

Marcio Salazar

Influência do alendronato de sódio na
movimentação dentária induzida em ratas
ovariectomizadas

Araçatuba - SP

2012

Marcio Salazar

“Influência do alendronato de sódio na
movimentação dentária induzida em ratas
ovariectomizadas”

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
do Câmpus de Araçatuba, Universidade
Estadual Paulista – UNESP, para a obtenção do
Grau de “Doutor em Odontologia” – Área de
Ortodontia.

Orientador: Prof. Adj. Osmar Aparecido Cuoghi

Co-orientadora: Profa. Dra. Luzmarina Hernandes

Araçatuba - SP

2012

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S161i Salazar, Marcio.
Influência do Alendronato de Sódio na movimentação dentária induzida em ratas ovariectomizadas / Marcio Salazar. -Araçatuba : [s.n.], 2012
43f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Adj. Osmar Aparecido Cuoghi
Co-orientadora: Profa. Dra. Luzmarina Hernandes

1. Movimentação dentária 2. Ovariectomia 3. Alendronato de Sódio 4. Osteoporose

Black D4
CDD 617.643

Dados Curriculares

Marcio Salazar

| | |
|-------------|--|
| NASCIMENTO | 20 de Setembro 1979 Maringá - Paraná |
| FILIAÇÃO | Miguel Angel Salazar Tellez Maria Neide Salazar |
| 1998 – 2003 | Curso de Graduação em Odontologia Universidade Estadual de Maringá– UEM |
| 2002- 2004 | Aperfeiçoamento em Ortodontia e Ortopedia Facial Associação Maringaense de Odontologia – AMO |
| 2005- 2008 | Especialização em Ortodontia Universidade Estadual de Maringá– UEM |
| 2007- 2009 | Mestrado em Ciências da Saúde Universidade Estadual de Maringá– UEM |
| 2009- 2012 | Doutorado em Ortodontia Faculdade de Odontologia de Araçatuba Universidade Estadual Paulista - UNESP |

Dedicatória

A Deus pela graça de ter me permitido concluir este trabalho. Obrigado por ter sempre colocado em meu caminho pessoas maravilhosas que me deram seu apoio e carinho e fizeram-me sentir que era parte das suas vidas.

A minha família por sempre estar ao meu lado. Em especial aos meus pais Miguel e Neide minha base e exemplo que me proporcionaram uma vida digna onde eu pudesse crescer, acreditando que tudo é possível, desde que sejamos honestos e íntegros de caráter e que sonhar e concretizar os sonhos só depende de nossas vontades.

A minha irmã Bianca uma conselheira, uma amiga, e acima de tudo uma grande mulher que junto com meu cunhado Jean me deram um grande presente, uma benção de Deus meu afilhado Davi. Obrigado por estarem presentes em todos meus momentos.

Dedicatória

A minha esposa Brunamélia pelo amor, carinho, compreensão.

Sempre me apoiando e incentivando em todos meus momentos.

Obrigado por fazer parte dos meus sonhos.

Obrigado por não medir esforços e me ajudar na realização desta pesquisa.

Com amor, admiração e gratidão por toda sua dedicação...

Amo você....

Agradecimento

Ao meu orientador Prof. Dr. Osmar Aparecido Cuoghi pelos conhecimentos transmitidos contribuindo para minha formação, obrigado pela confiança depositada.

A minha co-orientadora Profa. Dra. Luzmarina Hernandez que me acompanhou durante toda minha formação desde a especialização até o Doutorado, obrigado por estar sempre à disposição.

Ao Prof. Dr. Adilson Luiz Ramos que despertou em mim o entusiasmo pela Ciência, me impulsionando a fazer o mestrado e doutorado, minha eterna gratidão e admiração.

Agradecimento Especial

Aos Professores do Departamento de Ortodontia

Aos Professores Doutores MARCOS ROGÉRIO DE MENDONÇA, EDUARDO CÉSAR ALMADA SANTOS, FRANCISCO ANTÔNIO BERTOZ E OSMAR APARECIDO CUOGHI, pelos ensinamentos sabidamente transmitidos, pelo incentivo para pesquisa, pelo apoio e amizade constantes durante todo o curso.

Agradecimento Especial

Aos meus amigos da pós-graduação: Pedro, Aiello, Yesselin, Laércio, Zé Roberto, Derly, Carla, Lídia, Kelly, Ana, Juliana, Aubrey, Renato, Éverton. Obrigado pela amizade troca de experiências profissionais e pessoais, e por todos os ótimos momentos de convívio e colaboração.

A minha amiga kelly que me ajudou a tornar possível a realização desta pesquisa.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista – UNESP/Araçatuba “Júlio de Mesquita Filho”, representada pela Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Professora Doutora Maria José Hitomi Nagata, pela oportunidade de participar do Curso de Doutorado em Odontologia – Área de Ortodontia.

A todos os Professores que ministraram as disciplinas do tronco comum deste curso, meu profundo respeito e gratidão.

Aos funcionários do Departamento de Ortodontia, Ilídio e Bertolina e aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, Valéria, Cristiane e Lilian, que sempre me ajudaram com muito carinho, pela presteza, atenção e disponibilidade.

Aos funcionários do departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, Dirce e Gilmar que me ajudaram na confecção das laminas.

Salazar M. Influência do alendronato de sódio na movimentação dentária induzida em ratas ovariectomizadas. [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista – UNESP; 2012.

RESUMO

Introdução: O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do bisfosfonato (alendronato de sódio) nos tecidos periodontais submetidos à movimentação dentária induzida, em ratas com osteoporose, após ovariectomia. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) fêmeas, com 8 semanas de idade. Os animais foram divididos em 4 grupos (n=12/grupo): Grupo OVX: ratas ovariectomizadas; Grupo OVX + ALN1: ratas ovariectomizadas tratadas com alendronato de sódio 1mg/kg; Grupo OVX + ALN2: ratas ovariectomizadas tratadas com alendronato de sódio 2mg/kg e Grupo C: controle, ratas falso operadas. Três meses após a ovariectomia os animais foram submetidos à movimentação do primeiro molar superior direito por 5 e 7 dias. Após a eutanásia dos animais, as maxilas foram removidas e processadas para avaliação microscópica. O primeiro molar superior esquerdo foi utilizado como controle sem movimentação em todos os grupos. As amostras foram processadas para análise do osso alveolar e quantificação da movimentação dentária. **Resultados:** Houve movimentação significativa após 5 e 7 dias ($P<0.05$) em todos os grupos em comparação aos lados sem movimentação. Entretanto, no grupo ovariectomizado houve maior quantidade de movimentação dentária induzida comparado aos outros grupos, com resultado estatisticamente significativo somente aos 7 dias. **Conclusão:** O alendronato de sódio na dosagem empregada diminuiu a quantidade de movimentação dentária induzida em comparação ao grupo OVX, sendo similar ao grupo controle.

Palavras-Chaves: Movimentação dentária, Ovariectomia, Alendronato de Sódio, Osteoporose.

Salazar M. Influence of alendronate sodium on induced tooth movement in ovariectomized rats. [these]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista – UNESP; 2012.

