substancial efeito sobre o crescimento e a forma mandibular, além de ser fator essencial no crescimento e desenvolvimento normal,

contribuindo significativamente para a normal translação mandibular. Além disso, ressaltam que o crescimento mandibular é afetado, em parte, pela função e por fatores ambientais e que a ausência de côndilo pode, em certa extensão, ser compensada pela hiperprotrusão da mandíbula em ratos em crescimento. Concluíram que a combinação da condilectomia e hiperprotrusão mandibular reforça a teoria de "Jonston".

Takahashi (1988) estudou os efeitos da denervação do músculo masseter de macacos mediante radiografias cefalométricas obtidas a partir de um cefalostato modificado para primatas. As alterações craniofaciais caracterizaram-se pelo aumento da altura facial anterior, do plano mandibular e do ângulo goníaco, marcante reabsorção na porção póstero-inferior da inserção do músculo e diminuição da altura do ramo ascendente da mandíbula. Deduziram que a inatividade deste músculo produz um padrão vertical de crescimento, com rotação horária da mandíbula, sendo o músculo importante na formação da região goníaca.

Como observou Losken et al. (1992), o uso de modelos experimentais não humanos contribui de forma significativa no estudo das alterações craniofaciais. Os autores analisaram o crescimento mandibular em 7 diferentes modelos animais. Inferiram que o padrão esquelético que mais se assemelha ao humano é o dos chimpanzés e macacos, mas sugerem que novas alternativas devam ser exploradas em razão do alto custo e das dificuldades de estudo longitudinais nos modelos em questão.

Navarro et al. (1995) avaliaram histologicamente a cartilagem condilar e, radiograficamente o padrão rotacional da mandíbula após a ressecção bilateral dos músculos masseter, temporal e supra-hióideos de ratos com 21 dias. A ressecção do músculo masseter ocasionou a diminuição da espessura da cartilagem condilar e

rotação inferior da mandíbula, expressa pela inclinação para baixo e para frente do plano oclusal e aumento do plano mandibular. Este procedimento motivou pequenas mudanças na direção de crescimento condilar, mensuradas por alterações no ângulo de "Stutzmann", em razão do aumento da atividade contrátil do pterigóideo lateral como uma tendência fisiológica em manter a relação oclusal normal, além de grandes alterações na parte anterior da face, encontradas especialmente no processo dento-alveolar onde verificaram aumento na altura dos molares superiores e inferiores, no osso alveolar mandibular e do comprimento do incisivo inferior. Deduziram que o crescimento do processo alveolar e a erupção vertical dos dentes ocorrem como ajustes secundários ao aumento da altura da face. Resultados opostos foram obtidos após remoção dos músculos temporal e supra-hióideo.

Tsolakis et al. (1997) investigaram a contribuição do côndilo no crescimento mandibular mediante uma combinação de condilectomia e protrusão experimental da mandíbula investigando dois parâmetros: o genético, representado pela capacidade intrínseca do crescimento condilar e o funcional, representado pela indução do movimento de protrusão mandibular provocada por hormônios, além das mudanças funcionais que devam ser realizadas.

Spyropoulos et al. (2002) descreveram a importância da musculatura supra-hióide na morfologia mandibular sustentando o conceito de "forma-função" na orientação do crescimento vertical craniofacial em ratos, além de mostrarem alteração na direção de crescimento mandibular após remoção do músculo digástrico.

Gebhardt & Pancherz (2003) mostraram que os efeitos dos esteróides anabolizantes podem modificar o crescimento mandibular e concluíram que devem ser considerados durante a planificação do tratamento ortodôntico.

Vanderberg et al. (2004) descreveram o crescimento relativo e absoluto do esqueleto craniofacial de ratos e, utilizando-se de procedimentos estatísticos, descreveram mais precisamente o tempo de crescimento dos componentes do neurocrânio e do esqueleto facial comparando-os ao crescimento somático. Concluíram que o complexo craniofacial de ratos é viável para testar hipóteses e que o potencial de resposta dos seus componentes faciais está relacionado com seu potencial de crescimento. Ao mesmo tempo, a pesquisa animal possibilita observar as influências nutricionais, mecânicas e medicamentosas sobre o crescimento e a morfologia craniofacial adequando técnicas de pesquisa utilizadas em humanos para animais, como, por exemplo, a cefalometria. No mesmo trabalho, eles descreveram o crescimento absoluto e relativo do esqueleto craniofacial, por meio de acompanhamento radiográfico longitudinal em ratos anões com deficiência de hormônio de crescimento comparando-os a animais normais. Concluíram que as estruturas mais afetadas pela deficiência deste hormônio são aquelas cujo crescimento remanescente ainda não está completo. Justificaram estes achados pelo fato do crescimento craniofacial ocorrer por meio de um mosaico de sítios de crescimento que diferem em relação ao tempo, taxa e maturidade de crescimento sendo, portanto, mais complexo quando comparado ao crescimento somático.

2.3 Relação entre a musculatura e a morfologia craniofacial

O interesse entre a relação do padrão vertical de crescimento e a função anormal da musculatura craniofacial tem merecido considerável atenção. Sassouni & Nanda (1964) verificaram a influência de alterações verticais nas desarmonias ântero-posteriores, por meio de estudo longitudinal em indivíduos com mordida aberta e mordida profunda. A comparação entre a mordida aberta e a mordida

profunda revelou três diferenças anatômicas significantes, com respeito à sua origem, expressadas pela posição condilar mais alta, ramo mandibular mais curto e molares superiores posicionados mais distantes do plano palatino. Acreditaram que estas diferenças intensificam outros sinais como aumento do plano mandibular e da altura facial anterior e diminuição da altura facial posterior, além de aumento do ângulo interincisal e da protrusão dentária. Deduziram que as desproporções verticais são a origem das desarmonias ântero-posteriores e que o tratamento deve ser direcionado inicialmente, para a correção do problema vertical a fim de corrigir a desarmonia ântero-posterior. Desta forma, o tratamento estaria focado em corrigir a causa e não o efeito. Salientaram que o diagnóstico cefalométrico deve incluir a análise das proporções verticais.

Ingervall & Thilander (1974) registraram a atividade dos músculos temporal, masseter e do orbicular do lábio superior por eletromiografia durante a mastigação, deglutição e máxima mordida com a finalidade de correlacionar a morfologia facial e dental de 25 meninos e 27 meninas de nove a onze anos. As correlações mais evidentes entre a atividade muscular e a morfologia facial foram encontradas durante a máxima mordida e mastigação. As amplitudes do músculo temporal e do masseter foram maiores em indivíduos que apresentavam uma tendência de paralelismo entre as bases ósseas e entre o plano oclusal e mandibular. Assim, as maiores atividades musculares foram encontradas em pacientes caracterizados por uma forma facial retangular e com pequena altura facial.

Ingervall & Helkimo (1978) avaliaram a variabilidade da morfologia facial mediante a análise do perfil e de radiografias cefalométricas de duas amostras com 25 homens cada, agrupados segundo suas forças de mordida em forte (728N) ou

fraca (380N). Os indivíduos de musculatura forte, contrariamente, aos de musculatura fraca apresentaram uma inclinação anterior da mandíbula, baixa altura facial anterior e alta altura facial posterior, baixo ângulo goníaco, base craniana mais reta e tendência de paralelismo entre o plano oclusal e a borda inferior da mandíbula, maxila transversalmente mais ampla além de maior uniformidade facial. Suas descobertas sustentaram a hipótese de que a musculatura contribui para a forma final da face e que sua variabilidade individual é menor em pessoas com musculatura forte comparada à musculatura fraca, especialmente para as dimensões verticais da face. Segundo os autores, a forma facial é parcialmente dependente da força da musculatura.

Lowe (1980) relacionou a morfologia craniofacial e a atividade dos músculos genioglosso, masseter e orbicular oral por meio de análise cefalométrica e eletromiográfica em uma amostra de 18 indivíduos de oclusão normal e 6 com mordida aberta anterior. Os baixos valores eletromiográficos do músculo genioglosso foram relacionados à mordida aberta, suberupção dos incisivos superiores e inferiores e a baixa altura facial total. Para o músculo masseter, os baixos valores eletromiográficos foram associados aos baixos valores de sobremordida, enquanto que, para o músculo orbicular não foi observada correlação com nenhuma mensuração craniofacial. Concluíram que a interdependência da língua e músculos mastigatórios com a morfologia facial sugere uma contribuição da musculatura para o desenvolvimento e/ou manutenção da dentição.

Proffit & Fields (1983), utilizando um transdutor piezo-elétrico capaz de fabricar uma transdução da força oclusal que permitiu medir as forças oclusais com menor separação entre as arcadas, avaliaram as diferenças na força oclusal mensuradas durante o máximo esforço, mastigação estimulada e deglutição com os

molares separados 2,5 mm e 6,0 mm em adultos de padrão normal e padrão face longa. Observaram que os indivíduos de padrão de face longa apresentam menores forças durante o máximo esforço, mastigação estimulada e deglutição, mas não houve diferenças de forças quando as arcadas estavam separadas. Ainda em 1983, estes pesquisadores, utilizando a mesma metodologia, verificaram as diferenças nas forças oclusais em crianças de padrão normal e de face longa. Observaram que as forças oclusais foram similares entre os dois diferentes grupos de crianças e também quando comparados com adultos de face longa. Estes resultados demonstraram que os indivíduos de padrão de face longa não conseguem ganhar força nos músculos elevadores da mandíbula com o crescimento.

Fields et al. (1984) descreveram a morfologia esquelética e dental em uma amostra de 42 crianças e 42 jovens adultos que foram avaliados e classificados como padrão de face longa, normal ou curta através de mensurações cefalométricas e identificaram os fatores morfológicos associados com o padrão de face longa. Na amostra infantil, não houve diferenças entre os grupos na orientação da base do crânio, na linha horizontal verdadeira e nos ângulos SNA e SNB, embora estes dois últimos tenham mostrado uma tendência a valores menores para crianças de face longa e face curta e, portanto, uma tendência a um perfil mais convexo e um retrognatismo comparado às crianças normais. As crianças de padrão face longa apresentaram significantes diferenças em relação às medidas esqueléticas verticais, como o plano mandibular excessivo e aumento do ângulo formado entre o plano palatino e o plano mandibular, enquanto as crianças de face curta exibiram características opostas. Todas as mensurações relacionadas à altura facial anterior mostraram diferenças entre os grupos, o que não foi evidenciado em relação à altura facial posterior e, quando estas alturas totais foram divididas em altura facial superior

e inferior, as alturas faciais superiores foram similares entre os grupos concluindo-se que a área diferencial entre os grupos é a altura facial ântero-inferior. Ao relacionar a altura facial ântero-inferior com o tamanho do ramo e do corpo mandibular verificaram que não houve diferenças entre os grupos, enquanto que o ângulo goníaco e a altura do processo alveolar foram significativamente maiores para crianças de face longa e menores para as de face curta. Todas as características descritas para o grupo de crianças foram similares aos adultos, com exceção do ramo mandibular, que no grupo de padrão de face longa, apresentou-se diminuído. Este estudo demonstrou que o padrão facial vertical pode ser identificado clinicamente e documentado morfologicamente e que apesar dos diferentes padrões se estabelecerem precocemente, os eventos que ocorrem na adolescência podem aumentar ou manter estas diferenças.

Spyropoulos (1985) baseado no conceito da relação entre a forma e a função, testou os efeitos da estimulação mastigatória utilizando uma goma mastigatória típica da Grécia com a finalidade de interceptar casos de mordida aberta e comparou esta terapia com o uso da mentoneira vertical. Para este estudo selecionou clínica e cefalometricamente três grupos de pacientes (na fase de dentição mista) que apresentavam padrão vertical de crescimento e mordida aberta anterior. Os pacientes foram submetidos à terapia com a goma mastigatória por pelo menos 45 minutos diários, uso de mentoneira de tração vertical por 14 horas diárias ou uma combinação destas terapias. Após 21 meses, os pacientes foram reavaliados cefalometricamente. Foi verificado que as mais significantes alterações foram encontradas no grupo que recebeu terapia com a goma mastigatória combinada à mentoneira vertical, seguida do grupo que recebeu terapia com a goma mastigatória, enquanto que no grupo que utilizou apenas a mentoneira vertical

observou menores melhorias tanto no padrão vertical como na mordida aberta anterior.

