



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

TÂNIA MARIS PEDRINI SOARES DA COSTA

**FRAÇÕES DENTINÁRIAS RECONHECIDAS POR
IMUNOGLOBULINA G SALIVAR EM PACIENTES
SUBMETIDOS A TRATAMENTO ORTODÔNTICO**

LONDRINA
2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

TÂNIA MARIS PEDRINI SOARES DA COSTA

**FRAÇÕES DENTINÁRIAS RECONHECIDAS POR
IMUNOGLOBULINA G SALIVAR EM PACIENTES
SUBMETIDOS A TRATAMENTO ORTODÔNTICO**

Dissertação apresentada ao Programa Pós-graduação em Patologia Experimental da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para obtenção de título de mestre.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Eiko Nakagawa Itano

LONDRINA
2010

TÂNIA MARIS PEDRINI SOARES DA COSTA

**FRAÇÕES DENTINÁRIAS RECONHECIDAS POR
IMUNOGLOBULINA G SALIVAR EM PACIENTES
SUBMETIDOS A TRATAMENTO ORTODÔNTICO**

Dissertação apresentada ao Programa Pós-Graduação em Patologia Experimental da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para obtenção de título de mestre.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Eiko Nakagawa Itano
Universidade Estadual de Londrina

Prof^ª. Dr^ª. Solange de Paula Ramos
Universidade Estadual de Londrina

Prof^ª. Dr^ª. Fernanda A. Nakanishi-Ito
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, ____ de _____ 2010.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Imunologia Aplicada, Departamento de Ciências Patológicas, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina e contou com o apoio financeiro da FINEP, SETI/PR, CAPES, FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA, PROPPG/UEL.

À Deus por ter me dado a feliz oportunidade, de conhecer um pouco da sua Criação chamada Ciência. Eu dedico este trabalho para honra e glória do seu Santo Nome!

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos pais, Luiz Carlos Toledo Soares (*in memoriam*) e Gelci A. P. Soares por todo amor e dedicação.

Aos meus irmãos Luizinho, Gelsy Wani e Lincoln Luiz por terem sempre me incentivado.

Ao meu amado marido Moysés por ser meu fiel companheiro e pelo seu apoio incondicional.

Aos meus amados filhos Diego Augusto e Jacqueline que alegam a minha vida e me fazem lutar pelas coisas importantes.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Eiko Nakagawa Itano, pela oportunidade e atenção que me foi dada e por toda a sua experiência em prol da Imunologia e da Pesquisa, o meu carinho.

À Prof^a. Dr^a. Solange de Paula Ramos, por ter me cedido as amostras de seus pacientes, por fazer parte de minha banca de defesa e por toda colaboração, a minha gratidão.

Aos colegas cirurgiões-dentistas Dr. Pedro Cavalari do Centro de Especialidades Odontológicas de Cambé e ao Dr. Eiji Takagi, que contribuíram com os dentes utilizados nesta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Emerson José Venâncio por ter participado da banca de minha qualificação.

À Prof^a. Dr^a. Fernanda A. Nakanishi-Ito por ter participado da banca de minha qualificação e defesa.

A todos os professores do mestrado em Patologia Experimental, em especial à Prof^a. Dr^a. Maria Angélica Ehara Watanabe, que me incentivaram com o seu conhecimento. O meu reconhecimento!

As Instituições que financiaram este projeto FINEP, SETI/PR, PROPPG / UEL, CAPES e Fundação Araucária.

A todos os amigos do Laboratório de Imunologia Aplicada, pela alegria, atenção, convivência e aprendizado. Tenham a certeza que vocês fizeram parte desta realização: Nilson de Jesus Carlos, Mari Sumigawa Kaminame, Paula Cesar Leonello, Luciene Airy Nagashima, Lilian Cristina Raia de Dio, Juliana Elisa Lima, Fabiana Felipin Rigobello, Wilson Cândido Júnior, Wander Rogério Pavanelli.

COSTA, Tânia Maris Pedrini Soares. **Frações dentinárias reconhecidas por imunoglobulina G salivar em pacientes submetidos a tratamento ortodôntico.** 2010. 70fls. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

RESUMO

A análise de anticorpos a dentina pode contribuir com o diagnóstico precoce da reabsorção dentária bem como para uma melhor compreensão dos mecanismos imunopatológicos envolvidos no processo de reabsorção dentária humana. **Objetivo:** O presente trabalho teve como objetivo analisar nível de IgG anti- frações de extrato dentinário humano em amostras de salivas de pacientes submetidos a tratamento ortodôntico. **Metodologia:** O extrato dentinário humano foi obtido a partir de 37 dentes (3^{os}/ molares) íntegros, inclusos ou semi-impactados com indicação cirúrgica, obtendo-se inicialmente dentina em pó e a seguir tratada com solução desmineralizadora e centrifugação. O extrato dentinário foi submetido a fracionamento em coluna de sephadex G-25, obtendo-se duas frações (FI e FII). A fração FII foi re-fracionada em coluna de sephadex G-100 obtendo-se as sub-frações FII-a e FII-b. As frações FI e FII-a foram utilizadas como antígeno (30 µg/mL) e analisadas por ensaio imunoenzimático (ELISA) com amostras de salivas provenientes de dois grupos: grupo (n=13) antes (T0) e o mesmo após um ano (T12) do tratamento e, grupo com aproximadamente 48 meses pós-término de tratamento ortodôntico, apresentando reabsorção radicular apical (PT) (n=10), tendo como controle saliva de doadores saudáveis que nunca foram submetidos a tratamento ortodôntico e sem reabsorção dentária (ST) (n=10). Adicionalmente as frações FI e FII-a foram analisadas por *western blotting* com pool de amostras de saliva de ambos os grupos. **Resultado:** O nível de IgG salivar anti fração-FI de extrato dentinário humano foi significativamente maior em amostras de saliva (T12) em relação ao (T0) ($p < 0.05$) e também no grupo (PT) em relação ao (ST) ($p < 0.05$), não sendo observada a diferença com a fração FII-a. Os resultados de *western blotting* da fração FI demonstraram reconhecimento de componentes de MM ~35 e ~53 kDa por amostras de saliva (T12) e de ~50, ~53 e 70 kDa por amostras de saliva (PT). Na fração FII-a, foram detectadas duas bandas de MM ~35 e ~40 kDa em ambos os grupos. **Conclusão:** Durante o tratamento ortodôntico pode ocorrer aumento no nível de IgG salivar às frações de extrato dentinário humano e os componentes de extrato dentinário associado a reabsorção dentária reconhecidos por IgG salivar durante ou pós-tratamento ortodôntico apresentam MM entre 70 e 35 kDa.

Palavras-chaves: Proteínas dentinárias. Reabsorção radicular. Extrato dentinário. Anticorpo. ELISA.

COSTA, Tânia Maris Pedrini Soares. Dentin fractions recognized by salivary G immunoglobulin from patients submitted orthodontic treatment. 2010. 70fls. Dissertation (Master's degree in Experimental Pathology) – State University of Londrina, Londrina. 2010

ABSTRACT

The anti-dentin antibody analysis can contribute to the premature diagnosis of dental resorption as well as to a better understanding of immunopathological mechanisms involved in the human dental resorption. **Objective:** The purpose of this work was to analyze the human dentine extract anti-fractions IgG level in patients submitted orthodontic treatment. **Methodology:** the human dentin extract was obtained from 37 teeth (3th/molars), enclosed or semi-impacted, with surgical indication, obtaining firstly powder dentine and afterwards, dentine treated with demineralized solution, and centrifugation. The dentin extract was submitted to sephadex G-25 column fractioning, obtaining two fractions (FI and FII). FII fraction was refractioned in sephadex G-100 column, obtaining sub-fractions FII-a and FII-b. FI and FII-a were used as antigen (30 µg/mL) in enzymelinked immuno assay (ELISA) to analyze human saliva samples from two groups: patients (n=13) without dental resorption history, before the treatment (T0) as control and a year after start orthodontic treatment (T12), showing apical root resorption and another with approximately 48 months after the ending of the orthodontic treatment, showing apical root resorption (PT) (n=10), having as a control, saliva from healthy donors without treatment and without dental resorption (ST) (n=10) **Results:** The human dentin extract anti-FI salivary IgG level was significantly higher in saliva samples (T12) in relation to (T0) ($p < 0.05$) and also with saliva samples from patients of group (PT) in relation to (ST) ($p < 0.05$), and no difference observed with FII-a. FI-fraction *western blotting* analysis resulted in two main components with MM ~35 and ~53 kDa recognized by saliva samples (T12) and MM ~50, ~53 and ~70 kDa by saliva samples (PT). In the FII-a fraction were detected two bands MM ~35 e ~40 kDa in both groups. **Conclusion:** During orthodontic treatment can occur high in salivary IgG level the human dentin extract fractions and the dentin extract components associated the external root resorption recognized to salivary IgG during or after treatment present MM between 70 and 35 kDa.

Key words: Dental proteins. Root resorption. Dentin extract. Antibody. ELISA.

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

Arg – arginina

Asp – aspartato ou ác. aspártico

BMP - proteína osteomorfogenética

BSP – sialoproteína óssea

Cu – cobre

DMP-1 – proteína da matriz dentinária 1

D. O. – densidade óptica

DSPP – sialofosfoproteína dentinária

DSP – sialoproteína dentinária

EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético

EGF – fator de crescimento epidermal

ELISA – ensaio imunoenzimático

F – flúor

Fe - ferro

FGF – fator de crescimento de fibroblastos

Gly - glicina

GLA – proteína que contém ácido γ -carboxiglutâmico

GM-CSF – fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos

IgA – Imunoglobulina A

IgG – Imunoglobulina G

IGF-I, IGF- II – fator de crescimento semelhante à insulina

HCL – ácido clorídrico

HP DPP – fosfoproteína altamente fosforilada

H₂O₂ - água oxigenada

H₂SO₄ – ácido sulfúrico

IL – interleucina

INF - interferon

LT – linfócito T

M-CSF – fator estimulador de colônias de macrófagos

MMP – metaloproteinase

OC – osteocalcina

OPD – orto-fenilenodiamino

OPN – osteopontina
OPG – osteoprotegerina
OS – osteonectina
PBS – tampão fosfato salino
PBST – tampão de PBS
PDGF – fator de crescimento derivado de plaquetas
pH – potencial hidrogeniônico
PLGF – fator de crescimento placentário
PMSF - fluoreto de fenilmetanosulfonado
PNCs – proteínas não colagenosas
PP – fosfoproteína ou fosfoserina
PT – indivíduos analisados ~ 48 meses após término de tratamento ortodôntico
RANK – receptor ativador do fator nuclear Kappa b
RANK-L – ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa b
RGD – sequência específica de aminoácidos Arg-Gly-Asp
rpm – rotações por minuto
RRAE – reabsorção radicular apical externa
RT-PCR – reação de transcriptase reversa seguida da reação em cadeia polimerase
SDS – dodecil sulfato de sódio
SIBLINGs – glicoproteínas ligadas à pequenas integrinas
ST – Indivíduos que nunca foram submetidos a tratamento ortodôntico
TEMED – tetrametila tilendiamina
TGF – fator de crescimento transformador
TIMP1 – inibidores de metaloproteinases 1
TNF – fator de necrose tumoral
T0 – indivíduos analisados antes do tratamento ortodôntico
T12 – indivíduos durante 12 a 13 meses de tratamento ortodôntico
UORs – unidades osteorremodeladoras
v– volts
VEGF – fator de crescimento do endotélio vascular
Zn – zinco
°C – graus centígrados
~ - aproximadamente
 α – alfa

β – beta

kDa – quilodalton

mm – milímetro

M – molar

MM – massa molecular

mg – miligrama

mL – mililitro

N – normal

nm - nanômetro

μg – micrograma

μL – microlitro

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Classificação da severidade da RRAE	19
Figura 2 - Morfologia da crista alveolar	24
Figura 3 – Movimento dentário no tratamento ortodôntico	26
Figura 4 - Lacunas de reabsorção.....	28
Figura 5 – Instalação das UORs.....	29
Figura 6 - Sistema de interação RANK/RANKL.....	30
Figura 7 - Sistema de interação RANK/RANKL / OPG.....	30
Figura 8 - Localização da dentina durante a dentinogênese	31
Figura 9 - Odontoblastos, pré-dentina, dentina	33
Figura 10 – Perfil espectrofotométrico a 280 nm do extrato dentinário humano fracionado em coluna sephadex G-25.....	49
Figura 11 - Perfil espectrofotométrico a 280 nm da fração FII do extrato dentinário humano re-fracionada em coluna de sephadex G-100	50
Figura 12 – Nível de IgG salivar anti-fração FI em amostras de saliva de pacientes (T0) e (T12), por ELISA, em D.O. a 492 nm	51
Figura 13 – Nível de IgG salivar anti-fração FII-a em amostras de saliva de pacientes (T0) e (T12), por ELISA, em D.O. a 492 nm	52
Figura 14 – Nível de IgG salivar anti-fração FI em amostras de saliva de pacientes (ST) e (PT), por ELISA, em D.O. a 492 nm.....	53
Figura 15 – Nível de IgG salivar anti-fração FII-a em amostras de saliva de pacientes (ST) e (PT), por ELISA, em D.O. a 492 nm.....	54
Figura 16 – Resultado de análise das frações FI e FII-a do extrato dentinário humano por <i>Western blotting</i> utilizando pool de amostras de saliva de pacientes (T0, T12 e ST, PT)	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO RADICULAR.....	17
2.2 REABSORÇÃO DENTÁRIA E ORTODONTIA	18
2.3 REABSORÇÃO RADICULAR APICAL EXTERNA	18
2.3.1 Graus de Severidade.....	19
2.3.2 Epidemiologia.....	20
2.3.3 Fatores de risco.....	22
2.4 MOVIMENTO DENTÁRIO ORTODÔNTICO E RRAE	26
2.5 DENTINA E RRAE	31
2.5.1 Odontoblastos	32
2.5.2 Pré-dentina.....	32
2.5.3 Fatores de crescimento.....	33
2.5.4 Metaloproteinases	34
2.5.5 Proteínas Não Colagenosas da Dentina	34
2.5.6 Participação da Dentina nos Eventos Celulares e Moleculares da RRAE	38
2.6 ANTICORPOS ANTI-DENTINA E REABSORÇÃO DENTÁRIA	39
3 OBJETIVOS.....	42
3.1 OBJETIVO GERAL.....	42
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
4 MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO.....	43
4.2 CROMATOGRAFIA DE GEL FILTRAÇÃO EM COLUNA SEPHADEX G-25.....	43
4.3 CROMATOGRAFIA DE GEL FILTRAÇÃO EM COLUNA SEPHADEX G-100.....	44
4.4 GRUPO DE INDIVÍDUOS	44
4.5 ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA).	45
4.6 ELETROFORESE <i>SDS-PAGE</i>	46
4.7 <i>WESTERN BLOTTING</i>	47

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
6 RESULTADOS.....	49
6.1 CROMATOGRAFIA DE GEL FILTRAÇÃO DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO EM COLUNA SEPHADEX G-25	49
6.2 CROMATOGRAFIA DE GEL FILTRAÇÃO PARA REFRACIONAMENTO DA FRAÇÃO II DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO EM COLUNA SEPHADEX G-100	50
6.3 NÍVEL DE IgG SALIVAR ANTI- FRAÇÃO FI DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO, POR ELISA, EM PACIENTES ANTES DO TRATAMENTO (T0) E 12 MESES APÓS INÍCIO DO TRATAMENTO ORTODÔNTICO (T12)	51
6.4 NÍVEL DE IgG SALIVAR ANTI- FRAÇÃO FII-a DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO, POR ELISA, EM PACIENTES ANTES DO TRATAMENTO (T0) E 12 MESES APÓS INÍCIO DO TRATAMENTO ORTODÔNTICO (T12)	52
6.5 NÍVEL DE IgG SALIVAR ANTI-FRAÇÃO FI DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO, POR ELISA, EM PACIENTES SEM TRATAMENTO (ST) E COM APROXIMADAMENTE 48 MESES PÓS TÉRMINO DE TRATAMENTO ORTODÔNTICO (PT).....	53
6.6 NÍVEL DE IgG SALIVAR ANTI-FII-a DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO, POR ELISA, EM PACIENTES SEM TRATAMENTO (ST) E COM APROXIMADAMENTE 48 MESES PÓS TÉRMINO DE TRATAMENTO ORTODÔNTICO (PT)	54
6.7 <i>WESTERN BLOTTING</i> DAS FRAÇÕES FI E FII-a DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO	55
7 DISCUSSÃO	56
CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS.....	60

1 INTRODUÇÃO

Reabsorção radicular apical externa é um processo patológico de natureza inflamatória, que ocorre em consequência do movimento ortodôntico, causando um dano estrutural nas raízes dos dentes permanentes (FUSS; TSESIS; LIN, 2003). Embora o tratamento ortodôntico tenha como finalidade principal uma melhora estética e funcional da oclusão, o risco de reabsorção radicular apical externa em casos corretamente planejados corresponde ao custo biológico que deverá ser assumido pelo profissional, com a concordância do paciente (CONSOLARO; CONSOLARO, 2008).