ABSTRACT

Introduction: The aim of this study was to evaluate the effect of bisphosphonate (alendronate sodium) in periodontal tissues subjected to forces of induced tooth movement in rats with osteoporosis, after ovariectomy. **Methods:** Wistar rats (*Rattus norvegicus*) female, 8 weeks old. The animals were divided into 4 groups (n = 12/grupo): OVX group, ovariectomized rats, Group OVX + ALN1: ovariectomized rats treated with Alendronate sodium (1mg/Kg) Group OVX + ALN2: ovariectomized rats treated with Alendronate sodium (2mg/Kg) and Group C: control rats false operated. Three months after ovariectomy the animals were subjected to movement of the maxillary right first molar for 5 and 7 days. After the death of animals, the jaws were removed and processed for microscopic evaluation. The first molar upper left was used as control without movement in all groups. The samples were processed for the quantification of alveolar bone and tooth movement. **Results:** There was significant movement after 5 and 7 days ($P < 0.05$) in all groups compared to the sides without moving. However, in the ovariectomized group showed higher amount of induced tooth movement compared to other groups, but statistically significant only at 7 days. **Conclusion:** Alendronate sodium dosage employed decreased the amount of induced tooth movement compared to the OVX group, being similar to the control group

Key-words: Tooth movement, Ovariectomy, Alendronate Sodium, Osteoporosis.

Lista de Figuras

| Número | Legenda | Página |
|---------------|---|---------------|
| Figura 1 | Dispositivo mecânico instalado em rata Wistar, com mola de níquel-titânio, ancorado no incisivo superior direito para obter a mesialização do primeiro molar superior direito. | 30 |
| Figura 2 | Corte microscópico da maxila de rata Wistar ilustrando o primeiro (M1) e segundo (M2) molares superiores. As barras entre M1 e M2 representam as três medidas da distância interdentária. Aumento original 4x. H&E. | 31 |
| Figura 3 | Corte microscópico do primeiro molar superior de rata Wistar. O contorno representa o limite estabelecido entre as raiz mesial e distal. A seta indica o sentido da força aplicada. Aumento original 2x. H&E. | 32 |
| Figura 4 | Representação das telas do <i>software</i> Image Pro Plus®, versão 4.5 ilustrando as medidas do osso inter-radicular do primeiro molar superior. (A) Demonstrando as delimitações das áreas das cavidades ósseas. | 33 |
| Figura 5 | Distância entre o primeiro e segundo molar superior dos grupos controle, ovariectomizado (OVX), ovariectomizado tratados com alendronato de sódio (OVX+ALN1 e ALN2) sem e com movimentação dentária por 5 e 7 dias. Aumento significativo da distância para o grupo OVX em relação aos demais grupos após 7 dias $P < 0,05$, (n= 6/tempo/grupo). ANOVA, pos-teste Tukey. | 34 |

Lista de Tabelas

| Número | Legenda | Página |
|---------------|--|---------------|
| Tabela I | Peso médio (gramas) \pm desvio padrão dos animais dos grupos controle, ovariectomizado (OVX) e ovarietomizado tratados com alendronato de sódio (OVX+ ALN1 e ALN2) do início do experimento, após 30, 60 e 90 dias. *P<0,05 comparado com ** (n= 6/tempo/grupo). ANOVA, pos-teste Tukey. | 35 |
| Tabela II | Distância média (μm) \pm desvio padrão entre o primeiro e o segundo molar superior nos grupos controle, ovariectomizado (OVX) e ovarietomizado tratados com alendronato de sódio (OVX + ALN1 e ALN2) sem e com movimentação dentária por 5 e 7 dias. *P<0,05 comparado com ** (n= 6/tempo/grupo). ANOVA, pos-teste Tukey. | 36 |
| Tabela III | Porcentagem média \pm desvio padrão de osso inter-radicular do primeiro molar superior nos grupos controle, ovariectomizado (OVX) e ovarietomizado tratados com alendronato de sódio (OVX+ ALN1 e ALN2) sem e com movimentação por 5 e 7 dias (n= 6/tempo/grupo). *P<0,05 comparado com **. ANOVA, pos-teste Dunnet. | 37 |

Lista de Abreviaturas

| | |
|----------------|---|
| ANOVA | - Análise de Variância. |
| cN | - Centinewton: equivalente à centésima parte do Newton. |
| g | - Grama: unidade de medida de massa. |
| C | - Grupo Controle |
| OVX | - Grupo Ovariectomizado. |
| OVX+ALN | - Grupo Ovariectomizado + Alendronato de sódio. |
| Kg | - Quilograma. |
| MDI | - Movimentação dentária induzida. |
| ml | - Mililitro: equivalente à milésima parte do litro. |
| mm | - Milímetro: equivalente à milésima parte do metro. |
| M1 | - Primeiro Molar. |
| M2 | - Segundo Molar. |
| EDTA | - Ácido etilenodiamino tetra-acético |
| mg | - Miligrama: equivalente à milésima parte da grama |
| Fig | - Figura. |
| H&E | - Hematoxilina - Eosina |
| µm | - Micrômetro: equivalente à milionésima parte do metro. |

Sumário

| | | Página |
|---|--------------------------|---------------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 20 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODO | 21 |
| 3 | RESULTADOS | 23 |
| 4 | DISCUSSÃO | 23 |
| 5 | CONCLUSÃO | 26 |
| | REFERÊNCIAS | 27 |
| | ANEXOS | 38 |

De acordo com as normas do *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* (Anexo B).

TÍTULO:

Influência do alendronato de sódio na movimentação dentária induzida em ratas ovariectomizadas.

AUTORES:

Marcio Salazar – Doutorando em Ortodontia pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

Osmar Aparecido Cuoghi – Professor Adjunto do Departamento de Odontologia Infantil e Social, Disciplina de Ortodontia Preventiva, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

Luzmarina Hernandes – Professora Associada do Departamento de Ciências Morfológicas, Área de Embriologia e Histologia, da Universidade Estadual de Maringá-UEM

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Osmar Aparecido Cuoghi

Departamento de Odontologia Infantil e Social - Disciplina de Ortodontia Preventiva

Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP

Rua José Bonifácio, 1193

Caixa Postal 341

CEP – 16015-050

Araçatuba – São Paulo

e-mail: osmar@foa.unesp.br

Telefone: 018-36363236

RESUMO

Introdução: O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do bisfosfonato (alendronato de sódio) nos tecidos periodontais submetidos à movimentação dentária induzida, em ratas com osteoporose, após ovariectomia. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) fêmeas, com 8 semanas de idade. Os animais foram divididos em 4 grupos (n=12/grupo): Grupo OVX: ratas ovariectomizadas; Grupo OVX + ALN1: ratas ovariectomizadas tratadas com alendronato de sódio 1mg/kg; Grupo OVX + ALN2: ratas ovariectomizadas tratadas com alendronato de sódio 2mg/kg e Grupo C: controle, ratas falso operadas. Três meses após a ovariectomia os animais foram submetidos à movimentação do primeiro molar superior direito por 5 e 7 dias. Após a eutanásia dos animais, as maxilas foram removidas e processadas para avaliação microscópica. O primeiro molar superior esquerdo foi utilizado como controle sem movimentação em todos os grupos. As amostras foram processadas para análise do osso alveolar e quantificação da movimentação dentária. **Resultados:** Houve movimentação significativa após 5 e 7 dias ($P<0.05$) em todos os grupos em comparação aos lados sem movimentação. Entretanto, no grupo ovariectomizado houve maior quantidade de movimentação dentária induzida comparado aos outros grupos, com resultado estatisticamente significativo somente aos 7 dias. **Conclusão:** O alendronato de sódio na dosagem empregada diminuiu a quantidade de movimentação dentária induzida em comparação ao grupo OVX, sendo similar ao grupo controle.

Palavras-Chaves: Movimentação dentária, Ovariectomia, Alendronato de Sódio, Osteoporose.