Segundo Robledo (1985), a função do músculo temporal foi definida pelos autores que realizaram um estudo mediante os registros de 640 eletromiografias em 15 estudantes da faculdade de medicina. A proposta foi avaliar a atividade eletromiográfica nos movimentos de elevação, apertamento, retrusão e protrusão da mandíbula, contração bilateral em oclusão cêntrica. O trabalho comprovou através de eletromiografia que o músculo temporal tem sua ação maior nos movimentos de elevação e retrusão em apertamento em oclusão cêntrica.

Este estudo motivou Ingervall & Bitsanis (1987), que questionaram a possibilidade de influenciar o crescimento da face de crianças com tendência vertical de crescimento através de exercícios mastigatórios. Compararam 13 crianças com idade média de 9 anos, selecionadas, cefalometricamente, por apresentarem ângulos faciais divergentes e tendência à mordida aberta e por estarem em período de crescimento, com uma amostra de referência. Inicialmente, foram obtidos registros cefalométricos e eletromiográficos dos músculos temporal e masseter e obtidas as forças de mordida da amostra experimental seguida da instituição de exercícios mastigatórios diários por duas horas com uma goma resinosa, durante o período de 1 ano. Neste período, observaram um aumento duas vezes maior do que o esperado na força de mordida; aumento na prognatismo mandibular e na sobremordida; mudanças na relação entre as arcadas e uma diminuição do ângulo entre o plano oclusal e mandibular. Em nove crianças foi observada rotação anti-horária da mandíbula, em uma criança não houve rotação e em duas foi observada rotação horária. Observaram ainda que, embora a rotação anti-horária da mandíbula normalmente ocorra por controle vertical da face média e pelo aumento da força

muscular, não houve diminuição do crescimento vertical da maxila, impedimento a erupção dos dentes maxilares e o aumento do crescimento mandibular que poderia ocorrer como resultado da estimulação funcional muscular.

Kiliaridis et al. (1989) investigaram as características craniofaciais e oclusais de pacientes portadores de distrofia muscular. Esta patologia caracteriza-se pela lenta e progressiva atrofia e perda da força muscular. Avaliaram 24 pacientes com distrofia muscular comparando-os com pacientes saudáveis através de modelos de gesso (observando a altura e largura do palato e o relacionamento oclusal entre as arcadas); registrando suas forças de mordida e estudando cefalometricamente a morfologia facial. As diferenças observadas revelaram que os pacientes comprometidos por esta patologia apresentavam uma sobressaliência aumentada, mordida aberta anterior e lateral, marcante diminuição da força de mordida, palato mais profundo e atrésico, retrognatismo facial (com acentuadas alterações verticais como um plano mandibular aumentado), ângulo goníaco aberto e acentuada altura facial anterior inferior. Concluíram que estas características sustentam a hipótese de que a redução da função muscular causa as mudanças na morfologia facial.

van Spronsen et al. (1989) relacionaram a força de mordida com cortes transversais dos músculos mandibulares obtidos por meio de imagens de ressonância magnética e tomografia computadorizada de alta resolução em indivíduos de padrão facial normal. Os resultados mostraram uma alta correlação positiva dos cortes transversais dos músculos masseter e pterigóideo medial com a máxima força de mordida, resultado não observado para o músculo temporal.

Kiliaridis & Kalebo (1991) avaliaram a ultra-sonografia como método de imagem para mensurar a espessura normal do músculo masseter em adultos e correlacionaram este valor com a variação da morfologia facial em diferentes

indivíduos. Selecionaram 20 homens e 20 mulheres que tiveram a altura facial anterior, as larguras bizigomática e intergoniaca mensuradas em fotografia a fim de calcular os índices que determinam a forma da face e, seus músculos masseteres mensurados através de ultra-sonografia em estado de relaxamento e em máximo apertamento dental. Os resultados demonstraram que a ultra-sonografia é um método fiel na avaliação da espessura do músculo masseter e que existe correlação entre a morfologia facial e a espessura muscular, principalmente para mulheres que apresentaram uma musculatura mais fina associada a padrões de face longa, não sendo observada esta característica para homens.

van Spronsen et al. (1991) determinaram a possível relação dos músculos elevadores da mandíbula e do digástrico, avaliados em corte transversal por meio de ressonância magnética, com a morfologia craniofacial de pacientes adultos normais. Os resultados mostraram uma correlação positiva entre os músculos temporal e masseter com as dimensões transversais do crânio e uma correlação negativa entre o músculo temporal com a flexão da base do crânio. Não foi encontrada correlação entre a altura facial anterior e a altura facial posterior com o corte transversal de qualquer músculo avaliado. Concluíram existir relação limitada entre a morfologia craniofacial e os cortes transversais dos músculos mandibulares em adultos de padrão facial normal, porém consideraram que seus resultados devem ser analisados com cautela, pois algumas influências, a exemplo da atividade postural da face e a musculatura lingual, não foram consideradas como fatores ambientais capazes de modificar a face e os tecidos moles.

A função da musculatura mastigatória, como fator determinante do crescimento e desenvolvimento do complexo craniofacial, foi descrita por Moyers & Carlson (1993) que salientaram o efeito da função neuromuscular no crescimento

facial. Descreveram que muitas más-oclusões originam-se em decorrência de um comportamento anormal da musculatura e que a estabilidade ortodôntica, muitas vezes, não pode ser conseguida, pois a estabilidade oclusal não pode ser mantida pelos músculos. Citaram que o crescimento muscular, sua migração e inserções, as variações da função neuromuscular e as funções anormais, a exemplo da respiração bucal, influenciam marcadamente alguns aspectos do crescimento e da formação craniofacial.

Raadsheer et al. (1996) relacionaram a espessura muscular com as dimensões faciais, idade, altura e peso corporal de 329 indivíduos acompanhados dos 7 aos 22 anos. Observaram que a espessura muscular aumenta com a idade em ambos os gêneros, sendo sempre maior para os homens. A variação no tamanho muscular e dimensão da face coincidiram com a variação da idade, altura e peso. Uma correlação negativa foi observada entre a espessura muscular e a altura facial anterior e o comprimento mandibular, ao passo que ocorreu uma correlação positiva entre a espessura muscular e a largura intergoniaca e bizigomática.

Em um estudo seguinte van Spronsen et al. (1997), utilizando a mesma metodologia, compararam indivíduos de padrão face longa com indivíduos normais. Os resultados mostraram uma musculatura de espessura menor em indivíduos face longa, notadamente, para os músculos masseter e pterigóideo medial, possibilitando selecionar, em ordem de importância, os seguintes músculos: masseter; pterigóideo medial e porção anterior do temporal. As características cefalométricas evidenciaram que todas as medidas verticais foram excedidas pelos indivíduos de face longa, além de apresentarem uma tendência ao retrognatismo maxilar e mandibular. As análises destas medidas renderam a seguinte seleção em ordem de importância: altura facial inferior; altura anterior total da face, porcentagem entre altura facial inferior e altura

anterior total da face, altura facial posterior, plano mandibular, sobremordida, porcentagem entre altura facial anterior total da face e altura facial posterior e largura intergoníaca. Deduziram que as diferenças no tamanho da musculatura entre indivíduos analisados podem explicar, em parte, a menor força de mordida atribuída aos indivíduos face longa (figura 1b).

van Spronsen et al. (1997) investigaram se a orientação espacial dos músculos elevadores da mandíbula está relacionada com as dimensões verticais da face pela avaliação de 30 indivíduos de padrão facial normal analisado cefalometricamente e que tiveram a forma de sua musculatura mastigatória reconstruída por computador, a partir do emprego de ressonância magnética. Este estudo indicou que a orientação da musculatura mastigatória de indivíduos de padrão facial normal está, até certo ponto, relacionada com a variação da altura facial anterior e posterior, bem como a forma mandibular (avaliada pelo ângulo goníaco), sendo que, contrariamente ao que se acreditava a altura facial anterior não está correlacionada significativamente com a orientação espacial da maioria dos músculos de fechamento mandibular, mas sim com os músculos de abertura da mandíbula, como o pterigóide lateral e o feixe anterior do digástrico. Inferem que a variação espacial dos músculos de fechamento da mandíbula está predominantemente relacionada com a forma mandibular e com altura facial posterior e que a hipótese de indivíduos de padrão de face longa ter os músculos de fechamento mandibular com orientação oblíqua deve ser rejeitada.

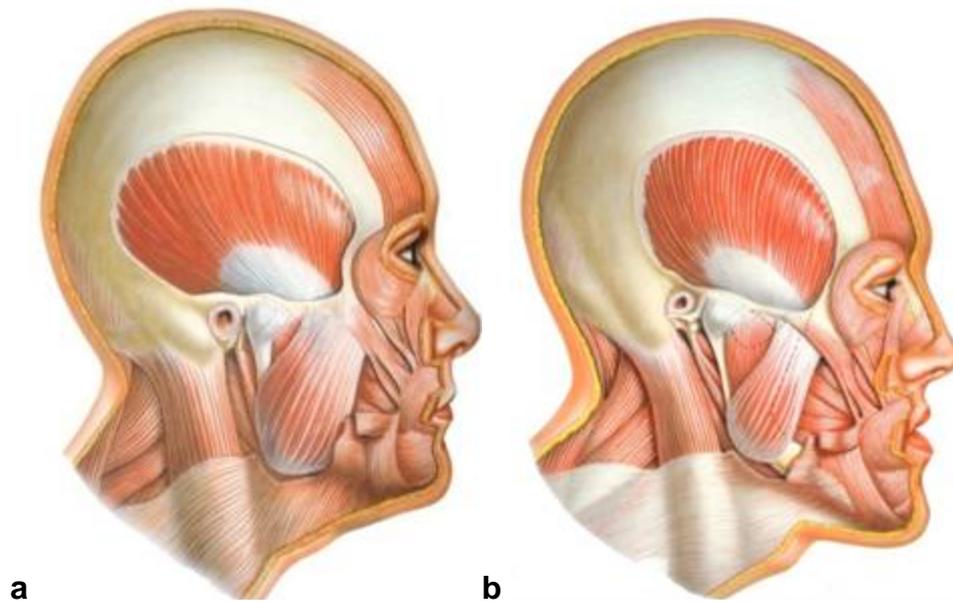


Figura 1 - Músculos faciais e a relação com os padrões de crescimento e desenvolvimento facial: a) face curta e b) face longa.

Fonte: Sobotta, 2000.

Cardoso et al. (2002) descreveram as características sagitais, verticais e transversais da oclusão de uma amostra de 38 brasileiros portadores de padrão de face longa, assim denominados pelos autores e com indicação para tratamento ortocirúrgico. A relação sagital observada nos modelos de gesso permitiu visualizar as ausências de oclusão normal, sendo que, para a amostra feminina houve 0% de relação de Classe I, 87% de Classe II div. 1 e 13% de Classe III e, para a amostra masculina, as respectivas porcentagens: 33,3%, 46,7% e 20%. A mordida cruzada posterior foi observada em 34,2% da amostra, estando presente em todos os pacientes com relação de Classe III, em nenhum paciente de Classe I e em 26% dos pacientes Classe II div. 1. Concluíram que a variabilidade foi a regra na relação oclusal dos pacientes com padrão esquelético semelhante e que exigiam protocolos similares para sua correção. Em outras palavras, estes pacientes podem apresentar

compensações mais ou menos efetivas de suas oclusões ao ambiente esquelético adverso. Isso comprovou a inadequação da classificação desses pacientes pela relação molar e o acerto em nomeá-los pelo erro esquelético.

Para Serrano et al. (2002), à literatura científica somou-se mais uma publicação descrevendo-se uma nova estrutura muscular craniomandibular, a qual foi denominada músculo esfenomandibular e que estaria associada às desordens do sistema mastigatório. Esse fato atraiu, consideravelmente, a atenção dos cientistas, de jornalistas e do público em geral e seguiu a tendência atual de ser publicado prematuramente pela imprensa, antes que os resultados tivessem sido avaliados e publicados por revista científica especializada. O caso do músculo esfenomandibular é mais um exemplo desse conflito, pois tal músculo já havia sido descrito no passado por outros pesquisadores, sob outras denominações. Cabe salientar que, segundo a literatura, não se trata de um novo músculo, mas de um feixe do músculo temporal. Deduz-se que a divulgação de resultados científicos pela mídia torna-se perigosa, uma vez que, pode desconsiderar trabalhos precedentes e gerar falsas expectativas.