Nas investigações dos possíveis mecanismos de indução e regulação do processo da reabsorção dentária humana, a imunogenicidade da dentina tem mostrado participação. A dentina contém vários polipeptídeos e moléculas sinalizadoras depositadas em sua matriz mineralizada (SILVA; ROSA; LARA, 2004) que, uma vez expostas ao sistema imunológico, poderão ser reconhecidas por anticorpos anti-dentina (KING; COURTS, 1988; 1989; NG; KING; COURTS, 1990; HIDALGO; ITANO; CONSOLARO, 2005; RAMOS, 2008). No presente trabalho foram observadas alterações dos níveis de IgG salivar anti-frações de dentina humana e realizada a caracterização das proteínas antigênicas. A análise de IgG salivar aos antígenos dentinários pode contribuir com o diagnóstico precoce da reabsorção dentária, bem como para uma melhor compreensão dos mecanismos imunopatológicos destes processos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A dentina, o osso alveolar e cemento são semelhantes em sua composição e mecanismos de formação. São constituídos por uma rica matriz orgânica extracelular, envolvida por cristais de hidroxiapatita (ROBEY, 1996; BUTLER, 1998), participando dos eventos celulares e moleculares nos processos reabsortivos dentários juntamente com o ligamento periodontal.

A reabsorção radicular dos dentes é um fenômeno biológico complexo, multifatorial e se caracteriza pela perda de cemento e dentina (RAMANATHAN; HOFMAN, 2006; PIZZO et al., 2007). Em humanos, a reabsorção radicular fisiológica ocorre durante a esfoliação da dentição decídua para dar lugar à permanente (TEN CATE, 2001; KATCHBURIAN; ARANA, 2004). Enquanto que na dentição permanente, terá sempre uma característica patológico-inflamatória em consequência de uma injúria física ou química na superfície interna ou externa da raiz (FUSS; TSESIS; LIN, 2003) deixando a superfície mineralizada desnuda e susceptível à ação dos clastos (GUNRAJ, 1999).

O primeiro relato sobre a reabsorção das estruturas dentárias foi feito por Michael Blum em 1530 e depois por Bates em 1856, sendo que durante muitos anos confundiu-se cárie radicular, reabsorção radicular externa e reabsorção radicular interna associada a infecções pulpares (HIDALGO, 2001).

Segundo Consolaro (2002) a reabsorção radicular patológica pode ser classificada de acordo com a superfície dentária afetada (interna, externa), fase de evolução do processo (ativa, paralisada e reparada), região dentária afetada (coronária, cervical e apical), comprometimento da raiz (simples e múltiplas), dimensão da causa do processo (local, sistêmica e idiopática), mecanismo de ocorrência do processo (inflamatória e por substituição), quanto à evolução clínica do processo (transitória ou progressiva), quanto a extensão (superficial, reparada, circunferencial).

Como agentes etiológicos da reabsorção radicular patológica, podemos citar: trauma dental (intrusão, luxação, avulsão), infecções periodontais, procedimentos periodontais, clareamento de dentes desvitalizados, dentes impactados, cistos e

tumores, anquilose, necrose pulpar seguida de injúria na predentina do canal pulpar, idiopática e tratamento ortodôntico (TROPE, 1997; FUSS; TESIS; LIN, 2003; CHOLIA; WILSON; MAKDISSI, 2005). Estes fatores etiológicos atuam como fatores locais que danificam a superfície radicular, com conseqüente exposição da dentina (CONSOLARO, 2002).

Embora muitos dos estudos sobre reabsorção radicular patológica presentes na literatura investiguem os fatores etiológicos que levam a este processo, os mecanismos de indução e regulação envolvidos ainda não são completamente conhecidos (SAMESHIMA; SINCLAIR, 2004).

2.1 MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO RADICULAR

Alguns fatores podem ser responsáveis pela inibição parcial ou total da reabsorção radicular permitindo a integridade e função do dente: ligamento periodontal, remanescentes epiteliais de Malassez e a estrutura anatomo-fisiológica formada pela camada de cementoblastos e pré-cimento e pela pré-dentina e odontoblastos que revestem, respectivamente as superfícies externa e interna da raiz (SOARES et al., 2002). Outro fator é a camada de cimento intermediário (TEN CATE, 2001). Sugere-se que no ligamento periodontal seja liberado algum fator de inibição de proteases que inibiria a reabsorção radicular quando os dentes são submetidos ao estresse funcional da mastigação (GUNRAJ, 1999). Supõe-se que os remanescentes epiteliais de Malassez teriam a função de manter a largura do ligamento periodontal, além de participar do reparo da superfície radicular (TEN CATE, 2001; SOARES et al., 2002). No entanto acredita-se que o principal fator responsável pela inibição da reabsorção seja o cinturão formado externamente pela camada de cementoblastos e pré-cimento e pela camada de pré-dentina e odontoblastos internamente (GOLD; HASSELGREN, 1992). As células deste cinturão parecem ser capazes de sintetizar algum fator de inibição da reabsorção mineral (SEGAL; SCHIFFMAN; TUNCAY, 2004). No entanto, o mecanismo de inibição mais aceito é o de que os clastos para se ativarem necessitam do contato

de seus receptores de membrana (integrinas) com moléculas específicas da matriz mineral (HORTON; HELFRICH, 1992). Assim, a camada de cementoblastos e de odontoblastos impediria este contato e a sinalização para a reabsorção mineral. E a camada de cemento intermediário por apresentar uma estrutura hipercalcificada parece formar uma barreira entre os túbulos dentinários e o ligamento periodontal (TEN CATE, 2001).

2.2 REABSORÇÃO DENTÁRIA E ORTODONTIA

A possível relação entre ortodontia e reabsorção radicular dos dentes permanentes foi observada, inicialmente, por Ottolengui em 1914 e comprovada radiograficamente por Ketcham em 1927, ao constatar que a reabsorção radicular apical poderia ser uma consequência iatrogênica e comum do tratamento ortodôntico, sendo que ocasionalmente poderia ser severa e, que o tipo de aparelho usado teria influência neste tipo de reabsorção.

A reabsorção radicular provocada pelo tratamento ortodôntico é também chamada de Reabsorção Radicular Apical Externa (RRAE) ou Reabsorção Radicular Inflamatória Induzida Ortodonticamente (BREZNIAKI; WASSERSTEIN, 2002; SEGAL; SCHIFFMAN; TUNCAY, 2004; KRISHNAN; DAVIDOVITCH, 2006).

2.3 REABSORÇÃO RADICULAR APICAL EXTERNA

A reabsorção radicular apical externa é uma patologia que se mantém pela inflamação local, instalada após trauma e lesão da superfície radicular do dente, durante o movimento ortodôntico (FUSS; TSESIS; LIN, 2003). A região geralmente mais acometida é a apical, porque durante o movimento há uma maior concentração de forças neste local (HARRIS, 2000), produzindo uma lesão que se inicia na superfície externa da raiz (GUNRAJ, 1999). A presença do

trauma na superfície radicular e a colonização da superfície mineralizada desnuda por células multinucleadas são os fatores desencadeantes deste processo (FUSS et al., 2003).

2.3.1 Graus de Severidade

Várias observações histológicas e radiográficas apresentadas na literatura têm confirmado que o tratamento ortodôntico se faz acompanhar de um encurtamento radicular o qual poderá ocorrer nos estágios iniciais do tratamento (BREZNIAKI; WASSERSTEIN, 1993; JANSON, 2000).

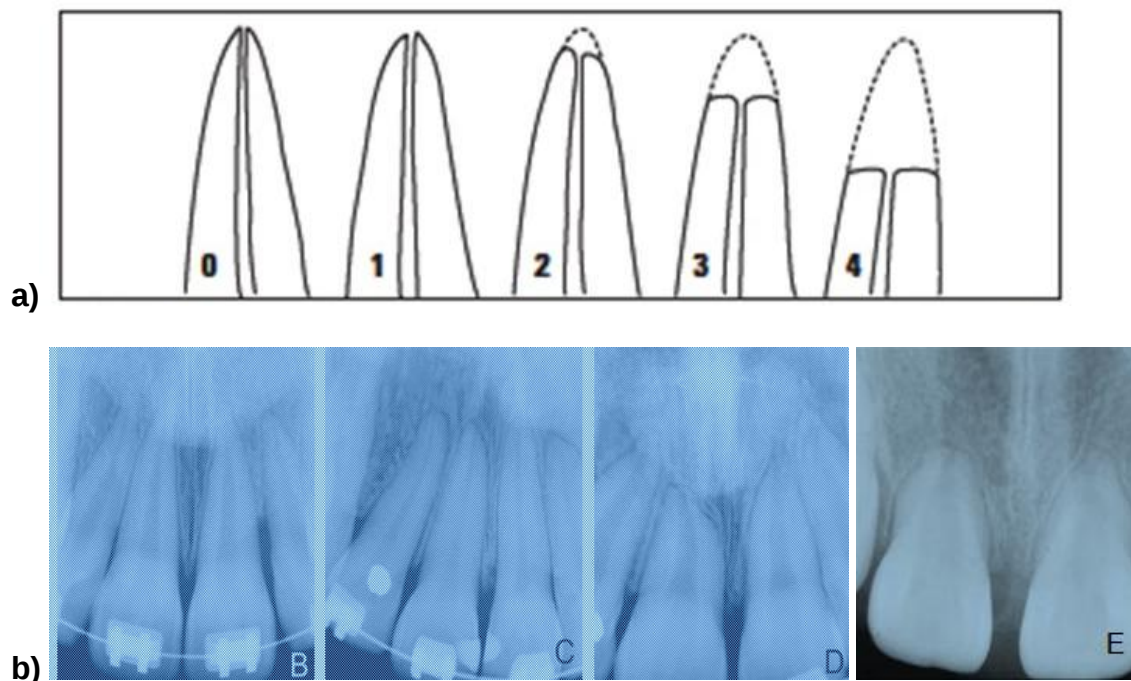


Figura 1. a) Classificação da severidade das RRAE (LEVANDER; MALMGREN,1988).
b) - Aspecto radiográfico das RRAE (SANTOS et al., 2007).
 0-B - Antes do tratamento ortodôntico sem sinais de reabsorção 1-C - Reabsorção mínima ou leve (Grau1)- contorno apical irregular. 2-C - Reabsorção moderada (Grau 2)- menor ou igual a 2mm. 3-D - Reabsorção severa (Grau-3) - maior que 2mm e menor que 1/3 da raiz. 4-E - Reabsorção extrema (Grau 4)-maior que 1/3 do comprimento da raiz.

Há diferentes graus de severidade de RRAE que são determinados pela extensão do tecido radicular perdido. Levander e Malmgren (1988) classificaram as RRAE em 4 graus (Figura 1-a) e na (Figura 1-b) – Aspecto radiográfico das RRAE.

Na maioria das vezes a reabsorção radicular apical externa é leve, assintomática, com preservação da vitalidade pulpar, não havendo alterações da coloração do dente a não ser, que uma grande área seja afetada (FUSS; TSESIS; LIN, 2003).

Através de investigações histológicas em ratos observou-se que a RRAE pode se iniciar com 14 a 20 dias depois que a força ortodôntica é aplicada (ENGSTROM, C.; GRANSTROM, G.; THILANDER, B., 1988). A reabsorção radicular apical externa quando progressiva, pode causar danos adversos como comprometimento da função, da estabilidade e chegar a perda dentária (CAMBI et al., 2002; SILVA FILHO et al., 1993).

2.3.2 Epidemiologia

Entre os pesquisadores, há uma grande variação na prevalência da RRAE que pode estar relacionada com a diferença entre os critérios utilizados para a sua identificação (HARRIS, 2000).

Os incisivos superiores são os dentes escolhidos para se mensurar a incidência, prevalência e o grau da reabsorção radicular apical externa pelo tratamento ortodôntico porque são os dentes mais acometidos neste processo (LEVANDER; MALMGREN, 2000). Sendo assim, estudos aleatórios da medida do comprimento dos incisivos superiores e as radiografias periapicais padronizadas, são os métodos mais utilizados para se avaliar a ocorrência desta patologia. Isto se deve à relação custo-benefício do método, em detrimento às radiografias em norma lateral ou mesmo às panorâmicas, que apresentam um resultado e uma confiabilidade inferiores (SILVA FILHO et al., 2005).

Imagens digitais têm maiores vantagens quando comparada as radiografias convencionais por serem de melhor qualidade, reduzirem a radiação em aproximadamente 70%, não necessitarem da utilização de produtos químicos e por

apresentarem opções de contraste nas imagens dos tecidos anatômicos e patológicos (PAREDES; GANDIA; CIBRIAN, 2006).

As tomografias computadorizadas Cone Beam, apresentam resultados mais fidedignos do que as radiografias periapicais, com alta resolução e possibilidade de reconstrução de imagens em múltiplos planos. Este método tem mostrado precisão para investigar encurtamento radicular e alterações ósseas durante o tratamento ortodôntico, porém, não é utilizado como rotina devido ao seu alto custo, além de expor o paciente a um maior nível de radiação (ESTRELA et al., 2009; HENRIK; KERSTIN; HANS-GORAN, 2010).

Segundo Brezniaki; Wasserstein (1993), a média da reabsorção radicular apical externa dos incisivos centrais e laterais após tratamento ortodôntico é menor que 1,5mm variando de 0,5 a 3mm durante o tratamento, sendo que na maioria dos casos ela é leve e assintomática. Mirabella e Artun (1995) encontraram uma frequência de RRAE severa de 5% a 18%. Killiany (1999), relatou que reabsorções radiculares maiores que 3mm ocorreram numa frequência 30% e que 5% dos indivíduos tratados tiveram RRAE maiores que 5mm. Sameshima e Sinclair (2001) encontraram RRAE ≥ 2 mm em 25% dos casos. Segundo Consolaro (2002) cerca de 10% das reabsorções radiculares em Ortodontia são severas. Brin et al. (2003), relataram que 99% dos casos tratados apresentaram RRAE.

As reabsorções mais acentuadas foram observadas no incisivo lateral superior (SAMESHIMA; SINCLAIR, 2001) seguidos pelos incisivos centrais superiores, incisivos inferiores, raiz distal dos primeiros molares inferiores, segundo pré molares inferiores, segundo pré molares superiores, molares superiores e inferiores (SILVA FILHO et al., 1993).

Há considerável variação na quantidade de reabsorção radicular entre pacientes tratados ortodonticamente mesmo quando a idade, sexo, natureza da maloclusão e tipo de tratamento são constantes. Estas variações poderão ser devidas a diferenças intrínsecas individuais (HARRIS, 2000). Quando a reabsorção radicular é evidente antes do tratamento é um indicativo de uma susceptibilidade aumentada de reabsorção radicular moderada para severa durante o tratamento (HARTSFIELD; EVERETT; AL-QAWASMI, 2004). Pacientes ortodônticos com reabsorção radicular detectável durante os primeiros 6 meses de tratamento ativo apresentam maior grau de reabsorção nos 6 meses seguintes de tratamento e que

este risco de reabsorção radicular pode ser identificado de acordo com a quantidade de reabsorção durante os estágios iniciais de tratamento (ARTUN et al., 2005; 2009).

2.3.3 Fatores de Risco

A progressão e severidade das RRAE podem ser afetadas por fatores de risco individuais, sistêmicos, locais e relacionados à biomecânica utilizada no tratamento ortodôntico (OWMAN-MOLL; KUROL, 2000).

A - FATORES INDIVIDUAIS

Alguns pesquisadores consideram que a susceptibilidade individual à reabsorção radicular é o maior fator determinante do grau de severidade da RRAE com ou sem tratamento ortodôntico (HARTSFIELD; EVERETT; AL-QAWASMI, 2004; SEGAL; SCHIFFMAN; TUNCAY, 2004).

Os fatores genéticos podem ser responsáveis por variações de reabsorção radiculares associadas ao tratamento ortodôntico. A IL- 1 β é um potente estimulador de reabsorção óssea através do recrutamento de células osteoclásticas durante o movimento ortodôntico, sendo que recentemente foi identificado um polimorfismo entre o gene da IL-1 β localizado no alelo 1 em indivíduos homozigotos, estando associado a 15% das variações de RRAE nos incisivos superiores (AL-QAWASMI et al., 2003; HARTSFIELD; EVERETT; AL-QAWASMI, 2004). Outro gene candidato para RRAE é o gene TNFRSF11A, que codifica a proteína RANK (receptor ativador do fator nuclear kappa-b) principal molécula estimuladora da osteoclastogênese (AL-QAWASMI et al., 2003; 2006).

O estudo profundo da susceptibilidade e resistência da reabsorção dentária em modelos experimentais com camundongos são necessários para se entender os caminhos moleculares e genéticos envolvidos na patogênese da RRAE. No entanto,

os defeitos genéticos encontrados não caracterizam por si só uma relação de hereditariedade na reabsorção dentária (CONSOLARO; CONSOLARO, 2009).

B - FATORES SISTÊMICOS

Macnab (1999) observou que fatores sistêmicos como, os mediadores inflamatórios produzidos durante a asma, são capazes de alcançar o ligamento periodontal e atuar sinergicamente, favorecendo o aumento da reabsorção radicular. Observou-se que pacientes asmáticos têm reabsorção radicular estatisticamente mais significativa do que pacientes não-asmáticos embora os dois grupos exibissem reabsorção grau-2 e grau-3. Nishioka et al. (2006) observaram um grupo de 60 indivíduos japoneses que foram submetidos a tratamento ortodôntico (18 homens e 42 mulheres) idade 17.7 ± 5.7 e, 60 indivíduos japoneses para controle (18 homens e 42 mulheres) idade 16.4 ± 6.0 . A prevalência de RRAE de moderada para severa foi de 10.3 %. Eles confirmaram que a asma, alergia e a morfologia radicular podem ser considerados fatores de risco para o desenvolvimento da RRAE severa em japoneses submetidos a tratamento ortodôntico.