1. Introdução

O tratamento ortodôntico tornou-se mais acessível à população, bem como o aumento da expectativa de vida e a busca pela estética tem conduzido para um maior número de tratamento ortodôntico por adultos. Conseqüentemente, aumenta o risco de pacientes com doenças sistêmicas, decorrentes da idade, presentes nos consultórios ortodônticos, incluindo os pacientes portadores de osteoporose. A necessidade de correções ortodônticas em pacientes com alterações sistêmicas exigem novos conhecimentos acerca da influência da movimentação ortodôntica sobre os tecidos ósseo e dentário.

Clinicamente, a osteoporose pode provocar perda de massa óssea principalmente nos ossos longos e vértebras, podendo também alterar o tecido ósseo da maxila e da mandíbula, envolvido na movimentação dentária.¹⁻³

Alguns medicamentos administrados de forma sistêmica podem interferir nos tratamentos ortodônticos por agirem na osteogênese ou nos elementos do periodonto de inserção.^{4,5}

Os bisfosfonatos estão entre os medicamentos mais indicados na clínica médica para o tratamento de estados osteopênicos e osteoporóticos.⁶ Dentre os bisfosfonatos o amino-bisfosfonato alendronato de sódio (ALN), é um dos mais utilizados, pois apresenta um alto potencial de inibição da reabsorção óssea.^{7,8} Este composto apresenta uma forte afinidade pelo cálcio circulante e das superfícies ósseas.⁹ Inibe a atividade enzimática nos osteoclastos, impedindo a dissolução óssea e a degradação do colágeno, permanecendo no osso por muitos anos.⁹ Ao ser transportado juntamente com os componentes isolados do osso, através do citoplasma dos clastos, o ALN induz eventos bioquímicos capazes de iniciar a morte celular programada destas células.¹⁰⁻¹² Desta forma, os bisfosfonatos contribuem no controle de um *turnover* ósseo, prevenindo a osteopenia e a osteoporose.

Em relato de casos clínicos de pacientes submetidos a tratamentos com bifosfonatos por longo período tem se observado menores taxas de movimentação dentária, dificultando o tratamento ortodôntico.^{13,14}

Há poucas evidências demonstrando se medicamentos utilizados sistemicamente no tratamento de osteopenia e osteoporose, interferem na movimentação dentária, haja vista que alteram o metabolismo ósseo.^{4,5,15} Considerando que o alendronato de sódio é um dos medicamentos comercialmente disponíveis, mais utilizados no tratamento da

osteoporose, este trabalho avaliou seu efeito sobre a movimentação ortodôntica induzida, em modelo experimental de ratas ovariectomizadas.

2. Material e Métodos

Todos os procedimentos envolvendo o uso de animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) Campus de Araçatuba (protocolo 2011-03696).

Foram utilizadas 48 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), fêmeas, com 8 semanas de idade. As ratas foram anestesiadas, via intramuscular, com uma associação de cloridrato de xilazina 8mg/kg (Anasedan Agribrands do Brasil Ltda., Paulínia, SP, Brasil) e cloridrato de ketamina 70mg/kg (Dopalen Sespo Ind. e Com. Ltda., Jacareí, SP, Brasil), para a realização de laparotomia bilateral e remoção dos ovários. Os animais foram divididos em 4 grupos (n=12/grupo). Grupo OVX: ratas ovariectomizadas; Grupo OVX + ALN1: ratas ovariectomizadas tratadas com alendronato de sódio 1mg/kg; Grupo OVX + ALN2: ratas ovariectomizadas tratadas com alendronato de sódio 2mg/kg e Grupo C: controle, ratas falso operadas.

Durante 90 dias subsequentes à cirurgia, os animais do grupo OVX + ALN1 e ALN2 receberam uma injeção subcutânea de alendronato de sódio (DEG “Importação de produtos químicos LTDA”, Índia) na proporção de 1mg/Kg e 2mg/Kg respectivamente 2 vezes por semana em dias alternados.¹⁶ Durante todo o procedimento experimental os animais foram mantidos em biotério com ciclo de claro-escuro de 12 horas, temperatura 20°C, ração e água *ad libitum*.

Após 3 meses, os animais foram anestesiados via intramuscular com uma associação de cloridrato de xilazina 8mg/kg e cloridrato de ketamina 70mg/kg para a instalação de um dispositivo mecânico para movimentação dentária. Empregou-se o dispositivo idealizado por Heller e Nanda,¹⁷ modificado pela substituição da mola de aço por níquel-titânio e inserção de resina fotopolimerizável, na região cervical do incisivo para aumentar a retenção do fio. Desta forma o aparelho foi ancorado nos incisivos superiores e no primeiro molar superior direito, produzindo um vetor de mesialização do molar.¹⁵

Na instalação das molas (Sentalloy, GAC, NY, EUA), o primeiro molar superior direito foi envolvido com um fio de aço de 0,20 mm de diâmetro (Morelli, Sorocaba, SP, Brasil), atado a uma mola de secção fechada de 3 mm de comprimento, que libera uma força contínua com magnitude de 50cN.¹⁸⁻²⁰ A mola, distendida 3mm em seu

comprimento, foi amarrada em posição cervical à resina (Z100, 3M, St. Paul, MN, USA) do incisivo superior direito, com fio de aço 0,25 mm de diâmetro (Morelli, Sorocaba, SP, Brasil) (Fig 1).

Os animais dos quatro grupos foram submetidos a eutanásia com sobre dose de ketamina 5 dias ou 7 dias após a colocação do aparelho (n=6 animais/tempo/grupo).^{21,22} O primeiro molar superior esquerdo de cada animal foi utilizado como controle da movimentação em todos os grupos, pois não recebeu força ortodôntica. Todos os animais foram pesados do início ao final do experimento (tabela I).

As maxilas foram então removidas, dissecadas e imersas em formol 10% por 48 horas. A seguir foram lavadas em água corrente por 24 horas e descalcificadas em solução de E.D.T.A 18% por 6 semanas. Posteriormente foram desidratadas, clarificadas e incluídas em parafina. Foram feitos cortes semi seriados de 7 μ m no sentido longitudinal ao longo do maior eixo dos dentes molares superiores. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina.

Para o estudo histomorfométrico foram capturadas imagens dos cortes histológicos em microscópio óptico BX41 (Olympus, Tóquio, Japão) com câmera acoplada QColor3 (Olympus Tóquio, Japão). As medidas foram feitas com auxílio do *software* Image Pro Plus®, versão 4.5 (Media Cybernetics, USA).

Para as análises de distância de movimentação e quantificação de osso foram selecionados 2 cortes por lamina, em 3 lâminas/animal/tempo de movimentação.

Para quantificar a movimentação do primeiro molar, imagens dos cortes dos primeiros e segundos molares foram capturadas com objetiva de 4x. Com a obtenção das imagens foram mensuradas a menor distância entre a distal do primeiro molar e a mesial do segundo molar. Para garantir que fosse obtida a menor distância, foram realizadas três medidas por corte, descartando-se as duas maiores (Fig 2). Os resultados são apresentados como média (μ m) \pm erro padrão.

Para quantificar o tecido ósseo, os cortes histológicos foram capturados com a objetiva de 2x. Foi delimitado uma área de tecido ósseo entre a raiz mesial e distal do primeiro molar superior da região da crista alveolar até o terço médio das raízes, contornando-se o osso marginal ao ligamento periodontal (Fig 3).

Inicialmente foi determinada a área total delimitada. Foi considerada como área total a área ocupada por osso alveolar maxilar incluindo-se as cavidades ósseas preenchidas por tecido hematopoiético.

Finalmente, para a determinação da área ocupada exclusivamente por tecido ósseo, as cavidades ósseas foram medidas, suas áreas foram somadas e o resultado foi subtraído da área óssea total obtida anteriormente (Fig 4).

Os resultados foram expressos como a proporção da área ocupada por tecido ósseo em relação à área total por meio de valores percentuais.