Cardoso (2003) determinou as características cefalométricas de indivíduos de padrão de face longa comparando-os aos indivíduos de padrão I e verificou a presença de diformismo entre os gêneros. Avaliou 73 telerradiografias, sendo 34 de indivíduos de padrão de face longa (figura 1b) e 39 de padrão I selecionados com base na sua morfologia facial, não considerando suas relações oclusais. Foram avaliados: padrão de crescimento facial, altura facial anterior e posterior, relação maxilo-mandibular, além de relações dentárias nas suas bases apicais. De maneira geral, os indivíduos de padrão de face longa apresentaram grandes desvios em relação aos indivíduos de padrão I, sendo a doença, decorrente

de um desequilíbrio entre os componentes verticais. Com base neste estudo, verificou-se que indivíduos de padrão de face longa caracterizam-se por um padrão de crescimento vertical e aumento da altura facial anterior inferior com conseqüente aumento da altura facial total, estando esta deformidade localizada abaixo do plano palatino. Observou-se ainda, um retrognatismo maxilar e mandibular, extrusão dentária anterior e pósterio-superior, com incisivos superiores bem posicionados em sua base apical e os inferiores lingualizados. O conjunto de alterações esqueléticas confere ao gênero feminino uma face longa mais marcadamente severa. Muitas pesquisas têm correlacionado as dimensões da face com a espessura dos músculos mastigatórios e, em especial, o músculo masseter, verificada por seus cortes transversais obtidos por meio de exames específicos.

O sistema muscular aponeurótico superficial (S.M.A.S.) e os elementos que constituem a anatomia do músculo temporal, no que se refere à origem e inserção de suas facias superficiais, são motivo de muito estudo na literatura mundial. A terminologia utilizada para designar as estruturas anatômicas da região temporoparietal são fontes de grande discussão da origem deste músculo. Com a finalidade de estudar o curso das facias do músculo, foram dessecados 20 cadáveres humanos, usando como comparativo do curso das facias artéria facial os vasos superficiais do temporal. Os resultados obtidos mostram uma continuidade das facias aponeuróticas de sua origem desdobrando-se no arco zigomático (em 60%), não chegando à inserção no processo pterigóide. Sendo assim, estudos com histologia e dissecação em fetos devem ser realizados para maiores esclarecimentos sobre a origem destas facias e sua relação com partes mais profundas dos músculos e estruturas adjacentes (Valdés, Rodrigues, 2003).



Figura 2 - Representação do músculo temporal
Fonte: Sobotta, 2000.

Santos et al. (2004), realizando uma avaliação da atividade muscular observaram que os músculos da face de maior interesse nos estudos do crescimento e desenvolvimento da face, em virtude de suas atividades, são os músculos temporal e masseter. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade de eletromiográfica dos músculos temporal anterior e masseter de 7 pacientes com seqüela de acidente vascular encefálico isquêmico, capazes de entenderem instruções verbais, sem sinais ou sintomas de disfunção têmporo-mandibular, oclusão normal e idades entre 46 a 75 anos (média 60,6 anos). Foram feitos registros da atividade eletromiográfica durante posição postural de repouso mandibular e contração isotônica. Para o registro da atividade eletromiográfica dos músculos estudados foram utilizados eletrodos de superfície ativos (Lynx Eletronics Ltda.) colocados bilateralmente sobre temporal anterior e masseter. A atividade elétrica foi analisada em RMS (root mean square) e expressa em microvolts (μV) para as fases de repouso e contração isotônica de cada músculo. Ficou demonstrado que não houve diferença significativa nos valores da atividade elétrica em RMS para os músculos avaliados entre o lado afetado pelo acidente vascular

encefálico isquêmico e o não afetado, embora tenha havido predomínio de masseter e temporal anterior contralateral ao lado afetado.

Santos et al. (2004), objetivando a investigação da atividade eletromiográfica (EMG), dos músculos temporal (porção anterior) e masseter, em portadores de má-oclusão Classe II de Angle, durante tratamento ortopédico funcional com a técnica Reabilitação Dinâmica e Funcional dos Maxilares (RDFM), avaliaram 10 pacientes com dentição mista, na faixa etária de 6 a 12 anos (média 8,6), nas seguintes condições experimentais: a) Apertamento em Máxima Intercuspidação Habitual (AMIH); b) Apertamento Molar Bilateral com Rolete de Algodão (AMBA); c) Apertamento Máximo com Aparelho (AAPA); d) Mastigação Habitual (MH). Os registros eletromiográficos foram executados no ato da instalação da aparatologia, após 6 meses e 1 ano de tratamento, com eletrodos bipolares de superfície posicionados bilateralmente na porção anterior do músculo temporal e no músculo masseter. As atividades médias dos músculos estudados foram analisadas estatisticamente pela Análise de Variância e teste complementar de Tukey. Pelos resultados, concluiu-se que as funções estudadas mostraram aumento significativo na atividade muscular após um ano de tratamento; não houve diferença estatística entre as condições AMIH, AMBA e AAPA, porém estas foram significativamente diferentes da MH; e a atividade EMG do músculo masseter foi estatisticamente maior que a atividade da porção anterior do músculo temporal (figura 2).

Dallanora et al. (2004) avaliaram a possibilidade de diminuir a atividade muscular, em casos de distúrbios de movimentação e apertamento dental, com o uso de acupuntura. No presente trabalho, os autores estudaram, mediante eletromiografia em repouso, o comportamento dos músculos temporais anteriores e masseteres de pacientes portadores de bruxismo, após uma sessão de acupuntura.

Quinze pacientes identificados como bruxômanos e classificados de acordo com seu grau de severidade por critérios propostos por Molina em 1999, foram submetidos a exame eletromiográfico inicial, e após uma única sessão de acupuntura sistêmica e convencional com agulhas, submetidos a novo exame eletromiográfico imediatamente após a sessão e durante 5 dias consecutivos subseqüentes à acupuntura. O objetivo do trabalho foi verificar se havia diminuição no nível de atividade muscular em repouso nestes pacientes e o comportamento desta atividade por 5 dias após a sessão de acupuntura. A análise estatística dos dados foi feita pelo Teste de Postos de Wilcoxon e os resultados mostraram que os grupos de músculos temporais anteriores e masseteres dos pacientes (de 66% a 73%) apresentavam significativa diminuição de atividade ($p < 0,05$) na mensuração de 60 horas após acupuntura. Além disso, quando analisados, apresentaram redução para o músculo temporal anterior direito na mensuração de 60 horas (66%) e 84 horas (80%). Para o músculo masseter direito, a redução de atividade ocorreu nas mensurações de 12 horas (60%), 60 horas (73%) e 108 horas (73%) e, por último, o músculo masseter esquerdo apresentou redução de atividade em 60 horas (66%) e 84 horas (60%) e 108 horas (86%). Os dados possibilitaram concluir que a acupuntura foi capaz de diminuir a atividade dos músculos mastigatórios dos pacientes, porém, mais estudos são necessários para se afirmar que ela é uma alternativa eficaz no tratamento do bruxismo.

Santos (2006), para avaliar a atividade dos músculos e compará-los, pesquisou se as atividades eletromiográficas dos músculos masseter e temporal anterior em amostra de 37 indivíduos assintomáticos, com má-oclusão de Classe I divididos em dois grupos: experimental e controle. Os registros eletromiográficos foram realizados com eletrodos bipolares de superfície durante o repouso

mandibular e o apertamento oclusal máximo. Os resultados mostraram que no grupo experimental, após o uso da placa oclusal, ocorreu redução significativa das atividades eletromiográficas de repouso, assim como, aumento significativo da atividade eletromiográfica em apertamento oclusal máximo. O grupo controle não mostrou qualquer diferença estatisticamente significativa entre os momentos. Os índices de assimetria mostraram que, no repouso mandibular, os músculos do lado esquerdo foram mais ativos. Os índices de atividade mostraram que o músculo temporal anterior apresentou maior contribuição relativa, quando comparado ao masseter, no repouso mandibular. Ambos os índices não sofreram alterações significantes entre os momentos estudados nos dois grupos.

2.4 Toxina botulínica

Desde o início da década de 80, a Toxina botulínica tipo - A TBA, potente bloqueador da junção neuromuscular, tem sido empregada em afecções onde se tenha como objetivo “relaxar” músculos de uma maneira localizada. Um dos sete subtipos da bactéria gram-positiva **Clostridium botulinum**, a TBA é facilmente cristalizada e relativamente estável. Embora, seja a mais potente toxina biológica conhecida, a pequena quantidade contida em cada frasco torna improvável a administração de uma dose letal (Ashworth, 1964).

Os efeitos de agentes medicamentosos foram relatados por Miura et al. (1969) que descreveram os efeitos do hormônio de crescimento no desenvolvimento de ratos jovens, tendo observado diferentes efeitos em cada componente do complexo dentofacial, promovendo grande incremento no comprimento e menor aumento na altura da mandíbula.

Nos estudos em seres humanos, não foram observados necrose e nem inflamação, após doses repetidas de TBA, relatando brotamentos não colaterais de novas terminações nervosas, a partir das regiões axonais não mielínicas próximas à placa motora, de arborização axonal ultraterminal sobre a placa motora e junto aos nódulos de Ranvier dos axônios mielinizados pré-terminais (Scott, 2004).

A toxina botulínica tipo A apresenta outras indicações como no tratamento da espasticidade do membro superior (seqüela de acidente vascular cerebral), dos adutores na esclerose múltipla e de diversos grupos musculares na paralisia cerebral (Frueh et al., 1984).

Para se medir a potência da TBA, imprega-se a unidade camundongo. Uma unidade da TBA é a quantidade da toxina que mata 50% (DL 50) dos camundongos de um grupo do sexo feminino (raça Swiss-Webster), com 18 a 20 gramas de peso (Silver et al., 1985).

Algumas etapas são necessárias para que a TBA exerça sua ação. São elas: ligação das terminações sinápticas (através do terminal C da cadeia pesada), internalização (terminal N da cadeia pesada) e inibição da liberação da acetilcolina (cadeia leve). O efeito tóxico se dá através da penetração de um fragmento da TBA no citosol, onde a cadeia leve exerce sua atividade proteolítica sobre as proteínas VAMP e sinaptobrevina-2 ("proteínas de fusão"), responsáveis pela translocação da vesícula intacta de acetilcolina do citosol para a membrana plasmática, impedindo desta forma a sua exocitose Kerrigan et al. (1985) e Jankovic & Orman (1986).

A paresia muscular causada pela TBA, em seres humanos e em modelos experimentais, é dose dependente e reversível, sendo esta reversibilidade observada na atrofia muscular por denervação, após exposição ao longo prazo Melling et al. (1988) e Pierson et al. (1996).

A dose letal, em experimento usando macacos, é aproximadamente 39 U/Kg peso, administrada intramuscular, ou intravenosa (Snow et al., 1990).

As publicações iniciais sobre a TBA relataram seu uso na correção do estrabismo, estendendo-se aos tratamentos das distonias localizadas, tais como blefaroespasma, torcicolo espasmódico e disfonia espasmódica (Borodic, Ferrante, 1992, 1994).

O mecanismo de ação da TBA consiste no bloqueio da liberação das vesículas de acetilcolina pré-sinápticas nas terminações nervosas colinérgicas sem destruí-las, produzindo um músculo funcionalmente denervado (Doellgast et al., 1994).

Observa-se um período de 24 a 72 horas entre a aplicação e o início do efeito clinicamente observado, sendo este tempo necessário para processar o seu efeito proteolítico sobre o substrato metabólico. A maioria dos pacientes relata relaxamento dos músculos injetados 7 a 14 dias após a aplicação. Sendo o tamanho da área de denervação determinado pela dose e volume da TBA, injeções múltiplas ao longo do músculo deverão manter este efeito dentro dos limites do músculo alvo (Siatkowski et al., 1995).