Devido à íntima relação entre movimento dentário e a reabsorção radicular é possível que os fatores nutricionais, doenças ósseas, fatores hormonais, metabólicas, idade e drogas que afetam o movimento dentário também possam afetar a reabsorção radicular (TYROVOLA; SPYROPOULOS, 2001).

C- FATORES LOCAIS

Trauma dental - relacionado especialmente com avulsão, intrusão e luxação. Não se contra-indica a movimentação dentária destes dentes desde que se faça um bom planejamento e controle. Nos traumatismos leves e moderados deve-se observar por 3 a 4 meses, nos traumatismos severos (avulsão, luxação) observar

por 1 ano antes do dente ser submetido ao tratamento ortodôntico e nas fraturas radiculares observar por 2 anos (CONSOLARO, 2002). Se os dentes traumatizados exibirem reabsorção radicular prévia, maior é a chance de aumento de seu agravamento durante o tratamento ortodôntico (BRIN et al., 2003).

Forma da raiz - indivíduos que apresentam raízes curtas, de formato triangular ou raízes com curvatura tendem a concentrar mais forças em menor área apical, apresentando uma propensão maior à reabsorção radicular (MIRABELLA; ARTUN, 1995; LEVANDER; MALMGREN, 2000). A morfologia da raiz dentária representa o principal fator de previsibilidade na ocorrência das reabsorções radiculares (CONSOLARO, 2002).

Crista alveolar – A variação na morfologia da crista alveolar está demonstrada na (Figura 2), onde a forma triangular é a mais favorável porque tende a absorver parte das forças aplicadas sobre o dente e ao mesmo tempo propiciam maior movimentação dentária na fase final ou passiva do movimento dentário. Se as cristas apresentarem forma retangular as forças se concentrarão mais especificamente e com maior intensidade nos tecidos periodontais, aumentando as chances de lesões na camada cementoblástica e reabsorção radicular apical. A forma rombóide absorve parte da força aplicada sobre o dente, porém, não é igual a que ocorre na deflexão triangular (CONSOLARO, 2002).

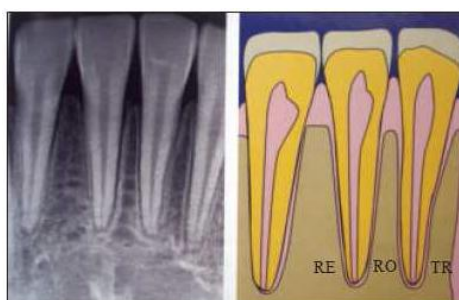


Figura 2. Morfologia da crista alveolar: triangular (TR), rombóide (RO), retangular (RE) Consolaro (2002).

Hábitos bucais - onicofagia e pressão atípica da língua associado à mordida aberta são agravantes na quantidade de reabsorção radicular porque irão refletir na força final aplicada sobre o dente a ser movimentado (CONSOLARO, 2002).

D- FATORES RELACIONADOS À BIOMECÂNICA UTILIZADA NO TRATAMENTO ORTODÔNTICO

Magnitude da força - Quanto maior a força maior o estresse no ligamento periodontal, mais rápido o desenvolvimento das lacunas de reabsorção (CASA et al., 2001). Também é importante a distribuição desta força ao longo da raiz dentária e na estrutura óssea vizinha. No ligamento periodontal a distribuição da força sofre influência do tipo do movimento dentário, da morfologia da crista óssea e da morfologia da raiz dentária (CHAN; DARENDELILER, 2005).

Direção da aplicação da força e tipo de movimento ortodôntico - Grandes danos são observados em movimentos intrusivos por concentrarem a pressão diretamente no ápice e também nos casos de inclinação descontrolada (FALTIN et al., 2001).

Nos incisivos centrais superiores, os movimentos de torque lingual são fortemente correlacionados com RRAE e, a combinação dos movimentos intrusivos com torque lingual da raiz são as maiores causas de reabsorções radiculares nestes dentes (PARKER; HARRIS, 1998).

Nos movimentos de corpo, embora o estresse produzido pela força seja distribuído ao longo da raiz, quanto maior a extensão do movimento de translação necessário para o tratamento, maior o risco de reabsorção radicular (SEGAL; SCHIFFMAN; TUNCAY, 2004; FOX, 2005). A presença de maloclusão severa requer maior quantidade de movimento dentário para o seu tratamento. Portanto, as maloclusões severas representam risco para a RRAE (HARTSFIELD; EVERETT; AL-QAWASMI, 2004).

Forma de aplicação da força - forças intermitentes resultam em menor reabsorção radicular do que forças contínuas porque permitem uma pausa para reparação do cemento (FALTIN et al., 2001; KAMEYAMA et al., 2003).

Duração do tratamento - tratamentos prolongados podem resultar em uma maior incidência de reabsorção radicular (FOX, 2005; SEGAL; SCHIFFMAN; TUNCAY, 2004). A duração do tratamento também está relacionada à severidade da RRAE quanto ao número, extensão e profundidade das lacunas de reabsorção e dentina afetada (CASA et al., 2001; SAMESHIMA; SINCLAIR, 2004). O retratamento ortodôntico implica em lesão da camada cementoblástica com maior frequência e severidade porque esta região já se apresenta fragilizada pelo tratamento anterior (CONSOLARO, 2002).

2.4 MOVIMENTO DENTÁRIO ORTODÔNTICO E RRAE

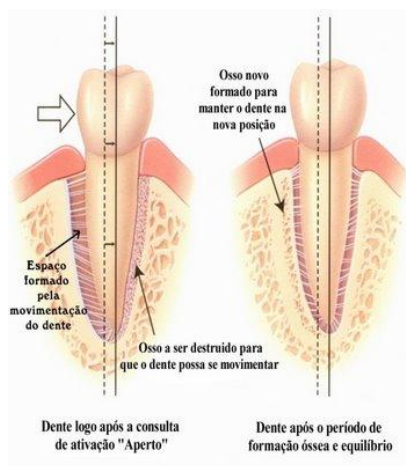


Figura 3. Movimento Dentário no Tratamento Ortodôntico.

O movimento dentário no tratamento ortodôntico é induzido por forças mecânicas com a participação do periodonto. O periodonto de proteção é representado pela gengiva e o periodonto de sustentação pelo cemento, ligamento periodontal e osso alveolar (LINDHE, 1999). O ligamento periodontal é constituído

principalmente por fibras colágenas e oxitalânicas, além de células, vasos sanguíneos e inervação. A função do colágeno é resistir ao estresse de tensão, enquanto as proteoglicanas da matriz extracelular resistem às forças de pressão durante o esforço mastigatório. As fibras oxitalânicas são fibras elásticas encontradas obliquamente entre as paredes dos vasos sanguíneos no ligamento periodontal dando suporte aos mesmos (TALIC et al., 2003).

A ação de uma determinada força aplicada sobre a raiz do dente, pelo aparelho ortodôntico, provoca áreas de compressão e de tensão nas fibras do ligamento periodontal como mostra a (Figura 3). No lado com pressão ocorre estresse metabólico das células do ligamento periodontal causado pela compressão dos vasos sanguíneos. Os locais de hipóxia e necrose isquêmica formam áreas de tecido degenerado chamadas de zona hialina (GAENGLER; MERTE, 1983; (BREZNIAK; WASSERSTEIN, 2002). A presença de células degeneradas e necrosadas na zona hialina ativa a fagocitose por macrófagos para que haja nova migração celular e reconstituição do tecido lesado. A liberação de citocinas e mediadores pró-inflamatórios tais como prostaglandinas e leucotrienos provocam a ativação de osteoblastos, clastos e macrófagos para o local com conseqüente reabsorção do osso alveolar (CONSOLARO, 2005). A atividade das células fagocíticas e de células multinucleadas continua até que não haja mais tecido hialino presente no local e ou, quando o nível da força decresce. Durante a remoção do tecido necrótico que está próximo da superfície radicular, pode ocorrer dano no cimento radicular incluindo cementoblastos e pré-cimento (BREZNIAK; WASSERSTEIN, 2002). Quando a força ortodôntica é aplicada sobre o dente por um curto período de tempo, poderá produzir lacunas de reabsorção (Figura 4), na ausência de RRAE e não visíveis radiograficamente (KVAM, 1972). Neste caso a reabsorção radicular é transitória e o reparo com cimento secundário ocorrerá dentro de 2 a 3 semanas se for uma superfície com pequena área de reabsorção (FUSS; TSEIS; LIN, 2003).

As principais citocinas produzidas durante o movimento ortodôntico são Interleucina-1 (IL-1), Interleucina-2 (IL-2), Interleucina-6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) e prostaglandinas especialmente E2. A presença de exsudato e mediadores pró-inflamatórios com pH ácido também favorecem a migração, diferenciação e ativação dos clastos. Os clastos juntamente com os osteoblastos e

macrófagos formam as unidades osteorremodeladoras responsáveis pela reabsorção do tecido mineralizado (Figura 5). As UORs iniciam a reabsorção óssea após 12 horas e são numerosas após 3 a 4 dias (CONSOLARO, 2005). Interagindo com as UORs haverá fatores regulatórios locais, células inflamatórias e fatores sistêmicos principalmente paratormônio (PTH) e os hormônios esteróides sexuais (FUSS; TSESIS; LIN, 2003; SOARES et al., 2002).

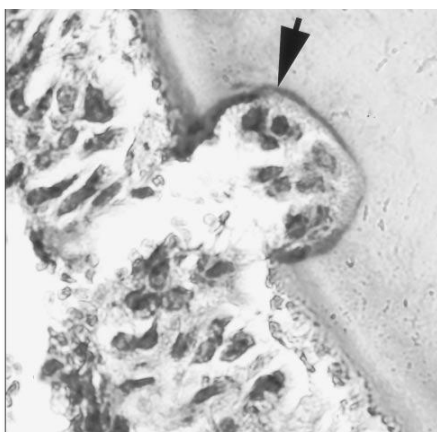


Figura 4. Lacunas de reabsorção – Secção histológica em da raiz do 1º Molar superior após 9 dias de força ortodôntica de 25g (HARTSFIELD; EVERETT; AL-QAWASMI, 2004).

Na presença de força ortodôntica leve no lado da tensão ocorrerá distensão do ligamento periodontal com aposição óssea. E assim como consequência da inflamação e da remodelação óssea induzida pelo tratamento ortodôntico ocorrerá o movimento dentário para a nova posição (REITAN, 1974).

Acredita-se que no tratamento ortodôntico a reabsorção óssea seja promovida pelo estresse mecânico e pela inflamação como uma forma de adaptação do organismo aliviando a força sobre o ligamento periodontal (SANTAMARIA JR, M., 2009).

Se as forças forem excessivas, poderão ser visualizadas áreas de reabsorção óssea e até dentária mesmo do lado da tensão porque nestas condições são rompidas as fibras do ligamento periodontal e o aumento excessivo de mediadores químicos e pró-inflamatórios são semelhantes a aqueles da área de pressão. A quantidade de mediadores locais na remodelação óssea dependerá da

intensidade da força no ligamento periodontal e também da anatomia óssea e alveolar (CONSOLARO, 2007; MORNDAL, 1987). Com o aumento da força aplicada e de sua duração haverá lesão dos cementoblastos, pré-cemento e cemento com a exposição da dentina (CASA et al., 2001). Esta superfície desnuda será então colonizada por células multinucleadas que assumem morfologia e função odontoclástica e passam a reabsorver o cemento e as áreas de dentina exposta levando a uma reabsorção inflamatória progressiva (BREZNIKI; WASSERSTEIN, 2002; CONSOLARO; MARTINS-ORTIZ, 2004).

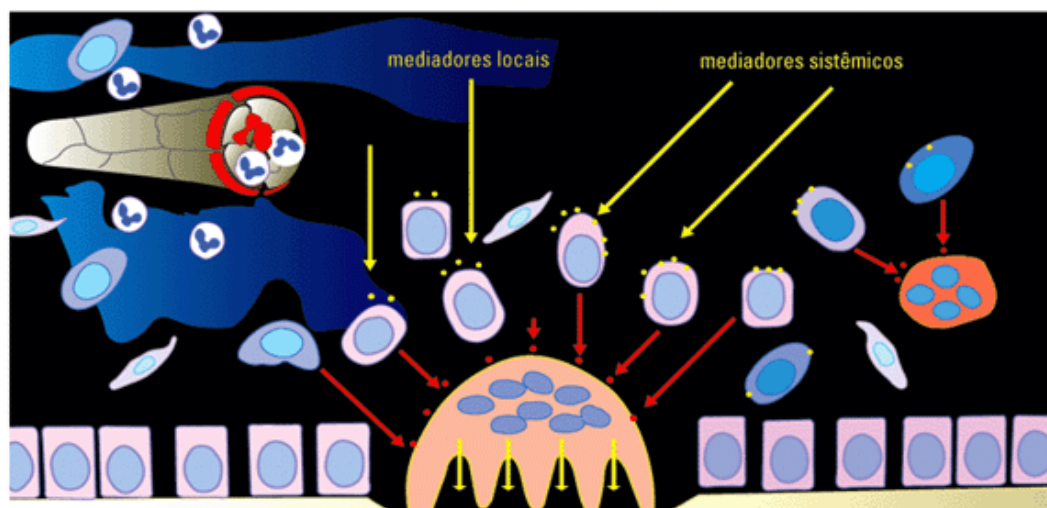


Figura 5. Instalação das UORs. Esta unidade é composta por clastos interagindo com mediadores liberados localmente pelos osteoblastos e macrófagos. Um microambiente é estabelecido a partir da firme adesão dos clastos. O início do processo reabsorptivo levará a formação das lacunas de Howship (socavações superficiais e múltiplas na superfície óssea) (CONSOLARO, 2002).

Como fatores locais regulatórios, ativadores da RRAE podem ser citados: baixa tensão de O_2 , a acidez do meio, citocinas inflamatórias derivadas dos blastos, tais como fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF) e de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), interleucinas (IL-1 e IL-6), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), prostaglandinas (PGE), osteopontina e proteases (SIQUEIRA JUNIOR; DANTAS, 2000; LOW et al., 2005). Dentre os mediadores locais inibitórios dos processos reabsorptivos tem-se TGF- α , interferon-gama (INF- γ), interleucinas IL-4, IL-10 e IL-13, receptor antagonista da IL-1 (IL-1ra) e concentrações locais de óxido nítrico (SIQUEIRA JUNIOR; DANTAS, 2000).

A via RANK / RANKL / OPG, parece ser a principal responsável pela regulação da diferenciação osteoclástica, embora se saiba que a ativação dos osteoclastos não depende apenas da estimulação RANK. O receptor RANK é encontrado na superfície celular de células progenitoras de osteoclastos. O RANKL induz a diferenciação destas células, enquanto que a OPG inibe, ao impedir o RANKL de se ligar ao RANK (Figuras 6 e 7).

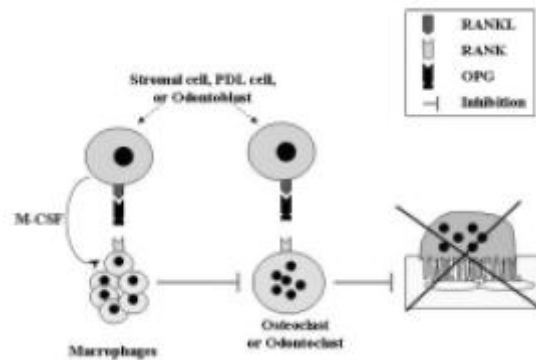


Figura 6. Sistema de interação RANK/RANKL- para diferenciação e ativação de osteoclastos e ou odontoclasto (HAROKOPAKIS-HAJISHENGALLIS, 2007).

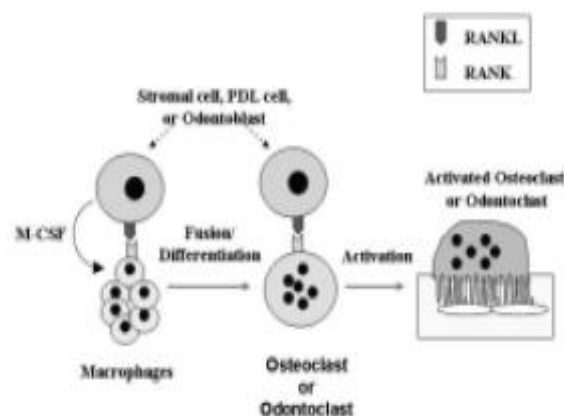


Figura 7. Sistema de interação RANK/RANKL/ OPG. OPG media inibição da diferenciação e ativação de osteoclasto e ou odontoclasto (HAROKOPAKIS-HAJSHENGALLIS, 2007).

2.5 DENTINA E RRAE

A dentina é formada de tecido conjuntivo mineralizado, é o tecido mais abundante do dente. Durante a dentinogênese a dentina coronária (Figura 8-A) é revestida externamente pelo esmalte, epitélio reduzido do esmalte, retículo estrelado, estrato intermediário e ameloblastos e, a dentina radicular está revestida externamente pela bainha epitelial de Hertwig, cemento intermediário e depois da fragmentação da bainha por cementoblastos e cemento (Figura 8-B).