Os resultados foram analisados com o *software* Graph Pad Prism R 3.1. Foi aplicado o teste não paramétrico ANOVA *one-way*. O nível de significância adotado para todos os testes foi $P < 0,05$.

3. Resultados

A Tabela II representa a distância média entre o primeiro e segundo molar dos quatro grupos estudados, nos 3 tempos analisados: sem movimentação, e com 5 e 7 dias após a movimentação dentária.

Em todos os grupos observou-se um maior grau de movimentação, após 5 e 7 dias em comparação ao período sem movimentação ($P < 0,05$). Entretanto no grupo ovariectomizado observou-se um maior grau de movimentação em relação aos demais, sendo essa diferença estatisticamente significativa somente aos 7 dias.

A Tabela III apresenta os resultados referentes à porcentagem de osso inter-radicular. No período sem movimentação observou-se uma maior porcentagem de osso no grupo controle e uma menor no grupo ovariectomizado, sendo esta diferença estatisticamente significativa. Após 5 dias de movimentação houve uma diminuição na porcentagem óssea em relação ao período sem movimentação nos quatro grupos. Já no período de 7 dias a porcentagem de osso voltou a subir em todos os grupos, sendo maior nos grupos tratados com ALN e menor no grupo ovariectomizado.

4. Discussão

O modelo experimental mais utilizado na pesquisa de movimentação dentária induzida utiliza os molares de ratos Wistar, da linhagem *Rattus norvegicus*,^{15,17,23-25} que também permite avaliar as alterações ósseas decorrentes de distúrbios sistêmicos e medicamentosos associados ao tratamento de outras doenças.¹⁶ Os molares murinos não apresentam rizogênese contínua e essa característica, associada à morfologia radicular favorável, permitem a extrapolação dos resultados para humanos, considerando-se as limitações inerentes a qualquer metodologia em animal experimental.^{26,27}

A ovariectomia simula a perda de massa óssea decorrente da carência de estrógenos, mimetizando a osteoporose feminina, pós-menopáusicas.^{25,28} Após três meses da remoção dos ovários ocorre uma significativa perda de massa óssea no fêmur de ratas,²⁵ e apesar dos ossos da face apresentarem um *turnover* mais lento, a partir de 2²⁹ a 3³⁰ meses a maxila de ratas também é afetada de forma significativa. A literatura tem mostrado que a remoção de estrógeno está relacionada a aumento da ingestão de alimentos e aumento de peso em roedores.^{31,32} O aumento de peso decorrente da hiperfagia causada pela ovariectomia ocorre tanto na massa magra, quanto no tecido gorduroso dos animais.³¹ Assim, o sucesso da ovariectomia em reduzir os níveis de hormônios ovarianos em nosso trabalho pode ser avaliado através das alterações de peso corporal dos animais, onde foi observado um aumento de peso significativo dos animais ovariectomizados comparado ao grupo controle nos períodos de 60 e 90 dias (tabela I).

No presente estudo todos os grupos apresentaram progressivamente maior movimentação, após 5 e 7 dias em comparação ao período inicial ($P < 0.05$). Entretanto, os animais ovariectomizados que não receberam tratamento medicamentoso apresentaram maior distância interdentária aos 5 e 7 dias, comparado aos demais grupos ($p < 0,05$ aos 7 dias). A supressão da produção de estrógeno provocou uma perda de cerca de 10% de osso inter-radicular, três meses após a ovariectomia, sugerindo que essa perda mineral seja a responsável pelo maior grau de movimentação dentária nos animais ovariectomizados que não receberam ALN.

O ALN é altamente eficaz na prevenção da perda óssea associada à ausência de estrógeno endógeno induzindo a um aumento mantido na massa óssea durante a terapia em animais. Similarmente em humanos promovem a recuperação da densidade mineral, por meio de sua ação inibidora sobre os osteoclastos.³³ Desta forma, com o processo de remodelação em equilíbrio, há uma diminuição da atividade osteoclástica, sem interferir diretamente na atividade neoformadora.³⁴ Esta diminuição da atividade osteoclástica deve ter sido a responsável pelo menor grau de movimentação dentária dos grupos OVX+ALN1 e ALN2 em comparação com o grupo OVX (Fig 5, tabela II).

Convém salientar que neste estudo a dosagem padronizada foi baseada nas marcas comerciais mais comuns e ensaios clínicos de alendronato de sódio que preconizam 1 ou 2 comprimidos de 70mg/semana para um adulto de 70 kg, ou seja 1mg/kg e 2mg/kg semanalmente. Como o índice metabólico do rato é próximo a 2 vezes mais veloz do que a do homem, foi utilizada a mesma dosagem 1mg/Kg e 2mg/Kg, porém duas vezes por semana.¹⁶ Os ratos passaram a receber as injeções logo após a ovariectomia, e ambas as dosagens de ALN mostraram-se eficaz no controle da perda

mineral, tendo apresentado movimentação comparável ao grupo controle movimentado (Fig 5). Num estudo recente, duas dosagens também foram testadas e houve menor movimentação ortodôntica diante de maior dosagem de bisfosfonato.⁵ O presente estudo não confirmou esta diferença no tempo experimental avaliado, sob as dosagens aplicadas.

O tratamento com bisfosfonatos por curtos períodos de até 21 dias, parecem não influenciar na qualidade ou quantidade de movimento dentário induzido em comparação a controles,³⁵ assim como observado no presente estudo. Entretanto, tem sido demonstrado que pacientes submetidos a tratamento com bisfosfonatos por períodos mais longos podem apresentar menores taxas de movimentação dentária, dificultando o tratamento ortodôntico.^{13,14} Igualmente em estudos em ratos de maior tempo de observação (2 a 4 semanas) houve menor movimentação sob ação do ALN.^{5,36} No curto período do presente estudo, embora os resultados tenham mostrado uma tendência a menor quantidade de movimentação nos grupos tratados com ALN, essa diferença não foi estatisticamente significativa em relação ao grupo controle não ovariectomizado. Com o tempo, as moléculas de bisfosfonato incorporam-se na matriz óssea tornando o *turnover* mais lento, requerendo mais tempo para a sua organização em função da inibição da atividade osteoclástica.³⁷ Nesses indivíduos, portanto, seriam necessários ciclos mais longos de reativação para que ocorra a dissipação da força, caso contrário, poderiam ocorrer grandes áreas hialinas por um acúmulo de forças no ligamento periodontal e conseqüentemente o aparecimento de reabsorções radiculares.

Foi demonstrado recentemente que em ratas ovariectomizadas tratadas com um outro medicamento, a teriparatida, não houve alteração na movimentação em relação ao grupo de ratas ovariectomizadas.¹⁵ Embora este medicamento também seja utilizado para o controle do *turnover* ósseo em estados osteopênicos e osteoporóticos, a teriparatida atua aumentando a atividade osteoblástica. Portanto, ao contrário do ALN, a teriparatida não atua diretamente na osteoclasia, que está acelerada, e ocorre maior movimentação dentária em ratas ovariectomizadas tratadas com teriparatida, tanto quanto nas não tratadas¹⁵. Diante da possibilidade de acelerar a movimentação ortodôntica e ao mesmo tempo ter a osteopenia/ osteoporese tratada, sugeriu-se que a teriparatida pudesse ser uma alternativa aos bisfosfonatos, após a devida avaliação e indicação do médico.¹⁵

Visto que a condição de perda de massa óssea interfere nos ossos da maxila, o ortodontista deve verificar se o paciente faz uso de medicamentos para controlar o *turnover* ósseo, e há quanto tempo o faz, uma vez que estes fármacos podem interferir no tempo de tratamento ortodôntico e nos resultados esperados.