Extrapolando os dados experimentais para seres humanos, a DL 50 para um homem de 70 kg será aproximadamente 3000U (Simpson et al., 1996). A toxina botulínica (TBA) produz paralisia muscular pela inibição pré-sináptica da liberação da acetilcolina. A eliminação de sua toxicidade natural através de sofisticadas técnicas laboratoriais tornou possível clinicamente o tratamento de uma diversidade de distúrbios de movimentos até então de difícil controle. A filosofia de seu uso repousa na identificação dos principais músculos envolvidos no movimento anormal e na paralisia dos mesmos, pela injeção tópica da toxina botulínica tipo A,

promovendo o bloqueio do movimento anormal em questão. O procedimento, em mãos experientes, é simples, pode ser realizado ambulatorialmente, é pouco invasivo, seguro e tem elevada eficácia. A experiência pessoal do autor e a literatura mostram melhora significativa em estrabismo (85%), blefaroespasma (70% a 90%), distonia oromandibular (70%), distonia cervical (torcicolo espasmódico) (50% a 90%), distonia laríngea (80% a 100%); distonia de mão (40% a 80%) e espasmo hemifacial (90%) (Silva, 1997).

O botulismo ocorre quando os esporos do **Clostridium botulinum** germinam, colonizam o intestino local onde produzem a toxina botulínica, que após absorção, causa paralisia muscular flácida. O **Clostridium botulinum** é uma bactéria anaeróbica que produz sete cadeias imunologicamente distintas de neurotoxinas, determinadas A a G. A toxina, ativa e potencialmente letal, atua bloqueando a liberação sináptica de acetilcolina dos terminais nervosos colinérgicos. A toxina exerce seus principais efeitos na junção neuromuscular, resultando na perda irreversível da placa motora-terminal. O músculo é paralisado até que o nervo estabeleça o brotamento de novas junções. A toxina botulínica tipo A (TBA) é atualmente licenciada para uso no tratamento de ptose palpebral, espasmos faciais e torcicolo espasmódico. Contudo, a TBA é mais amplamente utilizada clinicamente em adultos, em particular no tratamento de distonias focais e espasticidade adquirida. Cada vez mais, a TBA vem sendo usada em crianças com paralisia cerebral. As paralisias cerebrais são muito diferentes das distonias focais, particularmente por seu envolvimento com um amplo número de grupo musculares (Maturana, Camargo, 2001).

A toxina botulínica pertence à classe das toxinas clostridiais. Essa toxina tem ação reversível no axônio terminal colinérgico, bloqueando a liberação de

acetilcolina pelos terminais nervosos na junção neuromuscular. Assim não ocorre a permeabilização dos canais de acetilcolina na placa terminal e, conseqüentemente, não há a entrada dos íons sódios para desencadear o potencial da placa motora. Atualmente, vêm sendo realizados, em várias partes do mundo, ensaios duplo-cegos comparados ao placebo, em pacientes com espasticidade produzida por diferentes etiologias. A licença da toxina botulínica do tipo - A como uma droga para o tratamento de distúrbios musculares involuntários, foi concedida em 1989, a Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento do estrabismo, blefaroespasmos e espasmo hemifacial (Scott, 2004).

Toxina botulínica tipo A (TBA) tem sido descrita como importante estratégia para diversos tipos de dor como cefaléia e dores relacionadas à distonia cervical ou síndrome miofacial. Embora a eficácia da TBA não tenha sido demonstrada na cefaléia do tipo tensional, seu uso na enxaqueca continua controverso. Nesse estudo, foi avaliada a eficácia da TBA na enxaqueca refratária. TBA foi injetada em pacientes com enxaqueca que fizeram tratamento prévio, com no mínimo três classes de medicamentos profiláticos, sem resultados satisfatórios. A melhora significativa dos pacientes foi observada após 30 dias de aplicação de TBA, enquanto a intensidade da dor e a freqüência de cefaléia continuaram reduzidas até o final dos três meses de seguimento. Os efeitos colaterais observados após a aplicação de TBA foram moderados e autolimitados. O estudo mostra que a TBA parece ser um tratamento seguro e eficaz para pacientes com enxaqueca refratária (Menezes et al., 2007).

3 PROPOSIÇÃO

A proposta do trabalho foi verificar as alterações cefalométricas (angulares e lineares) do complexo craniofacial e as alterações na direção do crescimento da face, produzidas pela injeção local da toxina botulínica tipo - A (Botox®) nos músculos temporais de ratos em fase de crescimento.

4 MATERIAIS E MÉTODO

Todos os procedimentos deste trabalho foram aprovados pelo comitê de ética em experimentação animal da faculdade e centro de pós-graduação em odontologia São Leopoldo Mandic.

Para a realização da pesquisa foram utilizados 21 ratos machos Wistar com três semanas. Foram utilizados animais de mesma linhagem Wistar e excluídos animais com alterações físicas ou comportamentais visíveis. O peso dos animais foi mensurado no início e após a radiografia final. Os animais foram divididos em três grupos: a) grupo controle com 10 ratos (grupo em que não foi realizada nenhuma injeção); b) grupo veículo com 5 ratos (grupo que foi realizada a injeção de soro fisiológico estéril); c) grupo Botox[®] com 6 ratos (grupo que foi realizada a injeção da Toxina botulínica tipo A - Botox[®]). Anteriormente às injeções, foram realizados testes de padronização, com injeção no músculo temporal, com violeta de genciana e posterior verificação da padronização mediante dissecação e avaliação do local da injeção em alguns ratos testes. O volume de cada injeção intramuscular foi de 1 μ L.

Durante o experimento os animais permaneceram no biotério da Faculdade e Centro de Pós-Graduação São Leopoldo Mandic, alojados em gaiolas (máximo de quatro animais por gaiola) em ambiente com temperatura e ciclo claro-escuro controlados. Os animais tiveram acesso livre à ração e água.

Cada animal foi radiografado antes das injeções e após 90 dias. Foi utilizada uma técnica de radiografia lateral, validada por meio da repetição de 20 radiografias de animais diferentes por operadores diferentes, sendo que os dados obtidos pelas radiografias foram inseridos numa fórmula matemática para cálculo de

erro da variância (Dahlberg, 1940). O método radiográfico utilizado foi o mesmo de Silva (2007) obtido com a construção de um cefalostato (especialmente construído para radiografias em ratos), incluindo um posicionador especial para o animal e para o filme (figura 3 e 4).



Figura 3 - Posicionador dos ratos para a tomada radiográfica - Cefalostato.

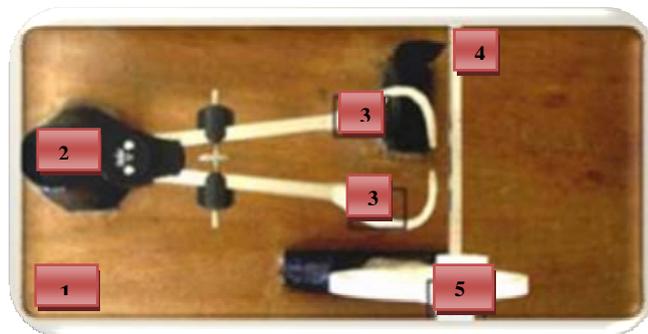


Figura 4 - Componentes do cefalostato desenvolvido por SILVA (2007) para aquisição de teleradiografias laterais em ratos. 1 - mesa; 2 - torre; 3 - olivas; 4 - suporte para filmes; 5 - posicionador do cone do aparelho de raios X.

Algumas alterações, em relação à incidência dos raios X, foram feitas por meio de modificações no cefalostato para que os mesmos incidissem no centro do crânio. O conduto auditivo externo dos ratos não é central ao crânio como em humanos em razão da anatomia da cabeça do rato ser mais alongada, portanto esta

modificação permite radiografias com menor distorção, comparadas às radiografias tomadas por cefalostatos de humanos adaptados a ratos.

Para as radiografias, os animais foram sedados com o anestésico cloral hidratado 10 mg/mL/Kg e posicionados no cefalostato (figura 5) qual foi projetado para manter padronizada a postura da cabeça e mantida a distância foco/filme de 7 cm. Para as radiografias foi utilizado um filme oclusal fabricado pela Eastman Kodak Company, Kodak insight modelo IO - 41 tamanho 4 lote 4107939. A relação crânio-mandibular foi padronizada com a manutenção dos dentes dos animais em oclusão, estabilizando a mandíbula à maxila com um elástico ortodôntico de $\frac{1}{4}$ de diâmetro marca comercial "Morelli", objetivando obter uma estabilidade entre as bases ósseas.

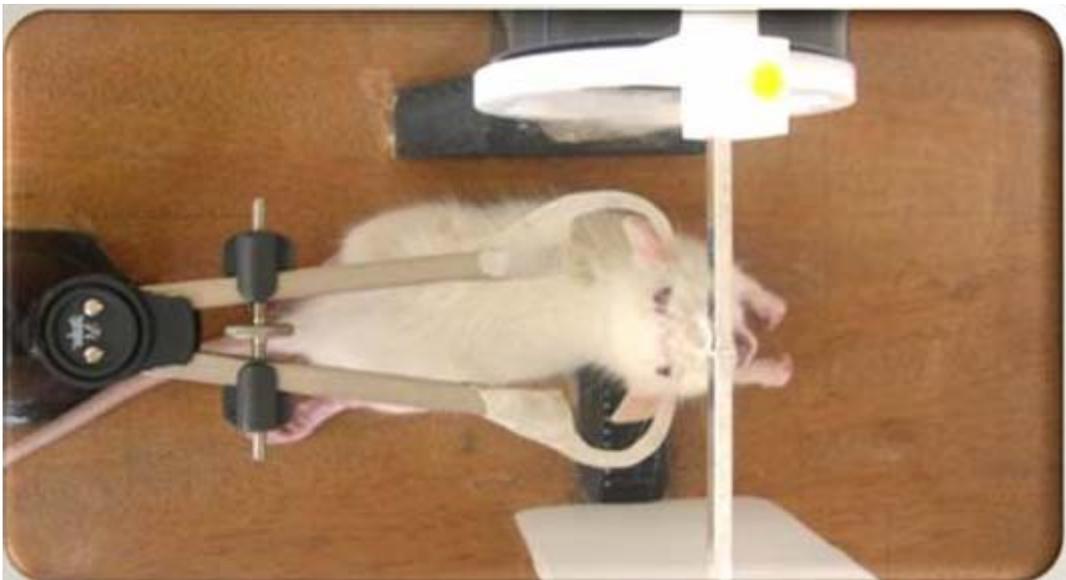


Figura 5 - Animal em posição para radiografia (cefalostato - filme - cilindro).

Foi utilizado um aparelho de raios X Odontomax, operando com 70 kVp e 8 mA, com tempo de exposição de 0,4 segundos. Para o processo de revelação dos

filmes foi utilizada uma processadora automática, comercialmente chamada Gendex GXP®.

As radiografias foram colocadas em uma moldura com escalas milimetradas nas extremidades lateral e superior e escaneadas (figura 6).



Figura 6 - Radiografia do animal posicionada em moldura milimetrada para a padronização da imagem sem ampliação.

Estas imagens foram inseridas no programa de informática Adobe Photoshop CS e tiveram a manipulação da escala de cinza para um ajuste do contraste - densidade e a inserção dos pontos de referências (figura 7).

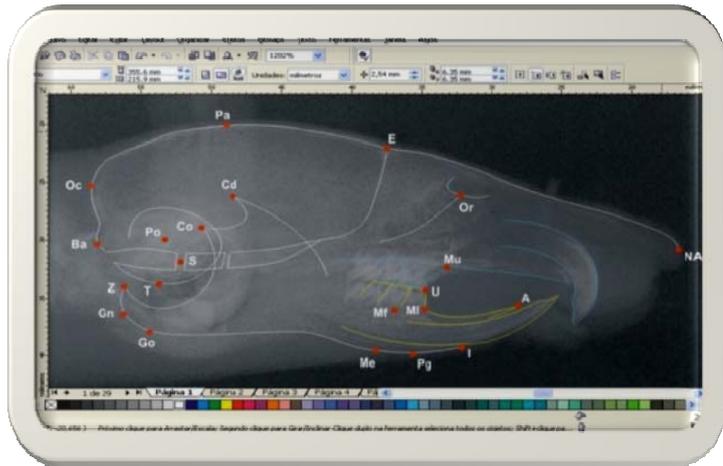


Figura 7 - Imagem digitalizada contendo o desenho cefalométrico e os pontos para mensuração das grandezas angulares e lineares.

Os pontos cefalométricos (figura 8) foram descritos como:

A: ponto mais anterior do osso alveolar na concavidade do incisivo inferior.

Ba: ponto mais pósterio-inferior do osso occipital.

Cd: ponto mais superior do processo coronóide.

Co: ponto mais superior e posterior do cêndilo.