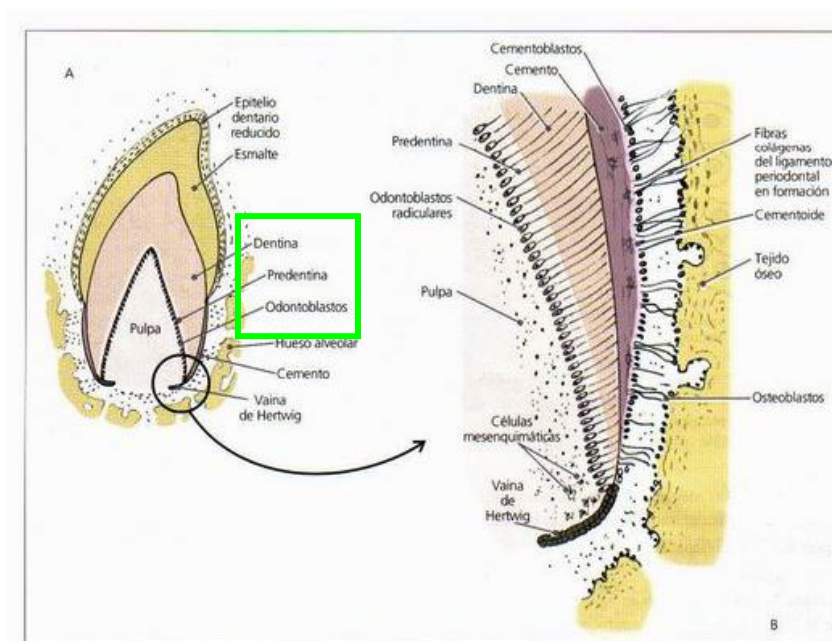


Figura 8. Localização da dentina durante a dentinogênese **A-** Dentina coronária **B-** Dentina radicular (GOMEZ FERRARI; MUÑOZ, 2004).

A dentina é constituída de aproximadamente 65% de matéria inorgânica por peso, sendo a maioria na forma de hidroxiapatita, além de pequenas quantidades de fosfatos, carbonatos e sulfatos, além de elementos como F, Cu, Zn, Fe, 20% de matéria orgânica (~85% de fibras colágenas, principalmente de colágeno tipo I, e em menor quantidade colágeno tipo III, IV e V dispostas em pequenos feixes ao redor e entre os prolongamentos odontoblásticos), 13% de água e 2% de citrato, lactato, lipídios, proteínas não colagenosas, proteínas do soro, SOD3, fatores de crescimento, citocinas, metaloproteínas, entre outros (HIDALGO, 2001; GARANT, 2003; PARK et al., 2009). Park et al. (2009), ao analisarem o proteoma da dentina

humana através de espectrometria de massa, identificaram 233 proteínas além da presença de colágeno tipo XI e XII.

Implantes de blocos, pedaços ou pó de dentina desmineralizada têm sido utilizado em defeitos ósseos em humanos e animais, evidenciando que a dentina induz formação óssea (BANG; URIST, 1967).

2.5.1 Odontoblastos

Os odontoblastos são células especializadas da dentina e estão localizados na periferia da polpa (Figura 9). São responsáveis pela formação da predentina e pela síntese e secreção do colágeno e das proteínas não colagenosas da matriz dentinária. Os odontoblastos são semelhantes aos osteoblastos na formação de suas matrizes e ambos expressam genes marcadores de osteoblastos como fosfatase alcalina, sialoproteína óssea, osteopontina e osteocalcina (PARK et al., 2009).

2.5.2 Pré-dentina

A pré-dentina é a camada de matriz não mineralizada de 25 a 30µm de espessura, situada entre a camada de odontoblastos e a dentina mineralizada, está presente durante a fase de formação da dentina e permanece ao longo da vida do dente, depositando-se de forma lenta e contínua (Figura 9).

Estudos bioquímicos e imunohistoquímicos indicam que há diferenças específicas na composição das proteoglicanas na dentina e pré-dentina (SEPTIER, et al., 1998; STEINFORT et al., 1994). Fibronectina tem sido achada em associação com fibrilas de colágeno na pré-dentina além de inibidores de metaloproteinases 1 (TIMP1) que também foram encontrados em altas concentrações na pré-dentina (ISHIGURO et al., 1994).

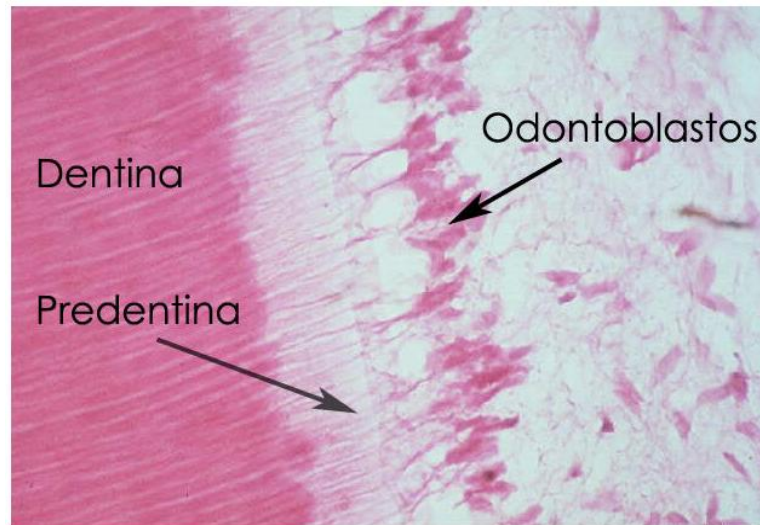


Figura 9. Odontoblastos, pré-dentina, dentina - corte histológico.

2.5.3 Fatores de Crescimento

Assim como o osso a matriz da dentina apresenta um estoque de fatores de crescimento como Fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-I) e (IGF-II), Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), Fator de crescimento epidermal (EGF), Fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), Fator de crescimento de placenta (PLGF), Fator de crescimento de fibroblastos (FGF), Metaloproteinases (MMP) e Fator de crescimento transformador- β (TGF- β). Os odontoblastos expressam altos níveis de TGF- β 1 que se liga à fibronectina e decorina inibindo a proliferação celular e estimulando a diferenciação dos odontoblastos (SMITH; LESOT, 2001).

É possível que vários fatores de crescimento e seus receptores, expressos no dente, possam ser liberados pelos tecidos dentais maduros e tecidos periodontais sob condições normais e patológicas (IVANOVSKI; HAASE; BARTOLD, 2001; PARKAR et al., 2001).

2.5.4 Metaloproteinases

São enzimas zinco dependentes capazes de clivar e desnaturar fibras de colágeno. Incorporadas na matriz orgânica da dentina podem estar envolvidas na remodelação tecidual sob condições fisiológicas e patológicas. Têm sido implicadas na degradação radicular durante o movimento dental e reabsorção fisiológica dos dentes decíduos. Estas enzimas são capazes de clivar virtualmente todos os componentes da matriz extracelular e podem regular a disponibilidade de moléculas sinalizadoras da dentina e tecidos periodontais (EJEIL et al., 2003). Os odontoblastos maduros secretam MMP-2, MMP-9 e MMP-8 *in vitro* (POLASAARI et al., 2000). Park et al. (2009) em seus estudos detectaram MMP-20 que podem ser sintetizadas por odontoblastos e secretadas dentro da pré-dentina ou dentina para degradar a amelogenina que é a maior proteína da matriz do esmalte. A atividade das metaloproteinases podem ser controladas por inibidores teciduais (EJEIL et al., 2003).

2.5.5 Proteínas Não-colagenosas da Dentina

As PNCs correspondem a 5 a 10% da matriz extracelular, estão associadas com a fase mineral e para a extração destas proteínas o tecido deverá ser desmineralizado. Muitas são proteínas ácidas, ricas em ác. glutâmico, ác. aspártico, serina fosforilada, resíduos de treonina, com alta capacidade para se ligar a íons cálcio e cristais de hidroxiapatita. Essas proteínas têm sido implicadas na regulação da deposição mineral durante a osteogênese e dentinogênese (HIDALGO, 2001; YAMAKOSHI, 2008). A fosforilação da treonina e resíduos de serina dão lugar a modificação pós-translacional via ação de caseína-quinases. A mineralização da dentina foi prejudicada na presença de inibidores de caseína-quinases, portanto a fosforilação das PNCs é crucial para a biomineralização. Segundo Silva, Rosa e Lara (2004) torna-se relevante investigar o potencial de atividade das PNCs no contexto dos processos patológicos que afetam os dentes e os tecidos periodontais.

BMP - A proteína osteomorfogenética apresenta MM de 18,5 kDa em osso humano e 23-25 kDa em dentina, com capacidade de osteoindução sendo considerada fator de crescimento (MIZUTANI et al., 1996). São solúveis, agem localmente como moléculas sinalizadoras que se ligam a receptores específicos na superfície da célula. Estes receptores ativam mecanismos de sinais de transdução permitindo a indução de genes (SILVA; ROSA; LARA, 2004).

OS - A osteonectina é sintetizada por osteoblastos e odontoblastos. É uma glicoproteína óssea que se liga ao cálcio. Apresenta MM de 43 kDa em camundongos (HOLLAND, 1987).

OC - A osteocalcina é uma proteína que contém ácido γ -carboxiglutâmico (GLA), o que lhe confere alta afinidade com minerais. É insolúvel, encontrada na dentina, osso e em outros tecidos (BUTLER, 1992). Pode atuar como agente quimiotático para precursores de osteoclastos. Apresenta MM de 5 kDa em ratos (BUTLER; RITCHIE, 1995).

SIBLING – São uma família de glicoproteínas ligadas a pequenas integrinas formadas por sialoproteína dentinária (DSP), proteína da matriz dentinária 1 (DMP1), sialoproteína óssea (BSP), osteopontina (OPN) e matriz extracelular glicofosfoproteína (FISHER et al., 2001). Estas proteínas têm características comuns como presença de fosforilação, glicosilação e sequência de ligação celular com aminoácidos Arg-Gly-Asp (RGD), bem como semelhanças na organização genômica e localização. Porém as únicas que apresentam semelhança no processo proteolítico e localização tecidual são DSP e DMP 1 (QIN et al., 2005). Podem ser consideradas moduladoras porque podem interferir com a via alternativa do complemento (JAIN et al., 2002).

DMP-1- É uma fosfoproteína ácida localizada nos odontoblastos maduros, cementoblastos e osteoblastos. Sua importância tem sido demonstrada na mineralização da dentina, cimento e osso (GEORGE et al., 1993; GEORGE; SILBERSTEIN; VEIS, 1995). A DMP1 está presente na matriz extracelular do osso e dentina com um fragmento de 37 kDa, 57 kDa e de uma proteoglicana conhecida

como DMP 1-PG. Estas 3 formas podem ter funções diferentes na dentinogênese e osteogênese (QIN et al., 2003; 2006).

BSP – A sialoproteína óssea é expressa no osso, mineralizando cartilagem, cemento e dentina. Apresenta 23 kDa em ratos. Alguns trabalhos sugerem que a BSP atua na formação da nucleação inicial dos cristais de apatita (HUNTER; GOLDBERG, 1993). Evidências *in vitro* sugerem que BSP expressa sinais de maturação para osteoblastos (GORDON et al., 2007).

OPN – A osteopontina pode estar na forma de molécula imóvel nos tecidos e como citocina no fluido corporal (DENHARDT; NODA, 1998). A osteopontina imóvel é expressa no osso, cemento, predentina e dentina terciária e também em tecidos e células não mineralizados. Está em grande quantidade no osso e em pequena quantidade na dentina. Apresenta 44 kDa em ratos. Pode facilitar a adesão de osteoclastos na superfície óssea e pode ser um sinal pós-reabsortivo para recrutamento de osteoblastos. Alguns estudos *in vitro* têm mostrado que a OPN é um efetivo inibidor da formação de apatita podendo ser o maior fator inibitório da mineralização por um aumento da ação dos osteoclastos (BOSKEY et al., 2002; RAZZOUK; BRUNN; QIN, 2002).

DSPP - A sialofosfoproteína dentinária é a proteína não colagenosa mais abundante na dentina mas não é uma proteína específica do dente como se pensava anteriormente. Xiao et al. (2001) foram os primeiros que mostraram a expressão do gene *dspp* fora dos tecidos dentais, no ouvido e maxilares. Qin et al. (2002), evidenciaram a expressão do gene *dspp* também no osso utilizando-se de técnicas de *Western Blotting* e *RT-PCR*. Diferentes mecanismos que governam a expressão de DSPP estão envolvidos no osso e dentina. DSPP é uma proteína precursora de multidomínio com centenas de modificações pós translacional, é expressa pelo gene 4q21 transcrito por um único RNA mensageiro e sua mutação genética causa malformação dental hereditária como dentinogênese imperfeita tipo II e III e displasia dentinária tipo II (MAC DOUGALL et al., 1997; YAMAKOSHI, 2008). Mutação da porção DSP5 do gene *dspp* está associada com dentinogênese imperfeita (XIAO et al., 2001). Na dentina a DSPP é expressa e secretada por

odontoblastos e clivada por proteases extracelulares em 3 partes em : Sialoproteína dentinária (DSP), Fosfoproteína dentinária (DPP) identificadas independentemente na matriz extracelular da dentina (BUTLER et al., 1992) e recentemente foi identificada em suíno a DGP uma glicoproteína dentinária fosforilada (YAMAKOSHI, 2008).

DPP - A fosfoproteína dentinária é a PNC mais abundante da dentina, ao redor de 50%. Compõe-se de 35% de ácido aspártico e 45 a 50% de fosfoserina. É uma proteína altamente fosforilada que mostra extenso polimorfismo devido a heterogenicidade genética na região do códon (YAMAKOSHI, 2008). A fosfoserina fosforilada parece ser a molécula regulatória chave, porém não a única, na deposição mineral fisiológica (HE et al., 2005). Masters (1983) descreveu a dificuldade de se isolar as DPPs em humanos devido a degradação observada durante a técnica preparatória. Apresenta MM de 140 kDa em humanos. Em gel de poliacrilamida 5-15% apresentou uma banda de aproximadamente 70 kDa (TAKAGE; VEIS, 1984). Butler (1992) descreveu a DPP humana como sendo de 90 kDa e que só a fosfoproteína altamente fosforilada (HP DPP), havia sido detectada. Acredita-se a DPP tenha função importante para nucleação e modulação da formação de cristais de hidroxiapatita (BUTLER, 1998). Mc Curdy, Carkson e Feagin (1992) relataram que as fosfoproteínas isoladas apresentavam 150 ou 96 kDa em corrida de eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS 7,5% ou 12%. Chang et al. (1996) identificaram DPP humana em eletroforese de gel de poliacrilamida 7,5% com SDS e encontraram bandas de 140, 60, 50 e 34 kDa. Clarkson, Chang e Holland (1998), extraíram DPP humana que apresentou massa molecular de 140 kDa em *SDS-PAGE* 7,5% e em extrações seqüenciais observaram que a MM variava provavelmente em decorrência da degradação.

DSP - A sialoproteína dentinária é uma glicoproteína com 29,6% de carboidrato incluindo 9% de ácido siálico que forma dímeros covalentes (BUTLER, 1992; YAMAKOSHI, 2008). Corresponde a 5-8% do peso das PNCs de rato e possui MM de 53 kDa. É rica em serina, glicina e ácidos siálico, aspártico e glutâmico. A natureza da DSP do osso e dentina é muito similar, porém, apresentam diferenças significativas na sua quantidade numa equivalência de 1/400 em relação à dentina e

é expressa precocemente nos dentes em desenvolvimento. Entre as PNCs isoladas da dentina e do tecido ósseo a maior diferença encontrada foram os baixos níveis de sialoproteína e fosfoproteína dentinária no osso e a baixa quantidade de osteopontina na dentina (QIN et al., 2002).

2.5.6 Participação da Dentina nos Eventos Celulares e Moleculares da EARR

A exposição da dentina *in vivo* é geralmente acompanhada pela colonização por osteoclastos e reabsorção da superfície radicular (NE; CARKSON; FEAGIN, 1999). Os osteoclastos então dissolvem a matriz mineralizada, endocitam, transportam e liberam continuamente os componentes da matriz durante o processo de reabsorção (NESBITT; HORTON, 1997). Uma vez liberadas estas moléculas podem atuar como fator quimiotático para osteoblastos (OGATA; NIISATO; MARIWAKI, 1997; TENÓRIO et al., 1997; TAKATA et al., 1998) células do ligamento periodontal (OGATA; NIISATO; MARIWAKI, 1997) neutrófilos e macrófagos no local da reabsorção (LARA et al., 2003) e a partir daí o curso da reabsorção radicular vai depender de uma complexa interação entre células inflamatórias, ósseas e do ligamento periodontal (NE; CARKSON; FEAGIN, 1999), moléculas dentinárias e microambiente.

A desmineralização da superfície da dentina promove proliferação de osteoblastos e induz eventos de diferenciação incluindo produção de fosfatase alcalina e mediadores autócrinos como prostaglandinas e TGF- β (SILVA; ROSA; LARA, 2004). Lara et al. (2003) investigaram o extrato dentinário bruto de dentina desmineralizada como indutora de resposta inflamatória onde foi observado *in vivo* que o extrato dentinário desencadeia a migração de leucócitos em tempo e dose dependente e *in vitro* expressão de óxido nítrico sintetase induzível, TNF- α e IL-1 β por macrófagos murinos. Estas observações confirmaram os resultados encontrados por Whal et al. (1993) e Giachelli, Lombardi e Johnson (1998) onde foram evidenciados recrutamento e ativação de leucócitos por OPN e TGF- β . Além disso, DSP e DPP também estimularam macrófagos causando a migração de neutrófilos (SILVA et al., 2004).