5. Conclusão

Considerando-se a metodologia do presente estudo, pode-se concluir que a aplicação de alendronato de sódio diminuiu a quantidade de movimentação dentária em comparação ao grupo ovariectomizado não tratado.

No curto período de administração do bisfosfonato deste estudo, a movimentação dentária nos grupos ovariectomizados sob efeito do alendronato, foi similar ao grupo controle. Desta forma, os pacientes sob a prescrição do alendronato de sódio por períodos curtos podem realizar a movimentação dentária normalmente.

REFERÊNCIAS

1. Brudvik P, Rygh P. Multinucleated cells remove the main hyalinized tissue and start resorption of adjacent root surfaces. *Eur J Orthod* 1994;16:265-73.
2. Davidovitch Z. Tooth movement. *Critic. Rev Oral Biol Med* 1991;2:411-50.
3. Pereira AAC, Taveira LAA. Movimentação dentária induzida e ovariectomia: avaliação microscópica. *Rev FOB* 2000;8:1-7.
4. Choi J, Baek SH, Lee J, Chang Y. Effects of clodronate on early alveolar bone remodeling and root resorption related to orthodontic forces: A histomorphometric analysis. *Am J OrthodDentofacialOrthop* 2010;138:548.e1-548.e8.
5. Karras JC, Miller JR, Hodges JS, Beyer JP, Larson BE. Effect of alendronate on orthodontic tooth movement in rats. *Am J OrthodDentofacialOrthop* 2009;136:843-7.
6. Rosen CJ, Bilezikian JP. Anabolic therapy for osteoporosis: *J ClinEndocrinol Metab* 2001;86:957-64.
7. Iwamoto J, Miyata A, Sato Y, Takeda T, Matsumoto H. Five-year alendronate treatment outcome in older postmenopausal Japanese women with osteoporosis or osteopenia and clinical risk factors for fractures. *TherClin Risk Manag* 2009;5:773-9.
8. Lerner UH. Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res* 2006;85:584-95.
9. Kimmel DB. Mechanisms of action, pharmacokinetic and pharmacodynamic profile, and clinical applications of nitrogen containing bisphosphonates. *J Dent Res* 2007;86:1022-33.
10. Flanagan AM, Chambers TJ. Inhibition of bone resorption by bisphosphonates: interactions between bisphosphonates, osteoclasts, and bone. *Calcif. Tissue Int* 1991;49:407-15.
11. Hughes DE, Wright KR, Uy HL, Sasaki A, Yoneda T, Roodman GD, Mundy GR, Boyce BF. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo. *J Bone Miner Res* 1995;10:1478-87.
12. Russell RGG, Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone* 1999;25:97-106.
13. Zahrowski JJ. Bisphosphonate treatment: An orthodontic concern calling for a proactive approach. *Am J OrthodDentofacialOrthop* 2007;131:311-20.
14. Rinchuse DJ, Rinchuse DJ, Sosovicka MF, Robison JM, Pendleton R. Orthodontic treatment of patients using bisphosphonates: A report of 2 cases. *Am J OrthodDentofacialOrthop* 2007;131:321-26.

15. Salazar M, Hernandes L, Ramos AL, Micheletti KR, Albino CC, Cuman RKN. Effect of teriparatide on induced teeth displacement in ovariectomized rats: a histomorphometric analysis. *Am J OrthodDentofacialOrthop* 2011;139:e337-e344.
16. Consolaro A, Martins-Ortiz MF. Um modelo experimental de movimentação dentária induzida e das reabsorções dentárias associadas. In: Consolaro A, editor. *Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas*. Maringá: Dental Press; 2005. p. 493-21.
17. Heller IJ, Nanda R. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontic tooth movement. An experimental study. *Am J Orthod* 1979;75:239-58.
18. Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. Optimum force magnitude for orthodontic tooth movement: a systemetic literature review. *Angle Orthod* 2003;73:86-92.
19. Maganzini AL, Wong AM, Ahmed MK. Forces of various nickel titanium closed coil springs. *Angle Orthod* 2010;80:182-7.
20. Gameiro GH, Nouer DF, Pereira Neto JS, Siqueira VC, Andrade ED, Novaes PD, Veiga MCF. Effects of short- and long-term celecoxib on orthodontic tooth movement. *Angle Orthod* 2008;78:860-5
21. Akin E, Gurton AU, Olmez H. Effects of nitric oxide in orthodontic tooth movement in rats. *Am J OrthodDentofacialOrthop* 2004;126:608-14.
22. Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. The rat as a model for orthodontic tooth movement: a critical review and a proposed solution. *Eur J Orthod* 2004;26:483-90.
23. Arias MVB, Szejnfeld VL. Modelos animais de osteoporose. *RevBrasReumatol*1997;37:335-38.
24. Paz LHBC, Jorgetti V, Yoshinari NH. Modelos animais de osteoporose. *RevHospClínFacMed S Paulo* 1997;52:86-89.
25. Hernandes L, Ramos A L, Micheletti KR, Santi AP, Cuoghi OA, Salazar M. Densitometry, radiography, and histological assessment of collagen as methods to evaluate femoral bones in an experimental model of osteoporosis. *OsteoporosInt*, 2011.
26. Farris EJ. Breeding of the rat. In: Griffith JQ, Farris EJ, editors. *The rat in laboratory investigation*. 2nded. New York: Hafner, 1963. p. 1-18.
27. Porter G. The Norway rat (*Rattusnorvegicus*). In: Lanne-Petter W, Worden NA, editors. *The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals*. 3rd ed. London: Livingstone; 1967. p. 353-90.

28. Newman E, Turner AS, Wark JD. The potential of sheep for the study of osteopenia: current status and comparison with other animal models. *Bone* 1995;16:277-84.
29. Tanaka M, Ejiri S, Toyooka E, Kohno S, Ozawa H. Effects of ovariectomy on trabecular structures of rat alveolar bone. *J Periodont Res* 2001;37:161-65.
30. Shirai H, Sato T, Oka M, Hara T, Mori S. Effect de calcium supplementation on bone dynamics of the maxilla, mandible and proximal tibia in experimental osteoporosis. *Journal of Oral Rehabilitation* 2001;29:287-94.
31. Chen Y, Heiman ML. Increased weight gain after ovariectomy is not a consequence of leptin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;280:E315-22.
32. Yoneda N, Saito S, Kimura M, Yamada M, Iida M, Murakani T et al. The influence of ovariectomy on ob gene expression in rats. *Horm Metab Res* 1998;30:263-5.
33. Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: mechanisms of action (Perspectives). *J Clin Invest* 1996;97:2692-696.
34. Licata AA. Discovery, clinical development, and therapeutic uses of bisphosphonates. *Ann Pharmacother* 2005;39:668-77.
35. Mazzeiro ET. Bisfosfonato e movimentação dentária induzida: Avaliação microscópica de seus efeitos. 1999. 154 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
36. Igarashi K, Mitani H, Adachi H, Shinoda H. Anchorage and retentive effects of a bisphosphonate (AHBuBP) on tooth movements in rats. *Am J Orthod Dento facial Orthop* 1994;106:279-89.
37. Rodan GA. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocr Rev* 1998;19:80-100.

AGRADECIMENTO

Agradecemos à Fundunesp pelo auxílio concedido a esta pesquisa.

Figura 1- Dispositivo mecânico instalado em rata Wistar, com mola de níquel-titânio, ancorado no incisivo superior direito para obter a mesialização do primeiro molar superior direito.



Figura 2 - Corte microscópico da maxila de rata Wistar ilustrando o primeiro (M1) e segundo (M2) molares superiores. As barras entre M1 e M2 representam as três medidas da distância interdentária. Aumento original 4x. H&E.