E: ponto na intersecção entre o osso frontal e o ponto mais ântero-superior do limite posterior do osso etmóide

Go: ponto pósterio-inferior da borda da mandíbula.

Gn: ponto mais inferior no contorno do processo angular da mandíbula.

I: ponto mais anterior do osso alveolar na convexidade do incisivo inferior.

Me: ponto mais ântero-inferior da borda da mandíbula.

Mu: ponto na intersecção entre o osso alveolar maxilar e a superfície mesial do primeiro molar superior.

MI: ponto na intersecção entre o osso alveolar mandibular e a superfície mesial do primeiro molar inferior.

Mf: ponto posterior do forame mandibular.

Na: ponto mais anterior do osso nasal.

Oc: ponto mais posterior do osso occipital.

Or: ponto localizado na região inferior da órbita.

Pa: ponto mais superior do osso parietal.

Pg: ponto mais inferior do contorno da borda inferior da mandíbula, adjacente ao incisivo.

Pr: ponto correspondente ao pório anatômico.

S: ponto medial na sincondrose interesfenoidal.

T: ponto mais inferior do osso timpânico.

U: ponto na região mais anterior superfície mesial do 1º molar superior.

Z: ápice mais posterior do processo angular.

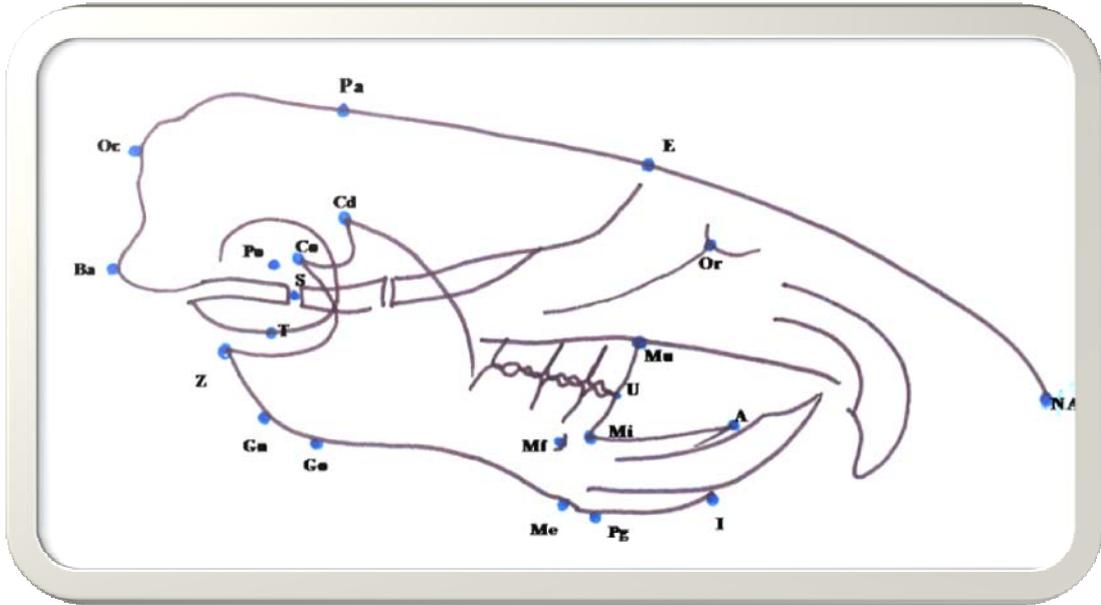


Figura 8 - Desenho cefalométrico e os pontos de referência.

As medidas utilizadas na metodologia são similares àquelas descritas por Tsolakis et al. (1997) (figura 9).

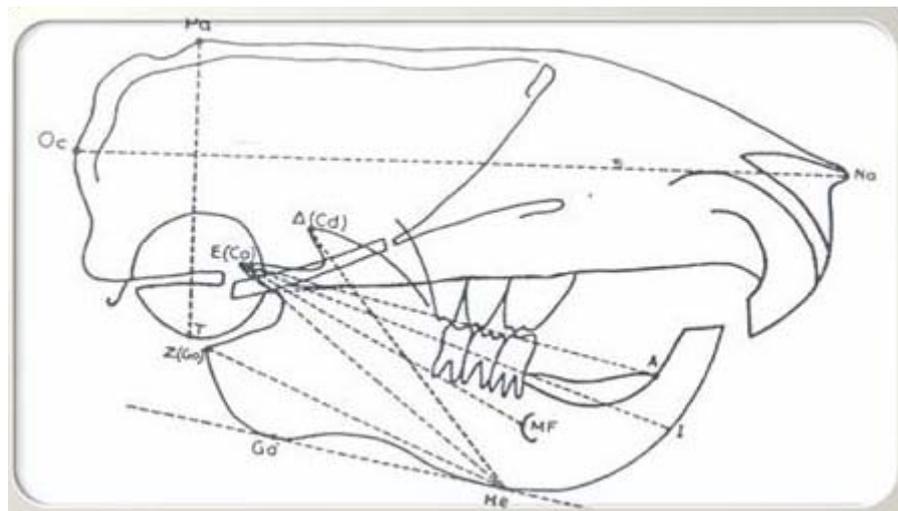


Figura 9 - Desenho cefalométrico com as retas e planos, como referência dos trabalhos de Tsolakis et al. (1997).

As imagens com os pontos de referência foram inseridas no programa de informática Corel Draw (figura 8) e avaliadas as medidas lineares e angulares (figura 9).

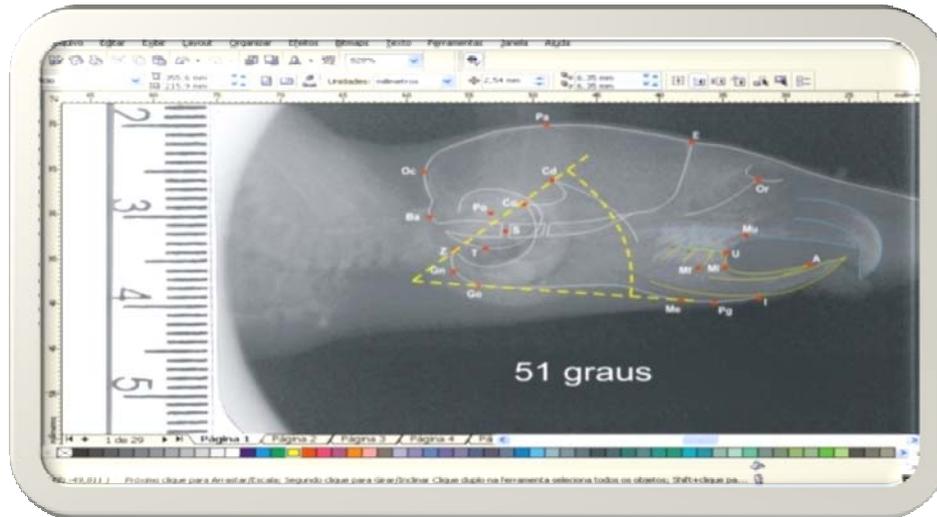


Figura 10 - Imagem demonstrando a obtenção das medidas angulares no programa de informática CorelDRAW.

Para avaliar o tamanho do crânio e o tamanho e posição da mandíbula foram utilizadas 9 nove medidas descritas por Tsolakis et al. (1997): Pa-T; A-Me; Co-A; Co-I; Co-Me; Co-Mf; Cd-Me; Z-Me; Go-Me.

Para avaliar a direção de crescimento, foi medido um ângulo formado entre os planos Or-Po e Go-Me, conforme os pontos descritos por Cleall et al. (1968) descrito como FMA.

A morfologia mandibular também foi avaliada por meio do ângulo goníaco formado pelas linhas Me-Go e Z-Cd, conforme descrito por Gebhardt & Pancherz (2003).

Para se comparar as medidas cefalométricas lineares e angulares entre os grupos e entre os períodos experimentais do mesmo grupo (antes e após o período de tratamento farmacológico), estas foram representadas como média e desvio padrão da média. As médias foram comparadas entre si através de ANOVA e Teste de Tukey, adotando-se como diferença significativa $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Os dados provenientes da radiografia inicial foram denominados antes do experimento (animais com 20 dias) e se mostraram iguais entre os três grupos em todos os casos. Os dados obtidos com a radiografia final foram denominados depois do experimento e foram comparados entre si e com os dados de antes do experimento.

Observou-se que os grupos: temporal Botox[®], veículo temporal e controle temporal obtiveram variáveis estatisticamente diferentes dos dados obtidos antes do experimento pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Para a avaliação de alterações sistêmicas foi avaliado o peso dos animais antes do experimento e depois do experimento, onde mostrou-se iguais (gráfico 1) pelo teste Tukey ($p > 0,05$).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos temporal Botox[®], veículo temporal e controle temporal nas variáveis lineares (Pa-T, A-Me, Co-A, Co-I, Co-Me, Z-Me, Cd-Me, Go-Me, $p > 0,05$) com exceção da variável Co-Mf que se mostrou diferente entre os grupos veículo e toxina botulínica ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey (tabela 1). As variáveis angulares (FMA e ângulo goníaco) também são estatisticamente iguais entre os três grupos (tabela 1) pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

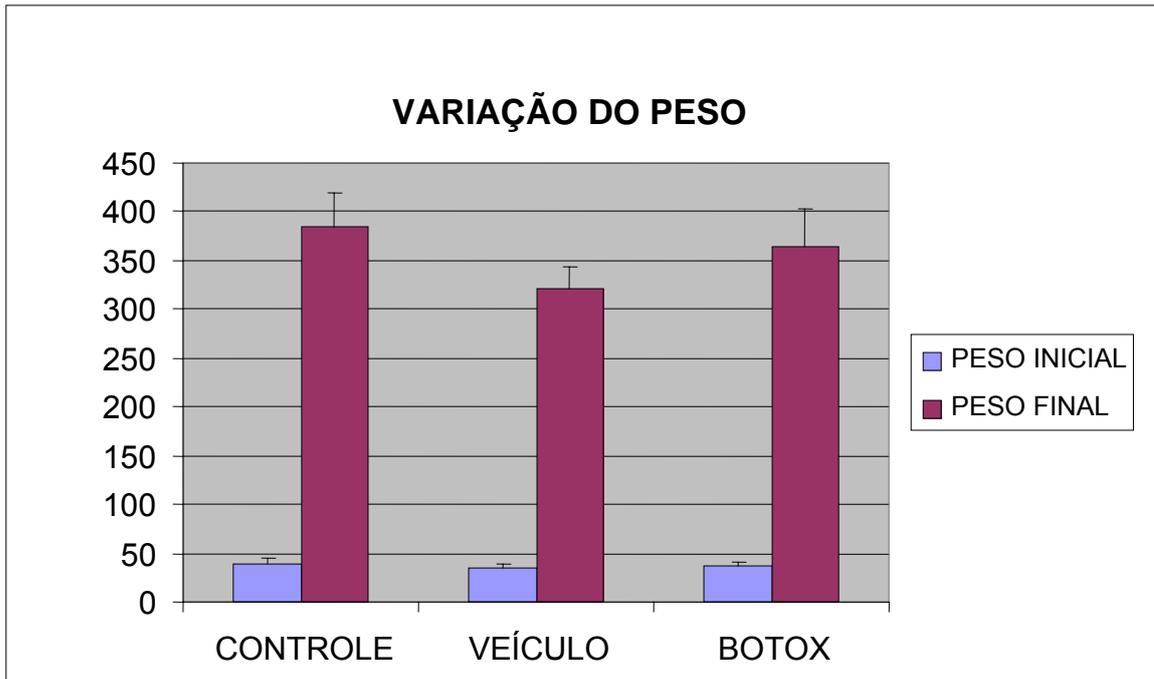


Gráfico 1 - Peso dos animais (média e desvio padrão) nas fases inicial e final do experimento. $P > 0,05$ entre os grupos nas duas fases.

Tabela 1 - Variáveis cefalométricas lineares de ratos em fase de crescimento submetidos à injeção de toxina botulínica (Botox) veículo ou sem tratamento (Controle) nos músculos temporais.