Pereira et al. (2002), observaram a capacidade da dentina humana como indutora na liberação de citocinas IL-1 α e IL-1 β em cultura celular, desencadeando a mobilização celular.

Estudos *in vitro* mostraram que a superfície da dentina é um excelente substrato para adesão das células (SCHEVEN; MARSHALL; ASPDEN, 2002) e também revelaram atividades antagônicas dos diferentes constituintes da dentina capazes de atuar em diferentes condições na indução de formação óssea ou na reabsorção dental e óssea (SILVA; ROSA; LARA, 2004).

Os odontoblastos exibem expressão constitutiva de IL-8, que tem se mostrado ser quimiotática para neutrófilos, linfócitos T e basófilos, estimulando a degranulação de neutrófilos e a sua atividade oxidativa bem como a degranulação de mastócitos. Esta citocina por estar depositada na dentina poderia ser liberada nos processos reabsortivos e contribuir para exacerbar ou perpetuar a resposta inflamatória na região (LEVIN et al., 1999).

Mastócitos mostraram uma função reguladora nos processos reabsortivos em que o número aumentado de mastócitos na polpa inflamada e no espaço periapical, foram implicados com a reabsorção periapical possivelmente por favorecerem a atividade osteoclástica (SILVA; ROSA; LARA, 2004).

Os fatores de crescimento derivados da dentina podem atuar de modo autócrino e ou parácrino regulando a proliferação e diferenciação de células ósseas com a importante função de regulação local do reparo e reabsorção do dente e osso. (FINKELMAN; MOHAN; JENINGS, 1990; HERAS; VALENZUELA; OVERALL, 2000; ROBERTS-CLARK; SMITH, 2000).

2.6 ANTICORPOS ANTI-DENTINA E REABSORÇÃO DENTÁRIA

King e Courts (1988; 1989) e Ng, King e Courts (1990), pesquisaram a presença de anticorpos anti-dentina em cães, humanos e camundongos e observaram que durante a reabsorção radicular ativa houve uma diminuição dos títulos de anticorpos contra antígenos dentinários.

Wheeler e Stroup (1993) hiperimunizaram camundongos com extrato de dentina e provocaram reabsorção radicular traumática. O procedimento de hiperimunização parece ter protegido da reabsorção radicular, através de possível mecanismo celular da resposta imunológica.

Trope (1997) relatou que a superfície radicular alterada poderia ser registrada pelo sistema imunológico como um tecido diferente e ser atacado como um corpo estranho.

A resposta imune inata e a resposta imune específica podem ser ativadas por proteínas da matriz dentinária na reabsorção radicular (SILVA; ROSA; LARA, 2004).

Hidalgo, Itano e Consolaro (2005) ao observarem a resposta imune de pacientes que sofreram trauma dental com consequente reabsorção por substituição demonstraram a participação da resposta inflamatória imunopatológica. Resultados de ELISA detectaram que o soro destes pacientes continham altos títulos de IgG e baixa quantidade de IgM anti extrato dentinário total e anti-frações em relação aos pacientes do grupo controle. Os autores reforçaram a hipótese que a dentina é imunogênica e, que o perfil sorológico de pacientes com reabsorção dental por substituição pode ser identificado através da análise bioquímica do seu sangue.

Ramos (2008) avaliou as alterações quantitativas nos níveis de IgA secretora na saliva e IgG sérica anti-extrato dentinário humano nos períodos pré-tratamento, após 6 meses e 12 meses de movimentação ortodôntica. Observou que os níveis iniciais de IgA secretora anti-extrato dentinário apresentaram correlação com o desenvolvimento de reabsorções mais avançadas após 6 meses de tratamento. No entanto, os níveis de IgG sérica diminuíram durante o tratamento, portanto sem correlação com o grau de reabsorção e com os títulos apresentados pela de IgA secretora.

O presente trabalho introduz o fracionamento de extrato dentinário e análise de IgG anti-frações em amostras de salivas de pacientes antes, durante e pós-tratamento ortodôntico e, o reconhecimento dos antígenos dentinários. A IgG salivar é uma classe de anticorpo que chega a cavidade bucal pelo fluido crevicular por meio do sulco gengival, sendo derivada do soro por difusão, além de poder ser produzida localmente (LAMM, 1997; GLEESON; PYNE, 2000). Considerando que os anticorpos IgG presentes em saliva representam uma fração dos anticorpos IgG

presentes no plasma e portanto representam o mesmo perfil antigênico, há grandes vantagens na utilização de amostras de saliva em vez de soro por se tratar de método não invasivo, de fácil obtenção e com uma melhor aceitação pelos indivíduos envolvidos na pesquisa.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar nível de IgG anti-frações de extrato dentinário humano em amostras de salivas de pacientes antes, durante e pós-tratamento ortodôntico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Obter e fracionar amostras de extrato dentinário humano por cromatografia de gel filtração.
- 2- Determinar nível de IgG anti-frações de extrato dentinário humano, em amostras de salivas de pacientes durante e após tratamento ortodôntico apresentando reabsorção radicular apical.
- 3- Identificar antígenos de frações de extrato dentinário humano reconhecidos por IgG salivar de pacientes com reabsorção radicular apical.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO

Foram utilizados 37 dentes (terceiros molares) íntegros, inclusos ou semi-impactados e com indicação cirúrgica, extraídos de pacientes adultos (18 a 33 anos) no Centro de Especialidades Odontológicas de Cambé e mantidos em solução estéril de salina-fosfato (PBS) pH 7,4. A medida que estes dentes foram sendo disponibilizados procedeu-se a limpeza, retirada dos tecidos moles remanescentes, lavagem, secagem e armazenamento a – 20°C. Para obtenção do extrato dentinário os dentes foram desgastados com pontas diamantadas cilíndricas em alta rotação sob irrigação constante com água destilada gelada. O esmalte foi desprezado obtendo-se somente a dentina coronária e radicular sem exposição da cavidade pulpar. Uma vez obtida a dentina em forma de pó (= 18 g) o material foi desmineralizado em solução guanidina HCL 5M (*Sigma*, USA) contendo 10% de EDTA pH 5,0 e inibidor de protease (PMSF), a 4°C por 7 dias. O extrato foi centrifugado duas vezes a 5000 rpm, durante 20 minutos a 4°C (*Brinkmann Instruments Inc.*, USA). O sobrenadante foi coletado e o extrato dentinário bruto foi armazenado a – 80°C.

4.2 CROMATOGRAFIA DE GEL FILTRAÇÃO EM COLUNA SEPHADEX G- 25

Para dessalinizar, o extrato dentinário bruto foi passado em coluna de gel filtração - sephadex G-25 (*Sigma*, *St Louis*, USA). Foi utilizado aparelho coletor de frações automático (Nova Analítica, Brasil), foi mantido a 4°C. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 280nm. Foram coletados 2 *pools*: Fração FI e Fração FII (Figura 8).

4.3 CROMATOGRAFIA DE GEL FILTRAÇÃO EM COLUNA SEPHADEX G-100

O extrato dentinário fração FII foi liofilizado (*Terroni, Brasil*), e ressuspensionado 10 vezes. Este extrato foi refractionado em coluna de gel filtração G-100. Utilizado aparelho coletor de frações automático (Analítica, Nova Analítica, Brasil). Leitura em espectrofotômetro (*Pharmacia Biotec- Sweden*) a 280nm. Os dois picos foram coletados: *pool* Fração FII-a e *pool* Fração FII-b (Figura 9). Após, foi realizada a dosagem de proteínas totais – Método Folin (LOWRY et al., 1951).

4.4 GRUPOS DE INDIVÍDUOS

Para as análises de amostras de saliva foram utilizados dois grupos distintos de indivíduos:

Grupo I

Treze indivíduos com idade média (24 ± 12) sendo 9 do gênero feminino e 4 masculino, provenientes do Centro de Educação Continuada em Odontologia – INTEGRALE (Londrina/PR). Estes pacientes foram analisados antes do tratamento ortodôntico (T0) e um ano após o início do tratamento ortodôntico (T12).

T0 - Os indivíduos foram avaliados por profissional qualificado através de anamnese e radiografias periapicais com os seguintes critérios para inclusão: Não haver se submetido a tratamento ortodôntico previamente, ausência de história de traumatismo da dentição decídua e permanente, ausência de doenças auto-imunes, sem o uso de anti-inflamatórios esteróides há menos de um mês antes das coletas e sem apresentar sinal radiográfico de reabsorção dentária, doença periodontal ou lesões periapicais. Em seguida foram realizadas as análises destes indivíduos.

Os pacientes foram submetidos a técnicas ortodônticas Stright Wire e Edgwise com braquetes (0.018-inch).

T12 - Os mesmos pacientes de T0 analisados no período de 12 a 13 meses após início do tratamento e já apresentando sinal radiográfico de reabsorção radicular apical externa em consequência do tratamento ortodôntico.

Foram utilizados como marcadores de reabsorção radicular apical externa os incisivos superiores.

Grupo II

Para este grupo foram selecionados voluntários acadêmicos da Universidade Estadual de Londrina.

ST – Sem tratamento ortodôntico. Dez indivíduos, idade média (21 ± 2) sendo 5 do gênero feminino e 5 masculino. Os indivíduos foram avaliados por profissional qualificado através de anamnese e radiografias periapicais com os seguintes critérios para inclusão: Não haver se submetido a tratamento ortodôntico previamente, ausência de história de traumatismo da dentição decídua e permanente, ausência de doenças auto-imunes, sem o uso de anti-inflamatórios esteróides há menos de um mês antes das coletas e sem apresentar sinal radiográfico de reabsorção dentária, doença periodontal ou lesões periapicais. Em seguida foram realizadas as análises destes indivíduos.

PT – Pós-término de tratamento ortodôntico. Dez indivíduos, idade ($21,5 \pm 3,5$) sendo 6 do gênero feminino e 4 do masculino, os quais já haviam se submetido a tratamento ortodôntico e apresentaram reabsorção radicular apical externa confirmada radiograficamente. Todos os indivíduos haviam finalizado o tratamento ortodôntico há aproximadamente 48 meses. Os incisivos superiores foram utilizados como marcadores de reabsorção radicular apical externa.

As amostras de saliva foram obtidas após consentimento livre e esclarecido e aprovado pelo Comitê de Bioética da Universidade Estadual de Londrina.

4.5 ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA)

As placas de ELISA foram sensibilizadas com extrato dentinário Fração FI ou Fração FII-a (30 µg/ mL), diluídos em tampão carbonato/bicarbonato 0,1M pH 9,6 foram incubadas a 37°C e pernoite a 4°C. Descartada a solução, foram realizadas 4 lavagens em tampão lavagem com 0,05% de Tween 20 e 0,5% de leite em pó desnatado (Molico - Nestlé, Brasil) diluídos em PBS-T seguida do bloqueio com 0,5% de Tween 20 e 5% de leite em pó desnatado em PBS-T, durante 1 hora à temperatura ambiente. Após novas lavagens, amostras de saliva não diluída de pacientes (T0), (T12) e de pacientes (ST), (PT) em duplicatas, foram incubadas a 37°C durante 1,5 horas. Novas lavagens foram realizadas e posteriormente incubação com conjugado peroxidase anti IgG humana (A-8775 Sigma-Aldrich, USA), diluído 1:4000 durante 1,5 horas. Após lavagens, 100 µL de solução substrato (5 mg OPD, 10 mL de tampão citrato 0,1M, pH 4,5 e 10 ML H₂O₂) foi adicionada em cada well e após 20 minutos a reação foi paralizada com 50 µL de H₂ SO₄ 4N. Leitura em leitor de ELISA *Multiskan EX reader (Labsystems, Finland)* a 492nm. Foram analisadas somente as frações FI e FII-a. A fração FII-b por apresentar menor reatividade por ELISA, foi excluída do presente trabalho.

4.6 ELETROFORESE SDS-PAGE

Gel de poliacrilamida em gradiente 5 a 15%.

Uma solução de acrilamida 5% e igual quantidade a 15% foram pipetadas separadamente com tris (pH 8,8), água destilada, SDS 10%, persulfato de amônia 2% e TEMED num volume final de 4 mL. Estas foram colocadas em peça formadora de gradiente com agitador e transferidas para uma miniplaca vertical formando um gradiente linear de gel de poliacrilamida 5 a 15%. A seguir o gel foi coberto com uma camada de álcool isoamílico e aguardou-se até a polimerização completa. Os resíduos de álcool foram removidos por lavagens com água e após foi adicionado uma mistura de 2 mL de gel de empilhamento 5%. Em seguida foi introduzido o pente de acrílico adaptado para formar 2 poços únicos para as frações FI e FII-a e um poço para o padrão de peso molecular. As amostras foram preparadas com tampão de amostra (*Sigma, USA*) v/v, fervidas durante 5 minutos e introduzidas nas canaletas. Foi utilizado padrão de massa molecular pré-corado (*Bio Rad, USA*) com

MM 207,34; 114,36; 78,44; 53,08; 35,71; 28,32; 19,32; 6,97. A corrida eletroforética foi realizada em tampão tris-glicina, pH 8,2 com 40v no gel de empilhamento e 80v até o final.

4.7 WESTERN BLOTTING

Após eletroforese do gel de poliacrilamida em gradiente 5 a 15% com SDS, foi realizada a transferência do gel para a membrana de nitrocelulose, por eletroforese, a 70v por 2 horas, utilizando-se tampão tris-glicina metanol 10% pH 8,7 a 4°C. Concluída a transferência, a membrana de nitrocelulose foi bloqueada com PBS-Tween 20 e 5% de leite em pó desnatado (Molico- Nestlé, Brasil), durante 1 hora à temperatura ambiente. Em seguida, foram realizadas 4 lavagens e, após secagem à temperatura ambiente, a membrana foi cortada em tiras individualizadas contendo as frações FI ou FII-a e o padrão de peso molecular. As tiras de membrana com as frações FI ou FII-a, foram incubadas a 37°C, por 1,5 horas e pernoite a 4°C, com *pool* de saliva não diluída (n=10) com volumes iguais de pacientes (T0), *pool* (n=10) de pacientes (T12), *pool* (n=10) de pacientes ST e *pool* (n=10) de pacientes (PT). Após 4 lavagens com tampão de lavagem de PBS contendo 0,05% Tween 20 e 0,5% de leite em pó desnatado (Molico-Nestlé, Brasil), foi realizada a incubação à 37°C com anticorpo conjugado peroxidase anti IgG humana (A-8775-Sigma, USA) diluição 1:1000 em tampão diluição contendo PBS e 0,5% de leite em pó desnatado durante 1,5 horas. A reação foi evidenciada com TMB e paralisada com água destilada. Os controles utilizados foram PBS e as salivas de indivíduos (T0) e (ST).

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise não-paramétrica testes de Wilcoxon pareado para o grupo (T0 e T12) e Mann-Whitney para o grupo (ST e PT). Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $P < 0.05$. Para análise de normalidade foram utilizados os testes Lillieforts e Shapiro Wilk.

6 RESULTADOS

6.1 CROMATOGRAFIA DE GEL FILTRAÇÃO DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO EM COLUNA SEPHADEX G- 25

A cromatografia do extrato dentinário em coluna de Sephadex G-25 resultou em um pico principal de absorção de luz a 280 nm. A partir de frações desse pico, dois *pools* (F I e FII) foram obtidos conforme (Figura 10).

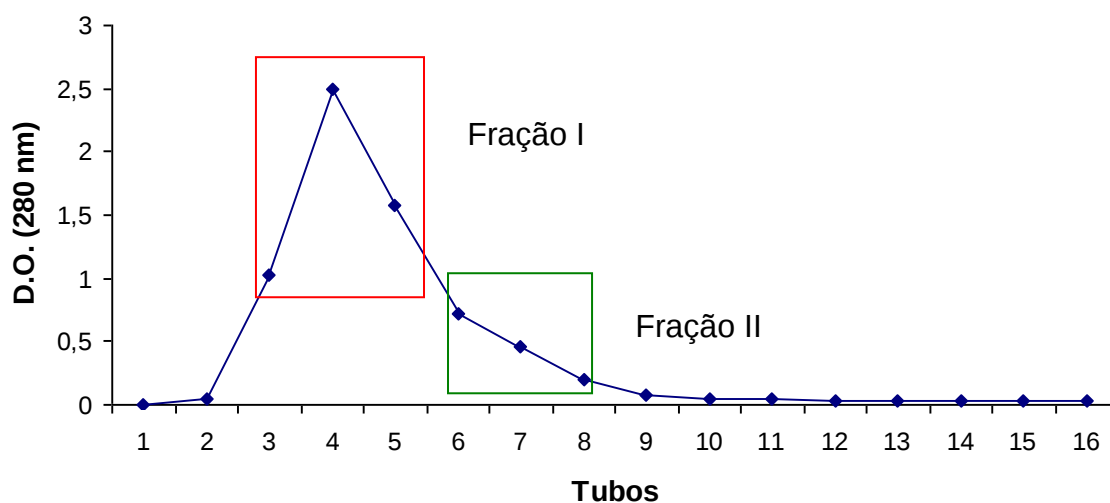


Figura 10. Perfil espectrofotométrico a 280 nm de extrato dentinário humano fracionado em coluna sephadex G-25. Obteve-se a Fração-FI (tubos 3, 4 e 5) e Fração- FII (tubos 6, 7 e 8).

6.2 CROMATOGRAFIA DE GEL FILTRAÇÃO PARA REFRACIONAMENTO DA FII DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO EM COLUNA SEPHADEX G-100

A cromatografia da fração FII do extrato dentinário, concentrada por liofilização e refracionada em coluna de sephadex G-100, resultou em perfil espectrofotométrico a 280nm contendo 2 picos. As frações correspondentes ao primeiro pico foram misturadas, obtendo-se *pool* FII-a e FII-b (Figura 11).