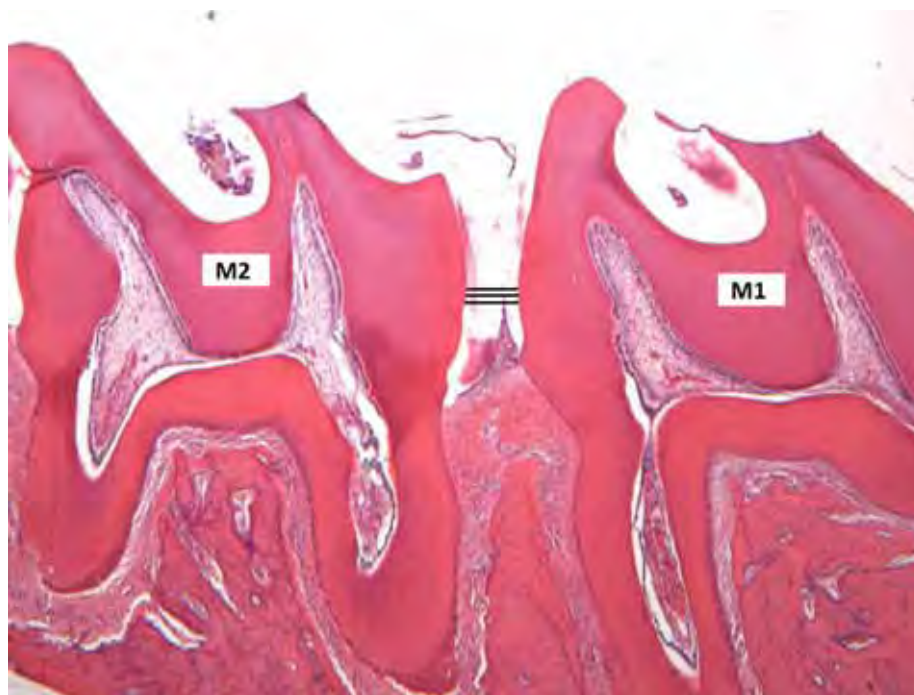


Figura 3 - Corte microscópico do primeiro molar superior de rata Wistar. O contorno representa o limite estabelecido entre as raiz mesial e distal. A seta indica o sentido da força aplicada. Aumento original 2x. H&E.

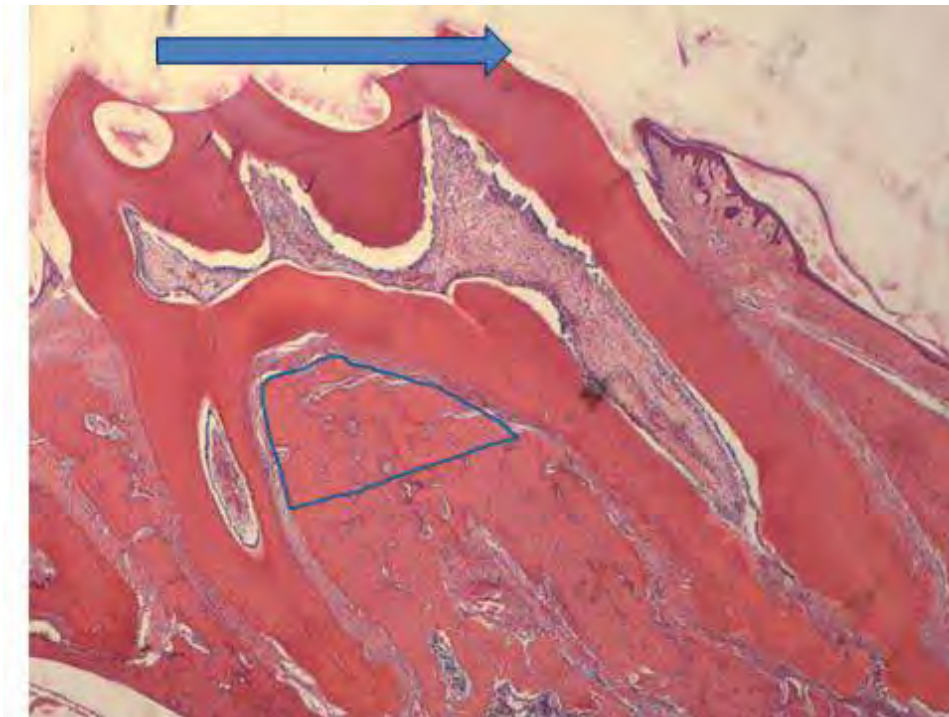


Figura 4 - Representação das telas do *software* Image Pro Plus®, versão 4.5 ilustrando as medidas do osso inter-radicular do primeiro molar superior. (A) Demonstrando as delimitações das áreas das cavidades ósseas.

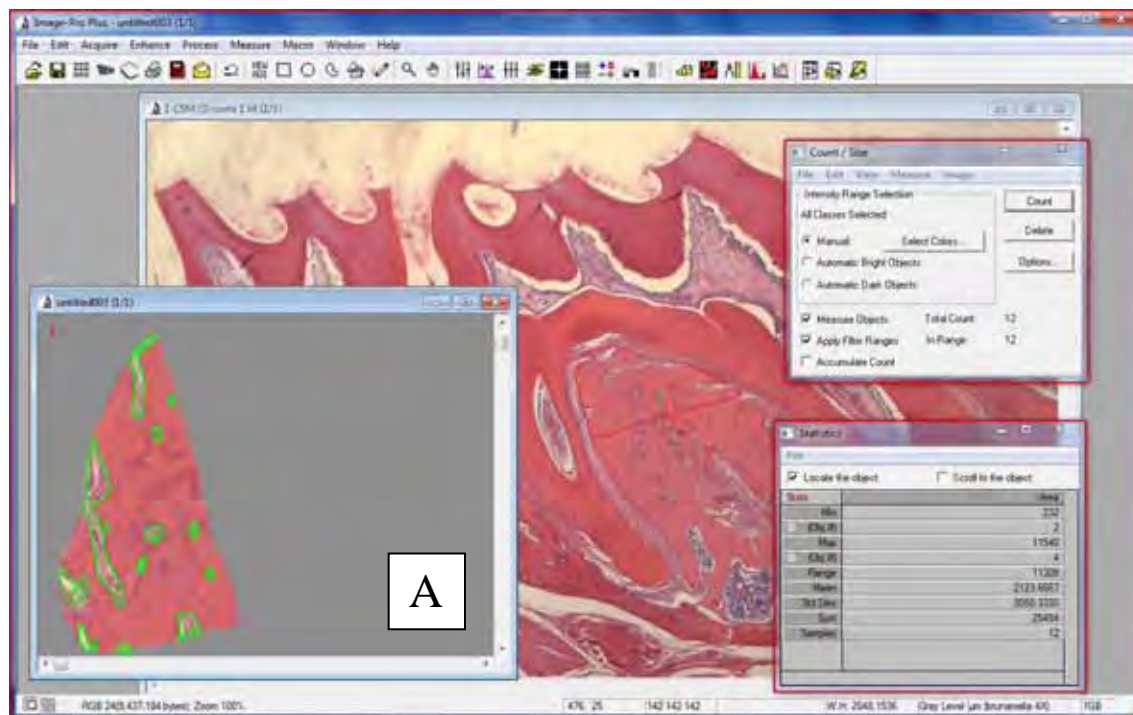


Figura 5 – Distância entre o primeiro e segundo molar superior dos grupos controle, ovariectomizado (OVX), ovariectomizado tratados com alendronato de sódio (OVX+ALN1 e ALN2) sem e com movimentação dentária por 5 e 7 dias. Aumento significativo da distância para o grupo OVX em relação aos demais grupos após 7 dias $P < 0,05$, (n= 6/tempo/grupo). ANOVA, pos-teste Tukey.