		GRUPO					
		Controle		Veículo		Botox	
		Média	Desv Pad	Média	Desv Pad	Média	Desv Pad
ANTES DO TRATAMENTO	Pa-T	14,79	0,45	14,42	0,57	14,27	0,60
	A-Me	8,58	1,37	10,64	0,45	9,48	1,20
	Co-A	21,27	0,98	22,93	0,25	22,89	0,49
	Co-I	20,68	1,05	20,73	0,29	21,04	0,95
	Co-Mf	15,13	1,12	15,29	0,17	15,48	0,71
	Co-Me	15,98	1,09	16,07	0,53	17,14	0,96
	Z-Me	19,48	2,29	19,34	0,92	20,97	3,37
	Cd-Me	15,89	0,94	16,34	0,34	17,36	0,94
	Go-Me	15,72	1,73	14,94	0,32	16,47	1,62
DEPOIS DO TRATAMENTO	Pa-T	16,78	0,69	16,62	0,12	17,01	0,16
	A-Me	10,52	0,54	11,07	0,90	11,53	0,79
	Co-A	28,96	1,36	29,08	0,58	29,32	0,78
	Co-I	26,80	1,74	26,83	0,62	26,64	0,60
	Co-Mf	22,34	1,49	19,99	0,09	21,16 *	1,73
	Co-Me	23,28	1,09	23,49	0,64	23,03	0,76
	Z-Me	22,02	1,12	24,65	0,73	24,98	1,15
	Cd-Me	23,67	1,03	24,16	0,50	23,53	0,69
	Go-Me	16,04	1,07	16,88	0,57	17,15	1,11

* $p < 0,05$ vs. Veículo entre grupos do mesmo período.

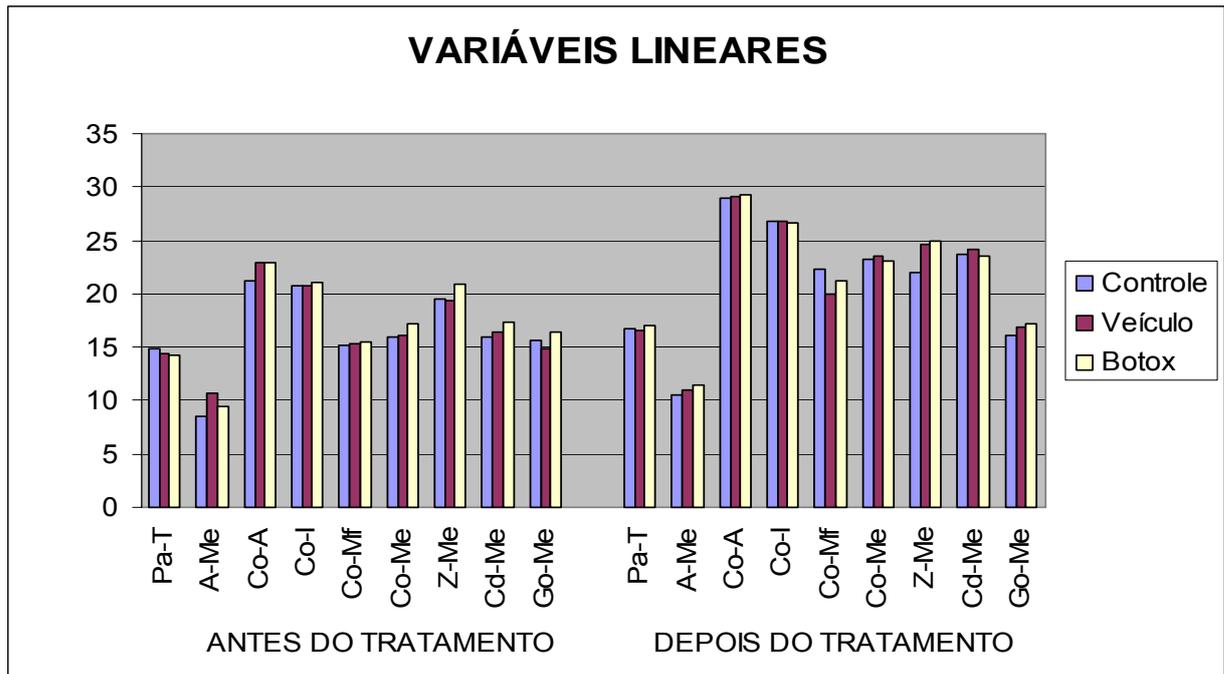


Gráfico 2 - Variáveis lineares cefalométricas (média) de ratos em período de crescimento submetidos à injeção de toxina botulínica (Botox) veículo nos músculos temporais ou sem tratamento (Veículo). Todos os grupos foram diferentes ao compararem-se os tempos antes do tratamento e depois do tratamento.

Tabela 2 - Variáveis cefalométricas angulares de ratos em fase de crescimento submetidos à injeção de toxina botulínica (Botox) veículo ou nenhum tratamento (Controle) nos músculos temporais.

		GRUPO					
		Controle		Veículo		Botox	
		Média	Desv Pad	Média	Desv Pad	Média	Desv Pad
Antes do tratamento	FMA	14,33	2,19	14,40	3,21	13,83	1,94
	ang.goniaco	50,00	6,35	44,80	2,77	47,33	2,25
Depois do tratamento	FMA	22,27	1,73	20,00	2,35	19,83	0,98
	ang.goniaco	60,67	5,35	62,60	2,07	59,33	1,51

$p > 0,05$ entre grupos do mesmo período.

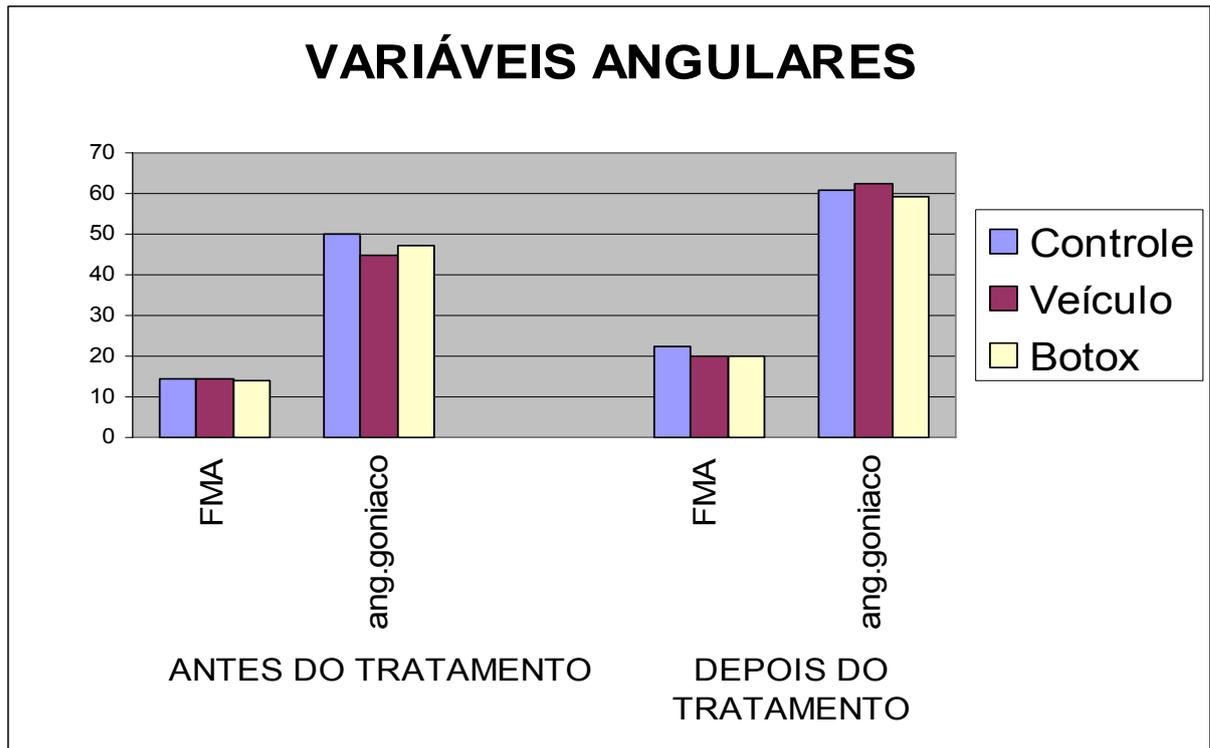


Gráfico 3 - Variáveis cefalométricas angulares (ângulo goníaco e FMA) média de ratos submetidos à injeção de toxina botulínica (Botox) veículo ou nenhum tratamento (controle) durante o período de crescimento , nos músculos temporais. Os grupos diferem entre si quando comparados antes e depois do tratamento; $p > 0,05$.

6 DISCUSSÃO

Os trabalhos científicos experimentais em animais devem obedecer dois preceitos de extrema importância para a justificativa de sua realização: a ética e a correlação com o uso deste experimento para benefícios em humanos. Outros aspectos que devem ser observados como princípios são:

- a) que os seres humanos são mais importantes que os animais, mas o animal também tem importância diferenciada, de acordo com a espécie considerada;
- b) que nem tudo o que é tecnicamente possível ser realizado deve ser permitido;
- c) que nem todo o conhecimento gerado em pesquisas com animais é plenamente aplicado em seres humanos.

Este trabalho objetivou a avaliação da toxina botulínica - tipo A injetada no músculo temporal e sua ação como meio farmacológico de controle do crescimento facial, traria uma alternativa importante para o tratamento das displasias e discrepâncias esqueléticas da face. Tal fato justifica o uso dos animais na pesquisa, bem como a comparação dos acontecimentos fisiológicos dos animais do experimento aos acontecimentos nos humanos.

Os experimentos envolvendo animais mostram que mudanças na função muscular (provocadas por drogas estimuladoras e inibidoras injetadas) resultaram em alterações na morfologia esquelética (Horowitz, Shapiro, 1955; Moore, 1973; Takahashi, 1988; Navarro et al., 1995). Não é correto que o mesmo resultado também ocorra nos humanos devido às diferenças entre as espécies, pois as

condições experimentais são freqüentemente tão extremas que não podem ser utilizadas ao homem. Entretanto, a pesquisa animal fornece subsídios ao pesquisador para a elaboração de conceitos que poderão ser utilizados em humanos, pois o estudo sobre a interação de fatores que afetam os mecanismos de crescimento em humanos é eticamente inviável.

Apesar das considerações de Losken et al. (1992), de que o padrão esquelético mais semelhante ao humano é o dos chimpanzés e macacos, os mesmos autores sugeriram que modelos alternativos devam ser explorados em razão do alto custo e das dificuldades de estudo longitudinal com estes animais. Assim, informações básicas sobre os mecanismos de crescimento podem ser obtidas utilizando-se pequenos animais de laboratório, sendo os ratos comumente utilizados Cleall et al. (1968). Estes animais também apresentam algumas vantagens como a facilidade de manipulação, necessidade de pequenos espaços para viver e tamanho suficiente para a realização de radiografias cefalométricas Gebhardt & Pancherz (2003). Vanderberg et al. (2004) descreveram que ratos são usados em razão de sua viabilidade ética, seu rápido crescimento, baixo custo e por ser um modelo eficaz e eficiente no estudo dos diferentes efeitos de agentes terapêuticos, pois seu complexo craniofacial é suficiente para observar o potencial de resposta de seus componentes como, por exemplo, o potencial de crescimento.

A pesquisa animal também possibilita adequar técnicas de pesquisa utilizada em humanos, por exemplo, a cefalometria. Estudo longitudinal como Engstrom et al. (1982) mostraram a utilização da cefalometria na avaliação do crescimento esquelético que fornece ao pesquisador valiosas informações acerca da direção e relativa quantidade de crescimento do complexo craniofacial.

Apesar de a radiografia cefalométrica ser o método mais utilizado no estudo do crescimento do complexo craniofacial, Cleall et al. (1968) concluíram ser um método inviável quando aplicado em ratos, possivelmente em decorrência dos erros de posicionamento dos animais no cefalostato e da dificuldade de localização dos pontos cefalométricos nas impressões fotográficas utilizadas na realização do traçado cefalométrico. Utilizando a mesma metodologia e o mesmo material de pesquisa, foi realizado um trabalho paralelo mostrando a correlação dos resultados obtidos com a cefalometria e os achados na craniometria.

Entretanto, Engstrom et al. (1982) relataram que a análise cefalométrica seria aplicável para obter uma descrição do crescimento de ratos em diferentes idades.