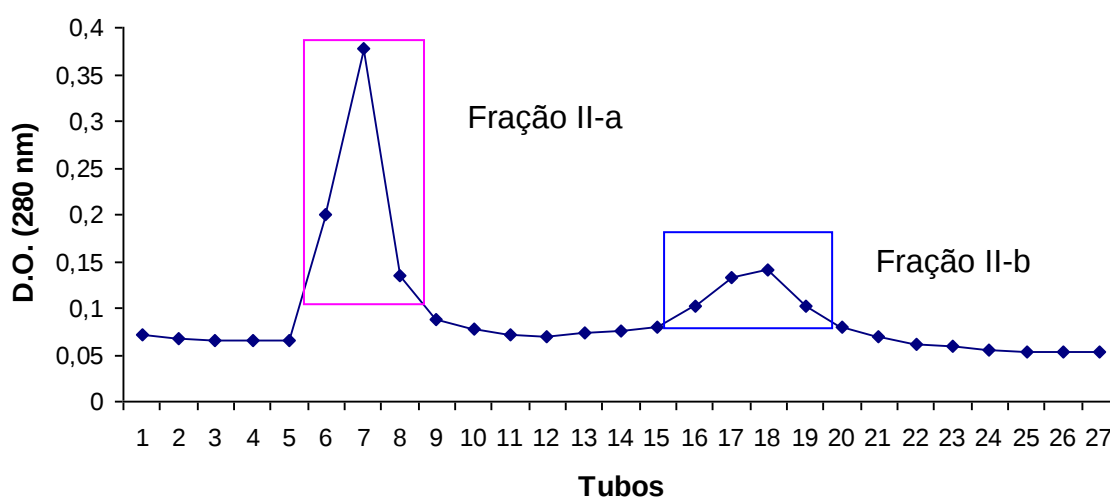
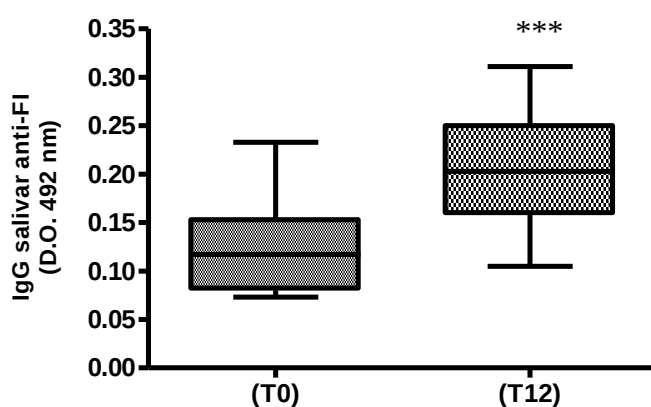


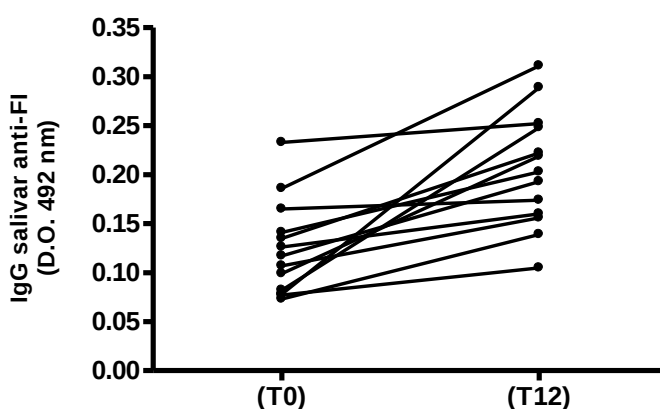
Figura 11. Perfil espectrofotométrico a 280 nm da fração FII do extrato dentinário humano, refracionada em coluna sephadex G-100. 1º Pico = Fração FII-a (tubos 6, 7 e 8). 2º Pico= Fração FII-b (tubos 16, 17, 18 e 19).

6.3 NÍVEL DE IgG SALIVAR ANTI-FRAÇÃO FI DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO, POR ELISA, EM PACIENTES ANTES DO TRATAMENTO (T0) E 12 MESES APÓS O INÍCIO DO TRATAMENTO ORTODÔNTICO (T12).

Os resultados de ELISA em D.O. a 492 nm (Figura 12-a e Figura 12-b), demonstraram um aumento de IgG salivar no tempo T12 em relação a T0 estatisticamente significante $P < 0.05$ (Wilcoxon test).



(A)



(B)

Figura 12. Nível de IgG salivar anti-FI em amostras de saliva de pacientes (T0 e T12), por ELISA, em D. O. a 492 nm. Placas de ELISA sensibilizadas com 30 µg proteína/mL de fração FI e incubadas com amostras de saliva (n=13) de pacientes antes do tratamento ortodôntico (T0) e após 12 meses de tratamento ortodôntico (T12), com reabsorção radicular apical (Wilcoxon test $P < 0.05$).

6.4 NÍVEL DE IgG SALIVAR ANTI-FRAÇÃO FII-a DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO, POR ELISA, EM PACIENTES ANTES DO TRATAMENTO (T0) E 12 MESES APÓS O INÍCIO DO TRATAMENTO ORTODÔNTICO (T12).

Os resultados de ELISA em D.O. a 492 nm (Figura 13), demonstraram IgG salivar mais elevada em (T0) em relação ao (T12), porém sem diferença significativa (Wilcoxon test $P > 0.05$).

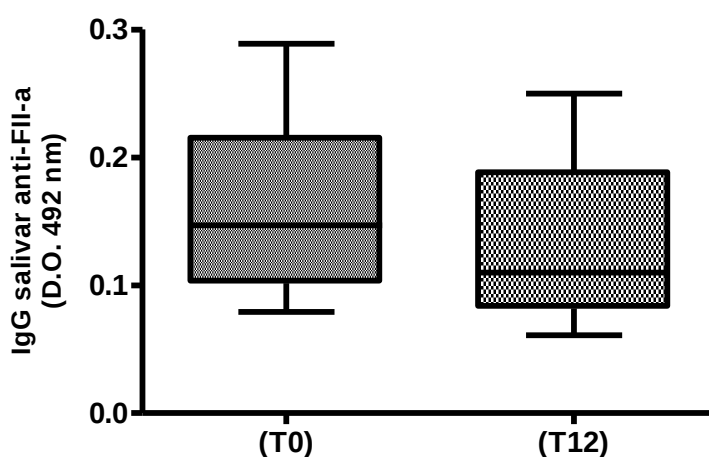


Figura 13. Nível de IgG salivar anti-FII-a em amostras de saliva de pacientes (T0 e T12), por ELISA, em D.O. a 492 nm. Placas de ELISA foram sensibilizadas com 30 μ g proteína/mL de FII-a e incubadas com amostras de saliva ($n=13$) de pacientes antes do tratamento ortodôntico (T0) e após 12 meses de tratamento ortodôntico (T12), com reabsorção radicular apical (Wilcoxon test $P > 0.05$).

6.5 NÍVEL DE IgG SALIVAR ANTI- FRAÇÃO FI DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO, POR ELISA, EM PACIENTES SEM TRATAMENTO (ST) E COM APROXIMADAMENTE 48 MESES PÓS TÉRMINO DE TRATAMENTO ORTODÔNTICO (PT).

Os resultados de ELISA, em D.O. a 492 nm (Figura 14), demonstraram aumento significativo no nível de IgG salivar anti-FI no grupo (PT) em relação ao (ST) com $P < 0.05$ (Mann-Whitney test).

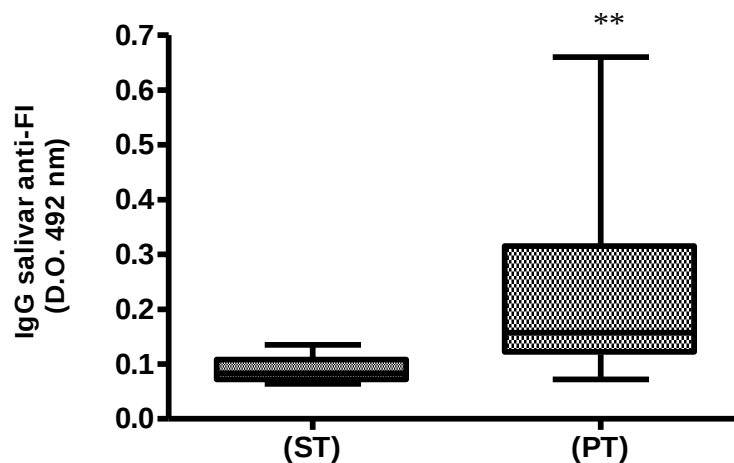


Figura 14. Nível de IgG salivar anti-FI em amostras de saliva de pacientes (ST e PT), por ELISA, em D. O. a 492 nm. Placas de ELISA sensibilizadas com 30 μ g proteína/mL de fração FI e incubadas com amostras de salivas (n=10) de pacientes com aproximadamente 48 meses após término do tratamento ortodôntico, com reabsorção radicular apical e controle normal sem tratamento ortodôntico e sem reabsorção (n=10). (Mann Whitney test $P < 0.05$).

6.6 NÍVEL DE IgG SALIVAR ANTI- FRAÇÃO FII-a DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO, POR ELISA, EM PACIENTES SEM TRATAMENTO (ST) E COM APROXIMADAMENTE 48 MESES PÓS TÉRMINO DE TRATAMENTO ORTODÔNTICO (PT).

Os resultados de ELISA, em D.O. a 492 nm (Figura 15), não demonstraram diferença estatística significativa no nível de IgG salivar anti-FII-a em pacientes (PT) em relação a (ST) (Mann-Whitney test $P > 0.05$).

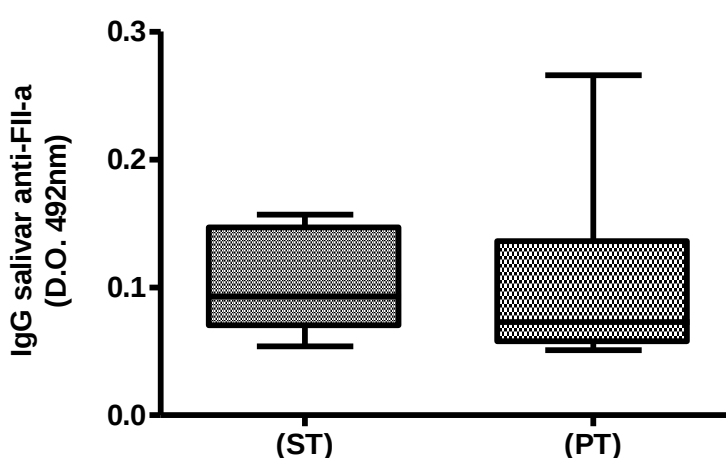


Figura 15. Nível de IgG salivar anti-FII-a em amostras de saliva de pacientes (ST e PT), por ELISA, em D. O. a 492 nm. Placas de ELISA sensibilizadas com 30 μ g proteína/mL de fração FII-a e incubadas com amostras de salivas (n=10) de pacientes com aproximadamente 48 meses após término do tratamento ortodôntico, com reabsorção radicular apical (PT) e controle normal sem tratamento ortodôntico e sem reabsorção (ST) (n=10) (Mann Whitney test $P > 0.05$).

6.7 WESTERN BLOTTING DAS FRAÇÕES FI E FII-a DO EXTRATO DENTINÁRIO HUMANO

Os resultados de análise de anticorpos anti-dentina humana IgG salivar demonstraram reconhecimento das FI e FII-a por bandas de 35 a 70kDa em T12 e PT e que não foram reconhecidas pelos controles (T0) e (ST).

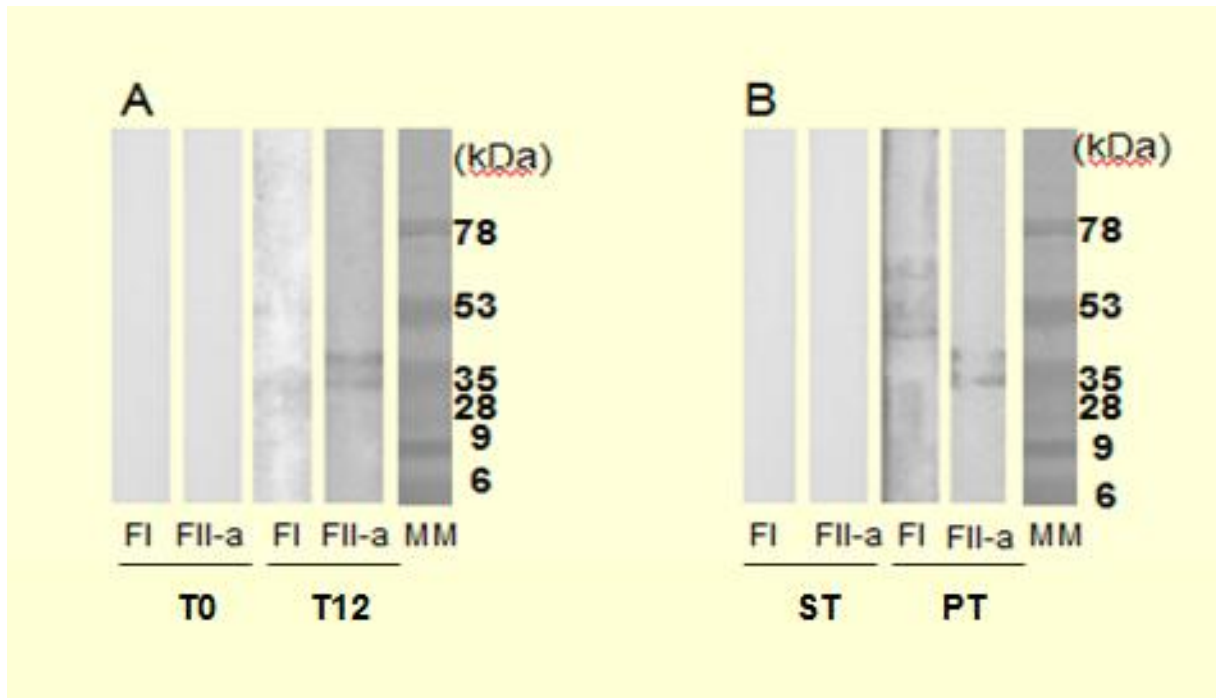


Figura 16. Resultado de análise de fração FI e FII-a por *western blotting* utilizando pool de amostras de saliva de pacientes A- (T0, T12) e B- (ST, PT). As frações FI e FII-a obtidas por cromatografia de gel filtração foram submetidas a eletroforese em gradiente 5 a 15% seguida de transferência para membrana de nitrocelulose e incubadas com *pool* de amostras de salivas de pacientes antes do tratamento ortodôntico (T0) e após 12 meses de tratamento ortodôntico (T12), com reabsorção radicular apical e, *pool* de amostras de saliva de pacientes com aproximadamente 48 meses após término do tratamento ortodôntico (PT), com reabsorção radicular apical e controle normal sem tratamento ortodôntico e sem reabsorção (ST).

7 DISCUSSÃO

No presente trabalho foi evidenciado aumento significativo no nível de IgG a fração FI de extrato dentinário humano em pacientes com 12 meses de tratamento ortodôntico (T12) em relação a fase anterior ao tratamento (T0). O mesmo ocorrendo com as amostras de salivas de pacientes após o término de tratamento ortodôntico (T48), sugerindo a permanência de estímulo ou de meia vida elevada de células produtoras de anticorpos a essa fração dentinária, mesmo após aproximadamente 48 meses. Anticorpos IgG são utilizados como marcadores de exposições a antígenos e podem ser detectados depois de longos períodos devido a presença de células de memória e plasmócitos de vida longa (SCHITTEK; RAJEWSKY, 1990; SLIFKA et al., 1998).

É possível que as moléculas da dentina possam funcionar como sinais regulatórios para reparação e reabsorção dental e também dos tecidos periodontais (SILVA; ROSA; LARA, 2004). Vários pesquisadores têm associado a reabsorção dentária com antígenos presentes na dentina que poderiam ativar o sistema imunológico após a sua exposição ou liberação da matriz dentinária (HIDALGO; ITANO; CONSOLARO, 2005; KING; KOURTS, 1988, 1989; NG; KING; COURTS, 1990; RAMOS, 2008; SILVA; ROSA; LARA, 2004). É possível que as condições locais que levam a quebra do equilíbrio fisiológico entre dente e tecidos periodontais com exposição de moléculas da dentina durante o movimento ortodôntico, possam interferir com a liberação de proteínas sinalizadoras e fatores de crescimento destes tecidos desencadeando a migração e ativação de vários tipos celulares como células do ligamento periodontal, osteoblastos, osteoclastos e células inflamatórias relacionadas com o processo de reabsorção e reparo, que poderiam afetar o curso da doença e levar à reabsorção radicular apical (SILVA; ROSA; LARA, 2004).

Para melhor caracterização dos componentes imunogênicos presentes na fração FI, foi realizada a sua análise por *western blotting*, evidenciando a presença de 2 componentes principais reconhecidos pelas amostras de salivas de pacientes com 12 meses de tratamento ortodôntico (T12) e 3 componentes pelo grupo pós-tratamento ortodôntico (PT).