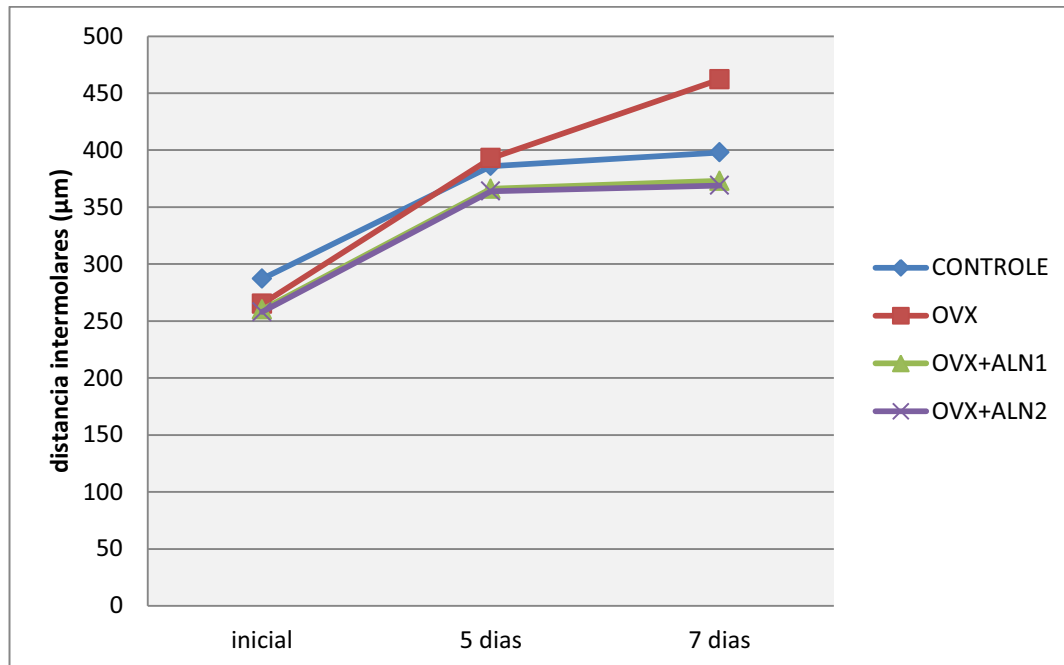


Tabela I. Peso médio (gramas) \pm desvio padrão dos animais dos grupos controle, ovariectomizado (OVX) e ovariectomizado tratados com alendronato de sódio (OVX+ALN1 e ALN2) do início do experimento, após 30, 60 e 90 dias. * $P < 0,05$ comparado com ** (n= 6/tempo/grupo). ANOVA, pos-teste Tukey

PESO MÉDIO (GRAMAS) DOS ANIMAIS POR GRUPO

| | Início | 30 dias | 60 dias | 90 dias |
|------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Controle | 216 \pm 18 | 260 \pm 22 | 267* \pm 14 | 289* \pm 25 |
| OVX | 217 \pm 21 | 289 \pm 28 | 302** \pm 31 | 331** \pm 35 |
| OVX + ALN1 | 211 \pm 15 | 281 \pm 17 | 292 \pm 18 | 316 \pm 25 |
| OVX + ALN2 | 215 \pm 16 | 283 \pm 25 | 296 \pm 13 | 309 \pm 32 |

TABELA II - Distância média (μm) \pm desvio padrão entre o primeiro e o segundo molar superior nos grupos controle, ovariectomizado (OVX) e ovariectomizado tratados com alendronato de sódio (OVX + ALN1 e ALN2) sem e com movimentação dentária por 5 e 7 dias. * $P < 0,05$ comparado com ** (n= 6/tempo/grupo). ANOVA, pos-teste Tukey.

| DISTÂNCIA INTERDENTÁRIA (μm) | | | | |
|---|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| TEMPO (dias) | CONTROLE | OVX | OVX + ALN1 | OVX + ALN2 |
| 0 | 287 \pm 22 | 265 \pm 16 | 260 \pm 17 | 258 \pm 21 |
| 5 | 386 \pm 60 | 393 \pm 66 | 366 \pm 59 | 364 \pm 51 |
| 7 | 398* \pm 41 | 462** \pm 68 | 373* \pm 45 | 369* \pm 67 |

Tabela III. Porcentagem média \pm desvio padrão de osso inter-radicular do primeiro molar superior nos grupos controle, ovariectomizado (OVX) e ovariectomizado tratados com alendronato de sódio (OVX+ ALN1 e ALN2) sem e com movimentação por 5 e 7 dias (n= 6/tempo/grupo). *P<0,05 comparado com **. ANOVA, pos-teste Dunnet.

| PORCENTAGEM DE OSSO INTER-RADICULAR | | | | |
|--|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| TEMPO | CONTROLE | OVX | OVX+ALN1 | OVX+ALN2 |
| 0 | 88,6** \pm 1,6 | 78,5* \pm 3,2 | 83,4 \pm 1,5 | 84,5 \pm 2,5 |
| 5 | 80,1 \pm 3,1 | 76,1 \pm 1,5 | 80,3 \pm 1,2 | 80,9 \pm 1,8 |
| 7 | 82,7 \pm 1,3 | 77,3 \pm 2,6 | 84,3 \pm 0,7 | 84,5 \pm 1,9 |

ANEXOS

Anexo A – Certificado de aprovação da Comissão de Ética na Experimentação Animal – CEEA.



**Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)
Committee for Ethical Use of Animals (CEUA)**

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "Influência do alendronato de sódio na movimentação dentária induzida em ratas ovariectomizadas" sob responsabilidade do Pesquisador OSMAR APARECIDO CUOGHI e colaboração de Márcio Salazar e Luzmarina Hernandes está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo CEUA, de acordo com o protocolo 2011-03696.

CERTIFICATE

We certify that the research "Influence of alendronate sodium on induced tooth displacement in ovariectomized rats", protocol number 2011-03696, under responsibility of OSMAR APARECIDO CUOGHI and with collaboration of Márcio Salazar and Luzmarina Hernandes agree with Ethical Principles in Animal Research (COBEA) and was approved by CEUA.



Prof. Dr. Edilson Ervolino
CEUA Vice-Coordenador

Anexo B – Normas do periódico *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*.



Information for Authors

Electronic manuscript submission and review

The *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* uses the *Elsevier Editorial System (EES)*, an online manuscript submission and review system.

To submit or review an article, please go to the **AJO-DO** EES website: ees.elsevier.com/ajodo.

Send other correspondence to:

Dr. Vincent G. Kokich, DDS, MSD, Editor-in-Chief
American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics
University of Washington
Department of Orthodontics, D-569
HSC Box 357446
Seattle, WA 98195-7446
Telephone (206) 221-5413
E-mail: vgkokich@u.washington.edu

General Information

The *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* publishes original research, reviews, case reports, clinical material, and other material related to orthodontics and dentofacial orthopedics.

Submitted manuscripts must be original, written in English, and not published or under consideration elsewhere. Manuscripts will be reviewed by the editor and consultants and are subject to editorial revision. Authors should follow the guidelines below.

Statements and opinions expressed in the articles and communications herein are those of the author(s) and not necessarily those of the editor(s) or publisher, and the editor(s) and publisher disclaim any responsibility or liability for such material. Neither the editor(s) nor the publisher guarantees, warrants, or endorses any product or service advertised in this publication; neither do they guarantee any claim made by the manufacturer of any product or service. Each reader must determine whether to act on the information in this publication, and neither the *Journal* nor its sponsoring organizations shall be liable for any injury due to the publication of erroneous information.