Para este trabalho foi utilizado um cefalostato (especialmente construído para pequenos animais), disponibilizando acessórios simples montados conforme os trabalhos de Silva (2007) descrito nos estudos de Tsolakis et al. (1997) e Vanderberg et al. (2004). Foi usada uma técnica de telerradiografia e cefalometria em ratos, considerando a aplicabilidade do método, a reprodutibilidade dos resultados e a validação da técnica por meio da fórmula de erro de variância, proposta por Dahlberg (1940), também utilizadas por Tsolakis et al. (1997).

O método utilizado mostrou-se reprodutível, tanto em animais em fase de crescimento (três semanas, 50 g) como em animais adultos (15 semanas, 380 g) sendo adequado para animais com uma grande variação de tamanho, além de disponibilizar uma ferramenta de estudo do crescimento e desenvolvimento do complexo craniofacial.

A confiabilidade do método também pôde ser comprovada pelo pequeno desvio padrão obtido das grandezas cefalométricas avaliadas.

Miura et al. (1969), Moore (1973), Engstrom et al. (1982), Takahashi 1988; Noda et al. (1994); Navarro et al. (1995), Tsolakis et al. (1997), Gebhardt & Pancherz (2003) e Vanderberg et al. (2004) utilizaram o método de telerradiografia e cefalometria para mensurar as alterações no crânio e na face frente às influências mecânicas e medicamentosas. No entanto, as medidas entre crânio e mandíbula foram obtidas de maneira independente, possivelmente em virtude da dificuldade em padronizar a posição mandibular com o animal anestesiado.

Para corrigir a deficiência da metodologia dos trabalhos acima, neste trabalho, a relação crânio-mandibular foi padronizada com a manutenção dos dentes dos animais em oclusão, estabilizando a mandíbula e a maxila com um elástico ortodôntico de $\frac{1}{4}$ de diâmetro, objetivando obter estabilidade das bases ósseas e do plano oclusal no ato do posicionamento do animal no cefalostato.

A utilização da modificação do cefalostato permitiu localizar a incidência do feixe central dos raios X no ponto médio do crânio e não na direção dos condutos auditivos externos como ocorre no cefalostato para humanos. Os ratos possuem meatos demasiadamente excêntricos ao crânio, característica que pode aumentar as desproporções na imagem radiográfica, principalmente na região anterior, a mais distante dos condutos auditivos. Os meatos demasiadamente excêntricos ao crânio deve ser considerado ao obtermos radiografias de animais em diferentes períodos de crescimento, pois a eventual distorção na imagem impossibilitaria o cálculo preciso da variação do tamanho das estruturas.

Neste trabalho pôde-se observar que a toxina botulínica - tipo A aplicada nos músculos temporais de ratos no volume de 1 μ L (dose utilizada que resultou em um efeito local) não sendo observadas alterações significantes na estatística comparando-se o grupo VEI e o grupo BOT e diferenças no peso corporal entre os

grupos. Além disso, as ausências de alterações nas medidas lineares avaliadas (Pa-T; A-Me; Co-A; Co-I; Co-Me; Co-Mf; Z-Me; Cd-Me e Go-Me) também podem ser explicadas pela ausência do efeito sistêmico da toxina.

A ortodontia, como outras especialidades da odontologia, dispõe atualmente de terapias mecânicas inovadoras e eficientes para o tratamento das más-oclusões relacionadas a padrões anormais de crescimento. Sendo assim, o tratamento ortodôntico se resume essencialmente a três opções: modificação no crescimento, camuflagem dentária e cirurgia ortognática.

A modificação no crescimento é sempre a terapêutica eleita, pois proporciona um melhor ajuste no equilíbrio entre os componentes do complexo craniofacial e, conseqüente restabelecimento funcional e estético. No entanto, as restrições a esta modalidade terapêutica são amplas, pois os padrões faciais são determinados geneticamente (Hartsfield, 2002) e permanecem, durante toda a vida, como demonstrados nos trabalhos de Bishara & Jacobsen (1985) e de Nanda (1988).

Assim, muitas limitações nos procedimentos terapêuticos ortodônticos ocorrem em função de padrões anormais de crescimento e resultam na associação de tratamento ortocirúrgico para sua correção, especialmente nos casos de pacientes de padrão face longa e face curta (Linden, 1999; Cardoso et al., 2002).

Como, nos padrões faciais que envolvem fatores verticais, há sempre uma correlação das características musculares, principalmente dos músculos elevadores da mandíbula, a morfologia facial tem recebido considerável atenção dos pesquisadores. Fatores como mensuração da força de mordida (Ingervall, Thilander, 1974, 1978; Proffit, Fields, 1983), análise da atividade eletromiográfica (Lowe, 1980) e relação entre espessura muscular e dimensões faciais (van sprosen et al., 1989,

1991, 1997; Kiliaridis, Kalebo, 1991; Linder, 1999) têm demonstrado que os padrões que possuem alterações verticais da face apresentam uma musculatura mais ou menos potente, com diferentes valores eletromiográficos e, portanto diferenciada tanto no diagnóstico quanto no modo terapêutico, sendo indicada uma terapêutica mecânica quando comparada a indivíduos de padrões de musculatura normal. De acordo com Sassouni & Nanda (1964), Fields et al. (1984), Cardoso et al. (2002) a origem do pacientes com face longa reside em uma posição condilar mais alta, ramo mandibular mais curto e molares superiores mais distantes do plano palatino, o que levaria a certas características cefalométricas como altura facial anterior aumentada, principalmente no terço inferior da face, ângulo FMA aumentado, hiperdivergência dos planos faciais e ângulo goníaco aberto.

De acordo com Hartsfield (2002), a etiologia do padrão de face longa é multifatorial com forte determinante genético, mas salienta que, em casos de menor gravidade, pode ser mais dependente de fatores ambientais que influenciam os fatores neuromusculares e, conseqüentemente, as estruturas faciais e a posição e relação dentária. Neste sentido, Kiliaridis et al. (1989) descreveram as características dentárias e faciais em pacientes com função muscular alterada por distrofia muscular e (Spyropoulos, 1985; Ingervall, Bitsanis, 1987) demonstraram que o aumento da força dos músculos mastigatórios em virtude de exercícios musculares pode influenciar benéficamente o crescimento facial de pacientes de face longa.

Baseado na alteração da forma óssea pela função muscular (mecanismo indireto), descrita por Enlow (1968, 1993) pela "lei de Wolff", verificou o efeito da toxina botulínica - tipo A aplicada localmente nos músculos temporais de ratos.

A provável inibição motora dos músculos temporais, causada pela toxina botulínica - tipo A foi incapaz de promover alterações no tamanho do crânio,

observadas nas dimensões lineares da mandíbula (A-Me; Co-A; Co-I; Co-Mf; Co-Me; Z-Me; Cd-Me e Go-Me). Os resultados sugerem a ausência de efeitos sistêmicos, pois nos trabalhos de Bareet & Harris (1993), Noda et al. (1994), Gebhardt & Pancherz (2003) houve, com o uso sistêmico de drogas estimulantes musculares como a nandrolona, alterações nas estruturas ósseas avaliadas.

Ao avaliar as medidas angulares, o ângulo formado entre o plano de Frankfurt e o plano mandibular, definido como ângulo FMA, e que expressa a divergência dos planos faciais, não se alterou significativamente com o crescimento no grupo analisado com a injeção da toxina botulínica - tipo A.

Houve uma alteração, insignificante na avaliação estatística, no ângulo goníaco. Esta medida diminuiu desconsideravelmente, na razão estatística, em relação ao grupo VEI. Ao relacionarmos o grupo BOT com o grupo VEI, não observamos nenhuma diferença estatisticamente significativa que resultaria em divergência do plano mandibular no grupo BOT. Este resultado pode ser explicado pela não função primária deste músculo no efeito do crescimento facial.

A negativa quanto ao efeito no ângulo FMA observada no grupo BOT, com resultados estatísticos insignificantes, pode ocorrer, pois a inserção deste músculo no processo coronóide não altera a morfologia mandibular expressa pelo ângulo goníaco, e tão pouco na rotação mandibular. Um trabalho realizado no mesmo laboratório, usando da mesma metodologia e com o mesmo material de pesquisa, mostrou uma divergência dos planos faciais evidenciados pela alteração do ângulo FMA e goníaco, quando da injeção da mesma droga no músculo masseter. Outro trabalho desta mesma linha de pesquisa, quando comparado, o resultado da cefalometria com o da craniometria, os resultados mostram que o músculo masseter tem função significativa no crescimento e desenvolvimento da

face, o que não ocorre com o músculo temporal. Os trabalhos citados acima são complementares a este e estão em fase de defesa de tese.

Popularmente conhecido como BOTOX®, a toxina botulínica do tipo A é uma substância líquida, estéril e liofilizada, produzida pela bactéria chamada **Clostridium botulinum**. A neurotoxina é produzida pela bactéria em 7 tipos diferentes, os quais são designados pelas letras A, B, C, D, E, F e G, sendo que a neurotoxina A é considerada de ação mais potente no organismo humano, a toxina apresenta basicamente duas ações distintas e complementares. Ela se liga aos receptores terminais encontrados nos nervos motores, gera um bloqueio na condução neuromuscular e entra nos terminais nervosos, onde inibe a liberação da acetilcolina. Dessa forma, quando injetada por via intramuscular e em doses terapêuticas produz paralisia muscular localizada por denervação química temporária. A denervação química produz uma atrofia do músculo, posteriormente, o músculo desenvolve novos receptores extrajuncionais para a acetilcolina e a debilidade instalada acaba se revertendo (Simpson et al., 1996).

Este trabalho demonstrou a ação da droga toxina botulínica - tipo A Botox®, quanto à aplicação nos músculos temporais, evidenciadas pelas alterações lineares e angulares em cefalometria, e discutiu a ação, nas diversas partes do crânio, objetivando uma análise do padrão de crescimento crânio-mandibular em ratos. Elucidações sobre os mecanismos básicos destas alterações requerem estudos futuros referentes ao seu uso na ortodontia, para que drogas de inibição de músculos possam ser utilizadas como meio de controle de crescimento facial.

A literatura não dispõe de pesquisas que demonstram a ação local da droga usada no meio odontológico ou estético, como inibidor de ação muscular no auxílio do tratamento das discrepâncias esqueléticas da face, bem como as

modificações que estas poderiam promover na composição e no tamanho das fibras dos músculos mastigatórios. Além disso, a pesquisa salienta a possibilidade de um fármaco, localmente aplicado nos músculos faciais, alterar o crescimento craniofacial e complementa outras pesquisas sobre o estímulo ou inibição de músculos nos resultados do crescimento e desenvolvimento facial. O uso de fármacos que promovam inibição ou estímulo de um músculo (sem apresentar contra-indicação e ação sistêmica prejudicial ao organismo) se apresenta como uma alternativa complementar aos cirurgiões-dentistas (em especial, aos ortodontistas), ortopedistas e cirurgiões bucomaxilofaciais e que, em conjunto com os meios mecânicos e terapêuticos poderia ser usado no tratamento das patologias e discrepâncias esqueléticas faciais.

7 CONCLUSÃO

A aplicação de injeção local de toxina botulínica - tipo A (BOTOX®) nos músculos temporais de ratos em crescimento não é capaz de alterar a morfologia craniofacial, mostrando ser este músculo pouco importante no processo de desenvolvimento anatômico.