A reatividade da fração FII-a foi similar entre o grupo T0 e T12 e, embora não significativo o resultado do grupo T12 foi menor que o T0. Possivelmente por esse motivo os resultados de IgA salivar e IgG sérica de pacientes em tratamento ortodôntico obtido por Ramos (2008) utilizando extrato dentinário total foi menor em T12 em relação ao T0, o que sugere a importância de se utilizar as frações em vez de extrato dentinário total.

De forma similar a fração FII-a com os pacientes em T12 e PT também não demonstraram diferença significativa em relação aos seus controles respectivos, o que poderia sugerir que os componentes presentes nessa fração não sejam imunogênicas. Todavia de acordo com Ramos (2008) durante o tratamento ortodôntico poderia ocorrer imunomodulação levando a tolerância imunológica e a uma diminuição no nível de anticorpos. É possível que essa imunomodulação possa ocorrer com algumas frações antigênicas do extrato dentinário como os componentes de fração FII-a do presente trabalho. Por outro lado, os componentes de MM mais elevados, presentes na fração FI, poderiam se comportar como bons imunógenos, considerando que um dos fatores que afetam a imunogenicidade é o seu tamanho molecular (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008).

Em relação aos nossos resultados de aumento nos níveis de IgG salivar em pacientes em tratamento ou pós-tratamento ortodôntico há concordância com os dados de Hidalgo, Itano e Consolaro (2005), que demonstraram altos títulos de IgG anti-frações de extrato dentinário em pacientes que sofreram trauma dental com conseqüente reabsorção por substituição em relação aos controles. As frações mais evidentes encontradas por Hidalgo (2001) foi a de 55 kDa, seguida de 32,5 e 170 kDa. Possivelmente o componente de MM de 53 kDa detectado no nosso trabalho seja equivalente ao de 55 kDa e a de ~35 kDa ao de 32,5 kDa de Hidalgo (2001), onde a indução de reabsorção foi trauma dental. Assim é possível que durante o tratamento ortodôntico, de forma similar a trauma dental, os mesmos componentes da dentina sejam expostos ao sistema imune.

Embora em menor nível de IgG sérica anti-extrato dentinário em pacientes em tratamento ou pós tratamento ortodôntico observado por Ramos (2008) em conjunto com os nossos resultados reforçam a hipótese que a dentina é imunogênica e ou tolerogênica, dependendo possivelmente da fração dentinária, e os níveis de anticorpos de pacientes com reabsorção dental pode ser identificado

através de análise de amostras de sangue ou de saliva. A utilização de amostras de salivas neste trabalho, por se tratar de um método de obtenção simples, não invasivo e por ser passível de uma análise eficiente proporcionou grandes vantagens. Se o reconhecimento da dentina humana, como antígeno, pelo soro ou saliva de pacientes associado a tratamento ortodôntico pode se caracterizar como autoimunidade, requer estudos adicionais. Porém, possivelmente a análise dos níveis de IgG salivar anti-fração de dentina humana pode contribuir para o diagnóstico precoce e estudo dos mecanismos imunopatogênicos envolvidos nos processos reabsortivos como consequência do tratamento ortodôntico.

CONCLUSÃO

1. Durante o tratamento ortodôntico pode ocorrer aumento no nível de IgG salivar às frações de extrato dentinário humano.
2. O nível de IgG salivar às frações de extrato dentinário humano pode permanecer elevado mesmo após aproximadamente 48 meses pós-tratamento.
3. Os componentes de extrato dentinário associados a reabsorção dentária reconhecidos por IgG salivar durante ou pós-tratamento ortodôntico apresentam MM entre 70 e 35 kDa.

REFERÊNCIAS

- AL-QAWASMI, R. A.; HARTSFIELD JUNIOR, J. K.; EVERETT, E. T.; FLURY, L.; LIU, L.; FOROUD, T. M. Genetic predisposition to external apical root resorption in orthodontic patients: linkage of chromosome-18 marker. **J. Dent. Res.** v. 82, p. 356-60, 2003.
- AL-QAWASMI, R. A.; HARTSFIELD JUNIOR, J. K.; EVERETT, E. T.; WEAVER, M. R.; FOROUD, T. M.; FAUST, D. M.; ROBERTS, W. E. Root resorption associated with orthodontic force in inbred mice: genetic contributions. **Eur. Orthod.** v. 28, p. 13-19, 2006.
- ARTUN, J.; SMALE, I.; BEHBEHANI, F.; DOPPEL, D.; VAN'T HOF, M.; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M. Apical root resorption six and 12 months after initiation of fixed orthodontic appliance therapy. **Angle Orthod.** v. 75, n. 6, p. 919-26, nov. 2005.
- ARTUN, J.; VAN'T HULLENAAR, R.; DOPPEL, D.; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M. Identification of orthodontic patients at risk of severe apical root resorption. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.** v. 135, n. 4, p. 448-455, Apr. 2009.
- BANG, G.; URIST, M. R. Bone induction in excavation chambers in matrix of decalcified dentin. **Arch. Surg.** v. 94, p. 781-789, 1967.
- BOSKEY, A. L.; SPEVAK, L.; PASCHALIS, E.; DOTY, S. B.; McKEE, M. D. Osteopontin deficiency increases mineral content and mineral crystallinity in mouse bone. **Calcif. Tissue Int.** v. 71, n. 2, p. 145-154, 2002.
- BREZNIAK, N.; WASSERSTEIN. A Root resorption after orthodontic treatment: Part 2. Literature review. **Am. J. Orth. Dent. Orthop.** v. 103, n. 2, p. 138-146, Feb, 1993.
- BREZNIAKI, N.; WASSERSTEIN. Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part II: The clinical aspects. **Angle Orthod.** v. 72, p. 180-184, 2002.
- BRIN, I.; TULLOCH, J. F.; KOROLUK, L.; PHILIPS, C. External apical root resorption in Class II malocclusion: a retrospective review of 1 – versus 2 – phase treatment. **Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.** v. 124, n.2, p. 151-156, 2003.
- BUENO, V.; PACHECO-SILVA, A. Tolerância oral: uma nova perspectiva no tratamento das doenças autoimunes. **Rev. Ass. Med.** v. 45, n. 1, p. 79-85, 1999.
- BUTLER, W. T. Dentin extracellular matrix and dentinogenesis. **Oper. Dent.** v. 17, p. 18-23, 1992.
- BUTLER, W. T.; BHOWN, M.; BRUNN, J. C.; D'SOUZA, R. N.; FARACH-CARSON, M. C.; HAPPONEN, R. P. Isolation, characterization and immunolocalization of a 53-kDa dentin sialoprotein (DSP). **Matrix.** v. 12, p. 343-351, 1992.
- BUTLER, W. T.; RITCHIE, H. The nature and functional significance of dentin extracellular matrix proteins. **Int. J. Dev. Biol.** v. 39, p. 169-179, 1995.
- BUTLER, W. T. Dentin matrix proteins. **Eur. J. Oral Sci.** v. 106, p. 204-210, 1998.

CAMBI, A.; FILHO, M. V.; RAMALHO, S. A.; VEDOVELHO, S. A. S.; TONOLI, G. Correlation between the root resorption and the orthodontics movements on the intrusion and torque. **Ortodontia**. v. 35, n. 2, p. 121-129, 2002.

CASA, M. A.; FALTIN, K.; SANDER, F. G.; ARANA-CHAVEZ, V. E. Root resorption in upper first premolars after application of continuous torque moment intra-individual study. **J. Orofac. Orthop**. v. 62, p. 285-295, 2001.

CHAN, E.; DARENDELILER, M. A. Physical properties of root cementum: part 5. Volumetric analysis of root resorption craters after application of light and heavy orthodontic forces. **Am. J. Orth. Dent. Orthop**. v. 127, p. 186-195, 2005.

CHANG, S. R.; CHIEGO JUNIOR, D.; CLARKSON, B. H. Characterization and identification of human dentin phosphoryn. **Calcif. Tissue Int**. v. 59, n. 3, p. 149-153, Sep. 1996.

CHOLIA, S. S.; WILSON, P. H. R.; MAKDISSI, J. Multiple idiopathic external apical root resorption: report of four cases. **Dentomaxifac. Rad**. v. 34, p. 240-246, 2005.

CLARKSON, B. H.; CHANG, S. R.; HOLLAND, G. R. Phosphoprotein analysis of sequential extracts of human dentin and the determination of the subsequent remineralization potential of these dentin matrices. **Caries Res**. v. 32, n. 5, p. 357-364, 1998.

CONSOLARO, A. **Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas**. Maringá: Dental Press, 2002.

CONSOLARO, A.; MARTINS-ORTIZ, M. F. Hereditariedade e susceptibilidade à reabsorção radicular em Ortodontia não se fundamentam; erros metodológicos e interpretativos repetidamente publicados podem gerar falsas verdades. Análise crítica do trabalho de Al-Qawasmi *et al.* sobre disposição genética à reabsorção radicular de natureza ortodôntica. **Rev. Dent. Pres. Ortod. Ortop. Fac.** Maringá, v. 9, n. 2, p. 146-152 mar./abr. 2004.

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

CONSOLARO, A. Tensão nas áreas de compressão do ligamento periodontal durante o movimento ortodôntico. E os binômios? **Rev. Clin. Ortodon. Dental Press**. Maringá, v. 6, p. 107-110, 2007.

CONSOLARO, A.; CONSOLARO, M. F. M. O. Bisfosfonatos e tratamento ortodôntico. **Rev. Clin. Ortodont. Dental. Press**. Maringá, v.13, n.4, Jul/Aug, 2008.

CONSOLARO, A.; CONSOLARO, M. F. M. O. A reabsorção radicular ortodôntica é inflamatória, os fenômenos geneticamente gerenciados, mas não é hereditariamente transmitida. **Rev. Dent. Ortod. Ortop. Fac.** Maringá, v. 14, n. 4, p. 25-32, 2009.

DENHARDT, D. T.; NODA, M. Osteopontin expression and function role in bone remodeling. **J. Cell Biochem**. v. 31, p. 92-102, 1998.

DETTINO, A. L. A.; SATO, M. N. Tolerance induction to alloantigens by oral administration in submitted mice to the skin allotransplantation. **Rev. Med.** São Paulo, v. 77, n. 1, p. 19-30, jan./fev. 1998.

DONALDSON, M.; KINIRONS, M. J. Factors affecting the time of onset of resorption in avulsed and replanted incisor teeth in children. **Dent. Traumatol.** v. 17, p. 205-209, 2001.

EJEIL, A. L.; IGONDJO-TCHEN, S.; GHOMRASSENI, S. et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in healthy and diseased human gingival. **J. Periodontol.** v. 74, p. 188-195, 2003.

ENGSTROM, C., GRANSTROM, G.; THILANDER, B. Effect of orthodontic force on periodontal tissue metabolism: a histologic and biochemical study in normal and hypocalcemic young rats. **Am. J. Orthod. Dentofac.** v.93, p. 468-495, 1988.

ESTRELA, C.; BUENO, M. R.; DE ALENCAR, A. H. G.; MATTAR, R.; VALLADARES NETO, J.; AZEVEDO, C. B.; ESTRELA, C. R. D. A. Method to Evaluate inflammatory root resorption by using Cone Beam Computed Tomography. **J. Endodon.** v. 35, n. 11, p. 1491-1497, 2009.

FALTIN, R. M.; FALTIN, K.; SANDER, F. G.; ARANA-CHAVES, V. E. Ultrastructure of cementum and periodontal ligament after continuous intrusion in humans: a transmission electron microscopy study. **Eur. J. Orthod.** v. 23, p. 35-49, 2001.

FINKELMAN, R. D.; MOHAN, S.; JENINGS, J. C. Quantification of growth factors IGF-I, SGF/IGFII and TGF- β in human dentin. **J. Bone Miner. Res.** v. 5, p. 717-723, 1990.

FISHER, L. W.; TORCHIA, D. A.; FOHR, B.; YOUNG, M. F.; FEDARKO, N. S. Flexible structures of SIBLING proteins, bone sialoprotein and osteopontin. **Biochem. Biophys Res. Commun.** v. 280, p. 460-465, 2001.

FOX, N. Longer orthodontic treatment may result in greater external apical root resorption. **Evid. Based Dent.** v. 6, p. 21, 2005.

FUSS, Z.; TSESIS, I.; LIN, S. Root resorption – diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors. **Dent. Traumatol.** v. 19, p. 175-182, 2003.

GAENGLER, P.; MERTE, K. Effects of force application on periodontal blood circulation: a vital microscopic study in rats. **J. Periodontal Res.** v. 18, p. 86-92, 1983.

GARANT, P. R. **Oral cells and tissues.** Quintessence. Chicago, p. 25-52, 2003.

GEORGE, A.; SABSAY, B.; SIMONIAN, P. A. L.; VEIS, A. Characterization of a novel dentin matrix acidic phosphoprotein. Implications for induction of biomineralization. **J. Bio. Chem.** v. 268, p. 12624-12630, 1993.

GEORGE, A.; SILBERSTEIN, R.; VEIS, A. In situ hybridization shows Dmp1 (AG1) to be a developmentally regulated dentin-specific protein produced by mature odontoblast. **Connect. Tissue Res.** v. 33, p. 1-3, p. 67-72, 1995.

GIACHELLI, C. M.; LOMBARDI, D.; JOHNSON, R. J. et al. Evidence for a role of osteopontin in macrophage infiltration in response to pathological stimuli in vivo. **Am. J. Pathol.** v. 152, p. 353-358, 1998.

GLEESON, M.; PYNE, D. B. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: exercise effects on mucosal immunity. **Immunol Cell Biol.** v. 78, p. 536-544, 2000.

GOLD, S. I.; HASSELGREN, G. Peripheral inflammatory Root resorption. **J. Periodontol.** Chicago, v. 19, n. 8, p. 523-534, Sept. 1992.

GÓMEZ-FERRARI; MUÑOZ, C. **Histología y embriología bucodental.** 2. ed. Panamericana, 2004.

GORDON, J. A.; TYE, C. E.; SAMPAIO, A. V.; UNDERHILL, T. M.; HUNTER, G. K.; GOLDBERG, H. A. Bone sialoprotein expression enhances osteoblast differentiation and matrix mineralization in vitro. **Bone.** v. 41, n. 3, p. 462-473, 2007.

GUNRAJ, M. Dental root resorption. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.** St. Louis, v. 88, n. 6, p. 647-653, Dec. 1999.

HAROKOPAKIS-HAJSHENGALLIS, E. Physiologic root resorption in primary teeth: molecular and histological events. **J. Oral Sienc.** v. 49, n. 1, p. 1-12, 2007.

HARUYAMA, N.; IGARASHI, K.; SAEKI, S.; OTSUKA-Isoya, M.; SHINODA, H.; MITANI, H. Estrous-cycle-dependent variation in orthodontic tooth movement. **J. Dent. Res.** v. 81, p. 406-410, 2002.

HARRIS, E. F. Root resorption during orthodontic therapy. **Seminars in Orthodontics.** v. 6, n. 3, p. 183-194, 2000.

HARTSFIELD JUNIOR, J. K.; EVERETT, E. T.; AL-QAWASMI, R. A. Genetic factors in external apical root resorption and orthodontic treatment. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.** v. 15, p. 115-22, 2004.

HE, GEN; RAMACHANDRAN, A.; DAHL, T.; GEORGE, S.; SCHULTZ, D.; COOKSON, D.; VEIS, A.; GEORGE, A. Phosphorylation of Phosphophoryn is crucial for its function as a mediator of biomineralization. **J. Biol. Chem.** v. 280, n. 39, p. 33109-33114, 2005.

HENRIK, L.; KERSTIN, G.; HANS-GORAN, G. Cone Beam Computed Tomography for Assessment of Root Length and marginal Bone Level during Orthodontic Treatment. **The Angle Orthodontist.** v. 80, n. 3, p. 466-473, 2010.

HERAS, S. M.; VALENZUELA, A.; OVERALL, C. M. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. **Arch. Oral Biol.** v. 45, p. 757-765, 2000.

HIDALGO, M. M. **Estudo sobre o potencial imunogênico da dentina. Contribuição para a etiopatogenia da reabsorção dentária.** Tese de doutorado em Patologia Bucal - Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

HIDALGO, M. M.; ITANO, E. N.; CONSOLARO, A. Humoral immune response of patients with dental trauma and consequent replacement resorption. **Dental Traumatol.** v. 21, p. 218-221, 2005.

HOLLAND, P. W. H. et al. *In vivo* expression of mRNA for the Ca binding protein SPARC (osteonectin) revealed by *in situ* hybridization. **J. Cell. Biol.** v. 105, p. 473-482, 1987.

HUNTER, G. K.; GOLDBERG, H. A. Nucleation of hydroxyapatite by bone sialoprotein. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 90, p. 8562-8565, 1993.

HORTON, M. A.; HELFRICH, M. H. Antigenic markers of osteoclasts. In: RIFKIN, B. R.; GAY, C. V. **Biology and physiology of osteoclast.** Boca Raton: CRC Press, 1992. cap.6, p. 34-54.

ISHIGURO, K.; YAMASHITA, K.; NAKAGAKI, H.; IWATA, K.; HAYAKAWA, T. Identification of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) in human teeth and its distribution in cementum and dentine. **Arch. Oral Biol.** v. 39, n. 4, p. 345-349, 1994.

IVANOVSKI, S.; HAASE, H. R.; BARTOLD, P. M. Expression of bone matrix protein mRNAs by primary and cloned cultures of regenerative phenotype of human periodontal fibroblasts. **J. Dent. Res.** v. 80, p. 1666-1671, 2001.