Guidelines for Original Articles

Submit Original Articles via EES: ees.elsevier.com/ajodo.

Before you begin, please review the guidelines below. To view a 7-minute video explaining how to prepare your article for submission, go to [Video on Manuscript Preparation](#).

1. Title Page. Put all information pertaining to the authors in a separate document. Include the title of the article, full name(s) of the author(s), academic degrees, and institutional affiliations and positions; identify the corresponding author and include an address, telephone and fax numbers, and an e-mail address. This information will not be available to the reviewers.
2. Abstract. Structured abstracts of 200 words or less are preferred. A structured abstract contains the following sections: Introduction, describing the problem; Methods, describing how the study was performed; Results, describing the primary results; and Conclusions, reporting what the authors conclude from the findings and any clinical implications.
3. Manuscript. The manuscript proper should be organized in the following sections: Introduction and literature review, Material and Methods, Results, Discussion, Conclusions, References, and figure captions. Express measurements in metric units, whenever practical. Refer to teeth by their full name or their FDI tooth number. For style questions, refer to the *AMA Manual of Style*, 9th edition. Cite references selectively, and number them in the order cited. Make sure that all references have been mentioned in the text. Follow the format for references in "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (Ann Intern Med 1997;126:36-47); <http://www.icmje.org>. Include the list of references with the manuscript proper. Submit figures and tables separately (see below); do not embed figures in the word processing document.
4. Figures. Digital images should be in TIF or EPS format, CMYK or grayscale, at least 5 inches wide and at least 300 pixels per inch (118 pixels per cm). Do not embed images in a word processing program. If published, images could be reduced to 1 column width (about 3 inches), so authors should ensure that figures will remain legible at that scale. For best results, avoid screening, shading, and colored backgrounds; use the simplest patterns available to indicate differences in charts. If a figure has been previously published, the legend (included in the manuscript proper) must give full credit to the original source, and written permission from the original publisher must be included. Be sure you have mentioned each figure, in order, in the text.
5. Tables. Tables should be self-explanatory and should supplement, not duplicate, the text. Number them with Roman numerals, in the order they are mentioned in the text. Provide a brief title for each. If a table has been previously published, include a footnote in the table giving full credit to the original source and include written permission for its use from the copyright holder. Submit tables as text-based files (Word or Excel, for example) and not as graphic elements.
6. Model release and permission forms. Photographs of identifiable persons must be accompanied by a release signed by the person or both living parents or the guardian of minors. Illustrations or tables that have appeared in copyrighted material must be accompanied by written permission for their use from the copyright owner and original author, and the legend must properly credit the source. Permission also must be obtained to use modified tables or figures.
7. Copyright release. In accordance with the Copyright Act of 1976, which became effective February 1, 1978, all manuscripts must be accompanied by the following written statement, signed by all authors: *"The undersigned author(s) transfers all copyright ownership of the manuscript **[insert title of article here]** to the American Association of Orthodontists in the event the work is published. The undersigned author(s) warrants that the article is original, does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party, is not under consideration by another journal, has not been previously published, and includes any product that may derive from the published journal, whether print or electronic media. I (we) sign for and accept responsibility for releasing this material."* Scan the printed [copyright release](#) and submit it via EES.
8. Use the International College of Medical Journal Editors Form for the Disclosure of Conflict of Interest (ICMJE Conflict of Interest Form). If the manuscript is accepted, the disclosed information will be published with the article. The usual and customary listing of sources of support and institutional affiliations on the title page is proper and does not imply a conflict of interest. Guest editorials, Letters, and Review articles may be rejected if a conflict of interest exists.
9. Institutional Review Board approval. For those articles that report on the results of experiments of treatments where patients or animals have been used as the sample, Institutional Review Board (IRB) approval is mandatory. No experimental studies will be sent out for review without an IRB approval accompanying the manuscript submission.
10. Systematic Reviews and Meta-Analyses must be accompanied by the current PRISMA checklist and flow diagram (go to [Video on CONSORT and PRISMA](#)). For complete instructions, see our [Guidelines for Systematic Reviews and Meta-Analyses](#).
11. Randomized Clinical Trials must be accompanied by the current CONSORT statement, checklist, and flow diagram (go to [Video on CONSORT and PRISMA](#)). For complete instructions, see our [Guidelines for Randomized Clinical Trials](#).

Other Articles

Follow the guidelines above, with the following exceptions, and submit via EES.

Case Reports will be evaluated for completeness and quality of records, quality of treatment, uniqueness of the case, and quality of the manuscript. A high quality manuscript must include the following sections: introduction; diagnosis; etiology; treatment objectives, treatment alternatives, treatment progress, and treatment results; and discussion. The submitted figures must include extraoral and intraoral photographs and dental casts, panoramic radiographs, cephalometric radiographs, and tracings from both pretreatment

and posttreatment, and progress or retention figures as appropriate. Complete Case Report Guidelines can be downloaded from [Case Report Guidelines](#)

Techno Bytes items report on emerging technological developments and products for use by orthodontists.

Miscellaneous Submissions

Letters to the Editor and their responses appear in the Readers' Forum section and are encouraged to stimulate healthy discourse between authors and our readers. Letters to the Editor must refer to an article that was published within the previous six (6) months and must be less than 500 words including references. Send letters or questions directly to the editor, via e-mail: vgkokich@u.washington.edu. Submit a signed copyright release with the letter.

Brief, substantiated commentary on subjects of interest to the orthodontic profession is published occasionally as a Special Article. Submit Guest Editorials and Special Articles via the Web site.

Books and monographs (domestic and foreign) will be reviewed, depending upon their interest and value to subscribers. Send books to the Editor in Chief, Dr. Vincent G. Kokich, Department of Orthodontics, University of Washington D-569, HSC Box 357446, Seattle, WA 98195-7446. They will not be returned.

Checklist for authors

- ___ Title page, including full name, academic degrees, and institutional affiliation and position of each author, and author to whom correspondence and reprint requests are to be sent, including address, business and home phone numbers, fax numbers, and e-mail address
- ___ Abstract
- ___ Article proper, including references and figure legends
- ___ Figures, in TIF or EPS format
- ___ Tables
- ___ [Copyright release statement](#), signed by all authors
- ___ [Photographic consent statement\(s\)](#)
- ___ [ICMJE Conflict of interest statement](#)
- ___ Permissions to reproduce previously published material

Anexo C – Termo para liberação dos Direitos Autorais do manuscrito para o periódico *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*.

LIBERAÇÃO DOS DIREITOS AUTORAIS

"Os autores (abaixo-assinados) transferem toda a propriedade protegida por direitos autorais do manuscrito *Influência do alendronato de sódio na movimentação dentária induzida em ratas ovariectomizadas*. à Associação Americana de Ortodontistas para possível publicação do trabalho. Os autores (abaixo-assinados) garantem que o artigo é original, não infringe qualquer direito autoral ou outro direito de propriedade de qualquer terceiro, não está sob consideração em outro periódico, não foi previamente publicado e inclui produtos que podem derivar do periódico publicado, impressões ou mídias eletrônicas. Nós assinamos para e aceitamos a responsabilidade da liberação deste material."

MARCIO SALAZAR

Doutorando em Ortodontia pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

OSMAR APARECIDO CUOGHI

Professor Adjunto do Departamento de Odontologia Infantil e Social, Disciplina de Ortodontia Preventiva, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

LUZMARINA HERNANDES

Professora Associada do Departamento de Ciências Morfológicas, Área de Embriologia e Histologia, da Universidade Estadual de Maringá- UEM