REFERÊNCIAS¹

- Ashworth B. Preliminary trial of carisoprodol in multiple sclerosis. *Practitioner*. 1964 Apr;192:540-2.
- Barrett RL, Harris EF. Anabolic steroids and craniofacial growth in the rat. *Angle Orthod*. 1993 Winter;63(4):289-98.
- Bishara SE, Jacobsen JR. Longitudinal changes in three normal facial types. *Am J Orthod*. 1985 Dec;88(6):466-502.
- Björk A, Skieller V. Normal and abnormal growth of the mandible. A synthesis of longitudinal cephalometric implant studies over a period of 25 years. *Eur J Orthod*. 1983 Feb;5(1):1-46.
- Björk A. Prediction of mandibular growth rotation. *Am J Orthod*. 1969 June;55(6):585-99.
- Borodic GE, Ferrante R, Pearce LB, Smith K. Histologic assessment of dose-related diffusion and muscle fiber response after therapeutic botulinum - Atoxin injection. *Mov Disord*. 1994 Jan;9(1):31-9.
- Borodic GE, Ferrante R. Effects of repeated botulinum toxin injections on orbicularis oculi muscle. *J Clin Neuro-Ophthalmol*. 1992;12:121-7.
- Cardoso MA, Bertoz FA, Reis SAB. Estudo das características oclusais em portadores de padrão de face longa com indicação de tratamento orto-cirúrgico. *Rev Dental Press Ortodon Ortop Facial*. 2002;7:63-70.
- Cardoso MA. Estudo das características cefalométricas do padrão de face longa [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista; 2003.
- Cleall JF, Wilson GW, Garnett DS. Normal craniofacial skeletal growth of the rat. *Am J Phys Anthropol*. 1968 Sept;29(2):225-42.
- Dahlberg G. *Statistical methods for medical and biological students*. New York: InterScience; 1940.
- Dallanora LJ, Faltin PP, Inoue RT. Avaliação do uso de acupuntura no tratamento de pacientes com bruxismo. *RGO*. 2004;52(5):333-9.
- Doellgast GJ, Beard GA, Bottons JD. Enzyme - linked immunosorbent assay and enzyme - linked coagulation assay for detection of clostridium botulinum neurotoxin-A, neurotoxin-B and neurotoxin-E and solution-phase complexes with dual-label antibodies. *J Clin Microbiol*. 1994;32:105-11.

¹ De acordo com o Manual de Normalização para Dissertações e Teses da Faculdade de Odontologia São Leopoldo Mandic, baseado no estilo Vancouver de 2007, e abreviatura dos títulos de periódicos em conformidade com o Index Medicus.

- Engstrom C, Linde A, Thilander B. Craniofacial morphology and growth in the rat. Cephalometric analysis of the effects of a low calcium and vitamin D-deficient diet. *J Anatol*. 1982 Mar;134(Pt 2):299-314.
- Enlow DH. Crescimento facial. Tradução por Sílvia Fuerte Bakor. 3a ed. São Paulo: Artes Médicas; 1993.
- Enlow DH. Wolff's law and the factor of architectonic circumstance. *Am J Orthod*. 1968 Nov;54(11):803-22.
- Fields HW, Proffit WR, Nixon WL. Facial pattern differences in long-faced children and adults. *Am J Orthod*. 1984 Mar;85(3):217-23.
- Frueh BR, Feit DP, Wojno TH. Treatment of blepharospasm with botulinum toxin. *Arch Ophthalmol*. 1984;102:1464-6.
- Gebhardt A, Pancherz H. The effect of anabolic steroids on mandibular growth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2003 Apr;123(4):435-40.
- Hartsifield Junior JK. Development of the vertical dimensions: nature or nurture. *Semin Orthod*. 2002;8:113-9.
- Horowitz SL, Shapiro HH. Modification of skull and jaw architecture following removal of the masseter muscle in the rat. *Am J Phys Anthropol*. 1955 June;13(2):301-8.
- Ingervall B, Bitsanis E. A pilot study of the effect of masticatory muscle training on facial growth in long-face children. *Eur J Orthod*. 1987 Feb;9(1):15-23.
- Ingervall B, Helkimo E. Masticatory muscle force and facial morphology in man. *Arch Oral Biol*. 1978;23(3):203-6.
- Ingervall B, Thilander B. Relation between facial morphology and activity of the masticatory muscles. *J Oral Rehabil*. 1974 Apr;1(2):131-47.
- Jankovic J, Orman J. Botulinum toxin for cranial-cervical dystonia: a double-blind controlled study. *Neurology*. 1986;36(1):120-1.
- Kerrigan CD, Casey D, Scheffer LR. Spastic paretic gait: an approach to evaluation and treatment. *Crit Ver Phys Rehabil Med*. 1995;7:253-68.
- Kiliaridis S, Kalebo P. Masseter muscle thickness measured by ultrasonography and its relation to facial morphology. *J Dent Res*. 1991 Sept;70(9):1262-5.
- Kiliaridis S, Mejersjo C, Thilander B. Muscle function and craniofacial morphology: a clinical study in patients with myotonic dystrophy. *Eur J Orthod*. 1989 May;11(2):131-138.
- Losken A, Mooney MP, Siegel MI. A comparative study of mandibular growth patterns in seven animal models. *J Oral Maxillofac Surg*. 1992 May;50(5):490-5.
- Lowe AA. Correlation between orofacial muscle activity and craniofacial morphology in a sample of control and anterior open-bite subjects. *Am J Orthod*. 1980 July;78(1):89-98.
- Maturana CS, Camargo EA. Usos terapêuticos da toxina botulínica tipo A. *RBM Rev Bras Med*. 2001 out;58(10):766-73.

- Melling J, Hambleton P, Shone CC. Clostridium botulinum toxins: nature and preparation for clinical use. *Eye*. 1988;2:16-23.
- Menezes C, Rodrigues B, Magalhães E, Melo A. Botulinum toxin type A in refractory chronic migraine: an open-label trial *Arq Neuropsiquiatr*. 2007 Sept;65(3):596-8.
- Miura F, Nunota E, Hanada K. Effect of growth hormone on growth and development of the dentofacial complex in the young rat. A study by means of longitudinal roentgenographic cephalometrics. *Bull Tokyo Med Dent Univ*. 1969 June;16(2):109-22.
- Moore WJ. An experimental study of the functional components of growth in the rat mandible. *Acta Anat*. 1973;85(3):378-85.
- Moyers RE, Carlson DS. Maturação da neuromusculatura orofacial. In: Enlow DH. Crescimento facial. Tradução por Sílvia Fuerte Bakor. 3a ed. São Paulo: Artes Médicas; 1993. p. 260-71.
- Nanda SK. Patterns of vertical growth in the face. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1988 Feb;93(2):103-16.
- Navarro M, Delgado E, Monje F. Changes in mandibular rotation after muscular resection. Experimental study in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1995 Oct;108(4):367-79.
- Noda K, Chang HP, Takahashi I. Effects of the anabolic steroid nandrolone phenylpropionate on craniofacial growth in rats. *J Morphol*. 1994 Apr; 220(1):25-33.
- Pierson SH, Katz, DI, Tarsy D. Botulinum toxin A in the treatment of spasticity, functional implications and patient selection. *Arch Phys Med Rehabil*. 1996;77:717-21
- Proffit WR, Fields HW. Occlusal forces in normal- and long-face children. *J Dent Res*. 1983 May;62(5):571-4.
- Raadsheer MC, Kiliaridis S, Van Eijden TM. Masseter muscle thickness in growing individuals and its relation to facial morphology. *Arch Oral Biol*. 1996 Apr;41(4):323-32.
- Robledo FM. Electromyographic study of the temporal muscle. *Rev Cuba Estomatol*. 1985;22(2):177-86.
- Santos HMG. Alterações das atividades eletromiográficas dos músculos masseter e temporal anterior após a desprogramação neuromuscular da mandíbula de acordo com a filosofia de Roth [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2006.
- Santos MTBR, Biasotto-Gonzalez DA, Bérzin F. Avaliação eletromiográfica dos músculos temporal anterior e masseter em pacientes com seqüela de acidente vascular. *Pesqui Bras Odontopediatria Clin Integr*. 2004;4(1):15-8.
- Santos TM, Vitti M, Santos PRM. Estudo eletromiográfico da má-oclusão Classe II, durante tratamento com reabilitação dinâmica funcional dos maxilares. *J Bras Ortodon Ortop Facial*. 2004;9(50):136-44.
- Sassouni V, Nanda S. Analysis of dentofacial vertical proportions. *Am J Orthod*. 1964;50:801-23.

- Scott AB. Development of botulinum toxin therapy. *Dermatol Clin*. 2004 Apr;22(2):131-3.
- Serrano KVD, Porciúncula HF, Ramalho LTO. Feixe profundo do músculo temporal - confronto entre ciência e mídia. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 2002;56(1):50-5.
- Siatkowski RM, Tyutyunikov A, Biglan AW. Serum antibody production to botulinum-A toxin. *Ophthalmology*. 1995;100:1861-6.
- Silva DJ. Toxina botulínica: aplicações clínicas. *Rev Goiana Med*. 1997 jan-dez;42(1):35-43.
- Silva HCFP. Efeito da injeção local de nandrolona na direção de crescimento mandibular de ratos [dissertação]. Campinas: Faculdade de Odontologia São Leopoldo Mandic; 2007.
- Silver RL, Rang M, Chan J. Adductor release in nonambulant children with cerebral palsy. *J Pediatr Orthop*. 1985;5:672-7.
- Simpson DM, Alexander DN, O'Brien CF. Botulinum toxin type A in the treatment of upper extremity spasticity: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology*. 1996 May;46(5):1306-10.
- Snow BJ, Tsui JK, Bhatt BH. Treatment of spasticity with botulinum toxin; a double-blind study. *Ann Neurol*. 1990;28:512-5.
- Sobotta: atlas de anatomia humana. 21a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
- Spyropoulos MN, Tsolakis AI, Alexandridis C. Role of suprahyoid musculature on mandibular morphology and growth orientation in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2002 Oct;122(4):392-400.
- Spyropoulos MN. An early approach for the interception of skeletal open bite: a preliminary report. *J Pedod*. 1985 Spring;9(3):200-9.
- Takahashi I. Effects of denervation of the masseter muscle on craniofacial growth in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Nippon Kyosei Shika Gakkai Zasshi*. 1988 Mar;47(1):197-213.
- Tsolakis AI, Spyropoulos MN, Katsavrias E. Effects of altered mandibular function on mandibular growth after condylectomy. *Eur J Orthod*. 1997 Feb;19(1):9-19.
- Valdés GF, Rodríguez TA. Fascial layers of the temporal region: update. *Rev Chil Cir*. 2003;55(3):239-43.
- van der Beek MC, Hoeksma JB, Prahj-Andersen B. Vertical facial growth: a longitudinal study from 7 to 14 years of age. *Eur J Orthod*. 1991 June;13(3):202-8.
- van der Linden FPGM. Ortodontia desenvolvimento da dentição. São Paulo: Quintessence; 1986.
- van Spronsen PH, Koolstra JH, van Ginkel FC. Relationships between the orientation and moment arms of the human jaw muscles and normal craniofacial morphology. *Eur J Orthod*. 1997 June;19(3):313-28.

van Spronsen PH, Weijs WA, Valk J. Comparison of jaw-muscle bite-force cross-sections obtained by means of magnetic resonance imaging and high-resolution CT scanning. *J Dent Res*. 1989 Dec;68(12):1765-70.

van Spronsen PH, Weijs WA, Valk J. Relationships between jaw muscle cross-sections and craniofacial morphology in normal adults, studied with magnetic resonance imaging. *Eur J Orthod*. 1991 Oct;13(5):351-61.

VanderBerg JR, Buschang PH, Hinton RJ. Absolute and relative growth of the rat craniofacial skeleton. *Arch Oral Biol*. 2004 June;49(6):477-84.

Vanderberg JR, Buschang PH, Hinton RJ. Craniofacial growth in growth hormone-deficient rats. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2004 June;278(2):561-70.

ANEXO A - FOLHA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

*São Leopoldo Mandic
Faculdade de Odontologia
Centro de Pesquisas Odontológicas
Certificado de Cumprimento de Princípios Éticos*

2ª via

C E R T I F I C O que, após analisar o projeto de

Título: *Estudo Cefalométrico das alterações da direção de crescimento Mandibular e das estruturas Craniofaciais em Ratos, com a Inibição do Músculo Temporal através da Toxina Botulínica - A (botox)*

Pesquisador principal: Marcelo Sousa Gomes

Orientador: Rodrigo Cecanho

Data Avaliação: 30/11/2006

o Comitê de Ética e Experimentação Animal(CEEA) da Faculdade de Odontologia e de Pesquisas Odontológicas São Leopoldo Mandic considerou que o projeto está de com as diretrizes para a proteção do sujeito de pesquisa, estabelecidas pelo Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde.

Campinas, SP, Brazil, quinta-feira, 4 de dezembro de 2008

CERTIFICATION OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES

I hereby, certify that upon analysis of the Research Project,

Title:

Main Marcelo Sousa Gomes

Advisor: Rodrigo Cecanho

the Committee of Ethics for Animals Research of São Leopoldo Mandic School of Dentistry and Research Center, has considered the mentioned project to be in accordance to the guidelines of protection to the subject of the research, established by the National Health Council of the Brazilian Health Ministry.

**Prof. Dr. Thomaz Wassall
Coordenador de Pós-Graduação**