JANSON, G. R. A radiographic comparison of apical root resorption after orthodontic treatment with 3 different fixed appliance techniques. **Am. J. Dent. Orthop.** St. Louis, v. 118, n. 3, p. 262-273, Sep, 2000.

JAIN, A.; KARADAG, A.; FOHR, B. et al. Three Siblings (small integrin-binding ligand, N-linked glycoproteins) enhance factor H's cofactor activity enabling MCP-like cellular evasion of complement-mediated attack. **J. Biol. Chem.** v. 277, p. 13700-13708, 2002.

JIMENEZ, C.; PELLEGRIN, V. E. Root resorption in human mandibular 1^o Premolar after rotation as detected by scanning electron microscopy. **Am. J. Orthod. Dentofac.** v. 126: 178-185, 2004.

KAMEYAMA, T.; MATSUMOTO, Y.; WARITA, H.; SOMA, K. Inactivated periods of constant orthodontic forces related to desirable tooth movement in rats. **J. Orthod.** v. 30, p. 31-37, 2003.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. **Histologia e embriologia oral: texto, atlas e correlações clínicas.** 2. ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2004.

KAWAGUCHI, H.; CHIKAZU, D.; NAKAMURA, K. *et al.* Direct and indirect actions of fibroblast growth factor 2 on osteoclastic bone resorption in cultures. **J. Bone Miner. Res.** v. 15, p. 466-473, 2000.

KETCHAM, A. H. A preliminary report of an investigation of apical resorption of permanent teeth. **Int. J. Orthod. Oral Surg. Radiog.** v. 13, p. 97-127, 1927.

KILLIANY, D. M. Root resorption caused by orthodontic treatment: an evidence-based review literature. **Semin. Orthod.** v. 5, n. 2, p. 128-133, 1999.

KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. **Imunologia de Kuby**. 6. ed Porto Alegre: ARTMED, 2008.

KING, G.; COURTS, F. **Changes in the titer of root antibodies accompanying traumatic root resorption**. In: DAVIDOVITCH, Z. (Ed.) The biological mechanisms of tooth eruption and root resorption. Birmingham: EBSCO Media. p. 365-370, 1988.

KING, G.; COURTS, F. **Humoral immune response to active root resorption**. In: NORTON, L. A.; BURSTONE, C. J. **The biology of tooth movement**. Boca Raton: CRC. p. 276-285, 1989.

KRISHNAN, V.; DAVIDOVITCH, Z. Cellular molecular and tissue-level reactions to orthodontic force. **AM. J. Orthod. Dentof. Orthop.** v. 129, p. 132, 2006.

KVAM, E. Scanning electron microscopy of tissue changes on the pressure surface of human premolars following tooth movement. **Scand. J. Dent. Res.** v. 80, p. 357-368, 1972.

LAMM, M. E. Interactions of antigens and antibodies at mucosal surfaces. **Annu. Rev. Microbiol.** v. 51, p. 311-340, 1997.

LARA, V. S.; FIGUEIREDO, F.; DA SILVA, T. A.; CUNHA, F. Q. Dentin-induced in vivo inflammatory response and in vitro activation of murine macrophages. **J. Den. Res.** v. 82, n. 6, p. 460-465, 2003.

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

LEVANDER, E.; MALMGREN, O. Long term follow up of maxillary incisor with severe apical root resorption. **Eur. J. Othodont.** v. 22, p. 85-92, 2000.

LEVIN, L. G.; RUDD, A.; BLETTA, A. *et al.* Expression of IL-8 by cells of the odontoblast layer in vitro. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 107, p. 131-137, 1999.

LINDHE, J. **Tratado de periodontia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

LOCKLIN, R. M.; OREFFO, R. O. C. TRIFFITT, J. T. Effects of TGF- β and FGF on the differentiation of human bone marrow stromal fibroblasts. **Cell Biol. Int.** v. 23, p. 185-194, 1999.

LOW, E. et al. Expression of mRNA for osteoprotegerin and Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa b Ligand (RANK-L) during Root Resorption Induced by the Application of Heavy Orthodontic Forces on Rat Molars. **Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.** St. Louis, v. 128, n 4, p. 497-503, Oct. 2005.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Calorimetric assays: Lowry's method for protein determination. **J. Biol. Chem.** v. 193, p. 265-271, 1951.

MACNAB, S. External apical root resorption of subsequent teeth in asthmatics after orthodontic treatment. **J. Am. Orthod. Dentofac. Orthop.** v. 116, p. 545-551, 1999.

MAC DOUGALL, M.; SIMMONS, D.; LUAN, X.; NYDEGGER, J.; FENG, J.; GU, T.T. Dentin phosphoprotein and dentin sialoprotein are cleavage products expressed from a single transcript coded by a gene on human chromosome 4: dentin phosphoprotein DNA sequence determination. **J. Biol. Chem.** v. 272, p. 835-842, 1997.

MC CURDY, S. P.; CARKSON, B. H. FEAGIN, F. F. Comparison of phosphoprotein isolated from mature and immature human tooth roots. **Arch. Oral Biol.** v. 37, n. 12, p. 1057-1065, Dec. 1992.

MASTERS, P. M. Stereochemically altered noncollagenous protein from human dentin. **Calcif. Tissue Int.** v. 35, n. 1-4, p. 496-501, Jan/Apr. 1983.

MIRABELLA, A. D.; ARTUN, J. Prevalence and severity of apical root resorption of maxillary anterior teeth in adult orthodontic patients. **Eur. J. Orthod.** v. 17, p. 93-99, 1995.

MIZUTANI, H. et al. A study of the bone morphogenetic protein derived from bovine demineralized dentin matrix. **Nagoya J. Med. Sci.** v. 59, n. 1-2, p. 37-47, Mar. 1996.

MORNDAL, O. The importance of force magnitude on the initial response to mechanical stimulation of osteogenic and soft tissue. **Eur. J. Orthod.** v. 9, p. 288-294, 1987.

NISHIOKA, M.; LOI, H.; NAKATA, S.; NAKASIMA, A.; COUNT, A. Root resorption and immune system factors in the japanese. **Angle Orthodontist.** v. 76, n.1, p. 103-108, 2006.

NE, R. F.; CARKSON, B. H. FEAGIN, J. L. Tooth resorption. **Quintessence Int.** v. 30, p. 9-25, 1999.

NG, K. T.; KING, G. J.; COURTS, F. J. Humoral immune response to active root resorption with a murine model. **AM. J. Orthod. Dentofac. Orthop.** v. 98, p. 456-462, 1990.

NESBITT, S. A.; HORTON, M. A. Trafficking of matrix collagens through bone-resorbing osteoclasts. **Science.** v. 276, p. 266-269, 1997.

NEVILLE, B. W. **Patologia oral e maxilofacial.** 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 705.

OGATA, Y.; NIISATO, N.; MARIWAKI, K. Cementum, root dentin and bone extract stimulate chemotactic behavior in cells from periodontal tissue. **Comp. Biochem. Physiol.** v. 116, p. 359-365, 1997.

OWMAN-MOLL, P.; KUROL, J. Root resorption after orthodontic treatment in high- and low-risk patients analysis of allergy as a possible predisposing factor. **Eur. J. Orthod.** v. 22, n. 6, p. 657-663, 2000.

PALOSAARI, H.; WAHLGREN, J.; LARMAS, M. et al. Expression of MMP-8 in human odontoblasts and dental pulp cells is down-regulated by TGF- β -1. **J. Dent. Res.** v. 79, p. 77-84, 2000.

PAREDES, V.; GANDIA, J. L.; CIBRIAN, R. Digital diagnosis records in orthodontics. An overview. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.** v. 11, n. 1, p. 88-93, Jan. 2006.

PARK, EUN-SUNG; CHO, HYE-SIM; KWON, TAE-GEON; JANG, SIN-NAM; LEE, SANG-HAN; AN, CHANG-HYEON; SHIN, HONG-IN; KIM, JAE-YOUNG; CHO, JE-YOEL. Proteomics analysis of human dentin reveals distinct protein expression profiles. **J. Proteom. Res.** v. 8, p. 1338-1346, 2009.

PARKAR, M. H.; KURU, L.; GIOUZELI, M et al. Expression of growth-factor receptors in normal and regenerating human periodontal cells. **Arch. Oral Biol.** v. 46, p. 275-284, 2001.

PARKER, R. J.; HARRIS, E. F. Directions of orthodontic tooth movements associated with external apical root resorption of the maxillary incisors. **Am. J. Orthod. Dentofac.** v. 114, p. 677-683, 1998.

PEREIRA, O. A.; MATARAZZO, F.; SONOHARA, M. Y.; HIDALGO, M. M. A dentina humana e a liberação de citocinas. In: XI ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002.

PIZZO, G.; LICATA, M. E.; GUIGLIA, R.; GIULIANA, G. Root resorption and orthodontic treatment. **Minerv. Stomatol.** v. 56, n. 1-2, p. 31-44, 2007.

QIN, C.; BRUNN, J. C.; CADENA, E.; RIDALL, A.; TSUJIGIWA, H.; NAGATSUKA, H.; NAGAI, N.; BUTLER, W. T. The expression of dentin sialophosphoprotein gene in Bone. **J. Dent. Res.** v. 81, n. 6, p. 392-394, 2002.

QIN, C.; BRUNN, J. C.; BABA, O.; WYGANT, J. N.; MCINTYRE, B. W.; BUTLER, W.T. Dentin sialoprotein isoforms: detection and characterization of a high molecular weight dentin sialoprotein. **Eur. Oral Sci.** v. 111, p. 235-242, 2003.

QIN, C.; BABA, O.; BRUNN, J. C.; MCKEE, M. D.; BONEWALD, L.; BUTLER, W. T. **Dentin matrix protein 1 (DMP 1) and dentin sialophosphoprotein (DSPP) share unique properties including tissue localization, proteolytic processing and high molecular weight forms.** In: PROCEEDINGS OF THE 8th IC-CBMT, 2005, Canadá. Banff, Alberta, Canadá: University of Toronto Press. p. 174-177, 2005.

QIN, C.; HUANG, B.; WYGANT, J. N.; MCINTYRE, B. W.; MCDONALD, C. H.; COOK, R. G.; BUTLER, W. T. A chondroitin sulfate chain attached to the bone dentin matrix protein 1 nh2- terminal fragment. **J. Biol. Chem.** v. 281, p. 8034-8040, 2006.

RAMANATHAN, C.; HOFMAN, Z. Root resorption in relation to orthodontic tooth movement. **Acta Medica.** v. 49, n. 2, p. 91-5, 2006.

RAMOS, S. P. **Resposta imune humoral contra antígenos dentinários em pacientes com reabsorção dentária submetidos a tratamento ortodôntico.** Tese de doutorado em Ciências da Saúde - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

RAZZOUK, S.; BRUNN, J. C.; QIN, C. Osteopontin posttranslational modifications, possibly phosphorylation, are required for in vitro bone resorption but not osteoclast adhesion. **Bone.** v. 30, p. 40-47, 2002.

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

ROBERTS-CLARK, D. J.; SMITH, A. J. Angiogenic growth factors in human dentine matrix. **Arch. Oral Biol.** v. 45, p. 1013-1015, 2000.

ROBEY, P. G. Vertebrate mineralized matrix proteins: structure and function. **Connect. Tissue Res.** v. 35, p. 131-136, 1996.

SAMESHIMA, G. T.; SINCLAIR, P. M. Predicting and preventing root resorption: Part I. Diagnostic factors. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.** v. 119, n. 5, p. 505-510, May 2001.

SAMESHIMA, G. T.; SINCLAIR, P. M. Characteristics of patients with severe root resorption. **Orthod. Craniofac. Res.** v. 7, p. 108-114, 2004.

SANTAMARIA JUNIOR, M. **Biologia da Movimentação dentária induzida e das reabsorções radiculares associadas – Influência do gênero e dos bisfosfonatos.** Tese de doutorado em Patologia Bucal. Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SANTOS, E. C. A.; LARA, T. S.; ARANTES, F. M.; COCLETE, G. A.; SILVA, R. S. Análise radiográfica computadorizada da reabsorção radicular apical após a utilização de duas mecânicas ortodônticas. **Dent. Press Ort. e Ortop. Fac.** v. 12, n. 1, p. 48-55, Jan/Feb 2007.

SCHITTEK, B.; RAJEWSKY, K. Maintenance of B-cell memory by long-lived cells generated from proliferating precursors. **Nature,** v. 346, p. 749-751, 1990.

SEGAL, G. R.; SCHIFFMAN, P. H.; TUNCAY, O. C. Meta analysis of the treatment-related factors of external apical root resorption. **Orthod. Craniofacial Res.** v. 7, p. 71-78, 2004.

SCHEVEN, B. A. A.; MARSHALL, D.; ASPDEN, R. M. In vitro behaviour of human osteoblasts on dentin and bone. **Cell Biol. Int.** v. 26, p. 337-346, 2002.

SEPTIER, D.; HALL, R. C.; LLOYD, D.; EMBERY, G; GOLDBERG, M. Quantitative immunohistochemical evidence of a functional gradient of chondroitin 4- sulphate dematan sulphate, developmentally regulated in the predentine of rat incisor. **Histochem. J.** v. 30, n. 40, p. 275-284, 1998.

SILVA, T. A.; LARA, V. S.; SILVA, J. S.; GARLET, G. P.; BUTLER, W. T.; CUNHA, F. Q. Dentin sialoprotein and phosphoprotein induce neutrophil recruitment: a mechanism dependent on IL-1 β , TNF- α and CXC chemokines. **Calcif. Tissue Int.** v. 74, p. 532-541, 2004.

SILVA, T. A.; ROSA, A. S.; LARA, V. S. Dentin matrix proteins and soluble factors: intrinsic regulatory signals for healing and resorption of dental and periodontal tissues? **Oral Diseases.** v. 10, p. 63-74, 2004.

SILVA FILHO, O. G. et al. Estimativa da reabsorção radicular em 50 casos ortodônticos bem finalizados. **Ortodontia.** v. 26, n. 1, p. 24-37, 1993.

SILVA FILHO, O. G.; LARA, T. S.; ALMEIDA, A. M.; SILVA, H. C.; SÁNCHEZ, J. F. Identificação anatômica de estruturas do maxilar mediante 2 métodos de diagnóstico. Radiografia e tomografia computadorizada. Estudo comparativo. **Ver. Esp. Ortod.** v. 35, p. 55-68, 2005.

SLIFKA, M. K.; ANTIA, R.; WHITMIRE, J. K.; AHMED, R. Humoral immunity due to long-lived plasm cells. **Imunity.** n. 8, p. 363-372, 1998.

SMITH, A. J.; LESOT, H. Induction and regulation of crown dentinogenesis: embryonic events as a template for dental tissue repair? **Crit. Ver. Oral Biol. Med.** v. 12, p. 425-437, 2001.

SIQUEIRA JUNIOR, F. J.; DANTAS, C. J. S. **Mecanismos celulares e moleculares da inflamação.** Rio de Janeiro: Medsi. Cap.3. p. 153-196, 2000.

SOARES, I. J. et al. **Odontologia: endodontia, trauma.** São Paulo: Artes Médicas, 2002.

STEINFORT, J.; STADT, R.; BEERTSEN, W. Identification of new rat dentin proteoglycans utilizing C18 chromatography. **J. Biol. Chem.** v. 269, n. 35, p. 22397-22404, 1994.

TAKAGE, Y; VEIS, A. Isolation of phosphophorin from human dentin organic matrix. **Calcif. Tissue Int.**, v. 36, n. 1, p. 259-265, Jan. 1984.

TAKATA, T.; D'ERRICO, J. A.; ATKINS, K. B. et al. Protein extracts of dentin affect proliferation and differentiation of osteoprogenitor cells in vitro. **J. Periodontol.** v. 69, p. 1247-1255, 1998.

TALIC, N. F.; EVANS, C. A.; DANIEL, J. C.; ZAKI, A. E. Proliferation of epithelial rests of Malassez during experimental tooth movement. **Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.**, v. 123, p. 527-533, 2003.

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

TENORIO, D.; FOYLE, D. M.; HUGHES, F. J. The modulatory role of cementum matrix on osteoblastic cells in vitro. **J. Period. Res.** v. 32, p. 362-374, 1997.

TROPE, M. Cervical root resorption. **J. Am. Dent. Assoc.** 128: 56S-59S. Special Suppl. Apr. 1997.

XIAO, S.; YU, C.; CHOU, X.; YUAN, W.; WANG, Y.; BU, L. Dentinogenesis imperfecta 1 with or without progressive hearing loss is associated with distinct mutations in DSPP. **Nat. Genet.** v. 27, p. 201-204, 2001.

TYROVOLA, J. B.; SPYROPOULOS, M. N. Effects of drugs and systemic factors on orthodontic treatment. **Quintessence Int.** v. 32, p. 365-371, 2001.

WHAL, S. M.; COSTA, G. L.; MIZEL, D. E. et al. Role of transforming growth beta in pathophysiology of chronic inflammation. **J. Periodontol.** v. 64, p. 450-455, 1993.

WHEELER, T. T.; STROUP, S. E. Traumatic root resorption in dentine-immunized mice. **AM. J. Orthod. Dentofacial Orthop.** v. 104, n. 4, p. 352-357, Apr, 1993.

WOEFEL, J. B. **Dental anatomy**: its relevance to dentistry. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1990.

YAMAKOSHI, Y. Dentin sialophosphoprotein (DSPP) and dentin. **J. Oral Biosci.** v. 50, n. 1, p. 33-44, 2008.

Livros Grátis

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

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

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

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

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