



Universidade Norte do Paraná

MESTRADO EM ODONTOLOGIA

JOSÉ MÁRIO DA SILVA FILHO

**RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO NO GENE IL-1 β E A
REABSORÇÃO RADICULAR APICAL EXTERNA EM PACIENTES
TRATADOS ORTODONTICAMENTE**

Londrina
2008

JOSÉ MÁRIO DA SILVA FILHO

**RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO NO GENE IL-1 β E A
REABSORÇÃO RADICULAR APICAL EXTERNA EM PACIENTES
TRATADOS ORTODONTICAMENTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado
em Odontologia da Universidade Norte do Paraná,
para obter o Título de Mestre, pelo programa de
Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração:
Dentística com Ênfase em Prevenção

Orientadora: Prof^a Dr^a. Regina Célia Poli-Frederico
Co-orientador: Prof. Dr. Adilson Luiz Ramos

**LONDRINA
2008**

JOSÉ MÁRIO DA SILVA FILHO

**RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO NO GENE IL-1 β E A REABSORÇÃO
RADICULAR APICAL EXTERNA EM PACIENTES
TRATADOS ORTODONTICAMENTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado
em Odontologia da Universidade Norte do Paraná,
para obter o Título de Mestre, pelo programa de Pós-
Graduação em Odontologia

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Sérgio Carreiro

Julgamento _____ Assinatura _____

Prof^a. Dr^a .Sandra Mara Maciel

Julgamento _____ Assinatura _____

Prof^a. Dr^a. Regina Célia Poli-Frederico

Julgamento _____ Assinatura _____

Londrina, 03 de dezembro de 2008.

DEDICATÓRIA

Este trabalho é inteiramente dedicado à **minha família**:

A minha esposa amada **Andréa Zanata Fávero Silva**, meu equilíbrio, minha força, companheira e amiga, minha total gratidão, pelos anos que me auxilia nos problemas mais difíceis, agradeço a Deus pela linda família que ela me deu e pela experiência de ter uma mulher tão especial em minha vida.

Aos nossos filhos **Ana Beatrys** e **José Mario Neto**, que com compreensão, muito carinho e amor, apoiaram-me na concretização desse sonho, e pelos finais de semanas roubados, pelas viagens de estudo, pelo trabalho, pela ausência nos momentos que necessitaram da minha atenção, minhas desculpas!

Aos meus dedicados pais, **José Mario da Silva (in memorian)** e **Marilene Rodrigues da Silva**, pelo apoio constante durante toda minha vida, meu muito obrigado. Procuro e não encontro palavras para descrever todo o sentimento que sinto em meu coração, por ter tido pais tão dedicados aos seus filhos como vocês!

Aos meus irmãos, **Mara**, verdadeira guerreira, **Alfredo**, corajoso e destemido, **Walkirya**, irmã casula e sempre carinhosa e **Emanoel**, livre e aventureiro, pela fraternal convivência e carinho que tem por mim, meu muito obrigado.

E ao meu irmão de alma e de coração, **Leandro Cezar Bataglim**, amigo fiel, companheiro de luta, que sempre compartilhou minhas alegrias e dificuldades, me ajudando sempre. Amigo e parceiro de clínica na faculdade, onde demos nossos primeiros passos rumo à odontologia, ética, onde aprendemos fazer do nosso trabalho, nosso maior divertimento, o meu obrigado, Parça!

Ao meu sogro **Sr. Antonio** e minha sogra **Dna. Alda**, meus cunhados, **Adriana** e **Mauricio**, pelos ensinamentos de paz, equilíbrio, e paciência que sempre passaram para mim, e que me ajudam a tornar um ser mais humano, agradeço!

A todos meus amigos e parentes; **Tia Madão, João, Tom, Vando, Tropa**, obrigado pela força nos momentos difíceis e pela alegria dos bons momentos, e aqueles que esqueci de mencionar, mas que moram também em meu coração, meu muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Luiz Reynaldo de Figueiredo Walter**, coordenador do curso de Pós-graduação em Odontologia da Unopar.

Ao **Prof. Dr. Alcides Gonini Júnior**, que me ensinou os primeiros passos da carreira acadêmica, de forma simples e objetiva, como um verdadeiro mestre da odontologia moderna.

Ao **Prof. Dr. Adilson Luis Ramos** pelos conselhos e incentivo, meus sinceros agradecimentos.

A **Profa. Dra. Sandra Mara Maciel** pelas valiosas sugestões.

A todos os **Professores do Curso de Mestrado** em Odontologia da Unopar

A todos os amigos do curso de Mestrado, **Clarissa Vendramel Fernandes, Elaine Romero, Fabiana Mezzaroba Ortenzi Graciano, Ana Lídia Cota, Larissa Pinceli Chaves, Lícia Beatriz de Melo Zapatta e ao Leônidas dos Santos Filho**, pela amizade sincera, pelo convívio e força durante o curso.

Às **alunas de Iniciação Científica** de Odontologia da Universidade Norte do Paraná - UNOPAR – **Augusta Piovezan e Natalia Valarini** pela importante ajuda nos procedimentos laboratoriais;

A minha secretária **Nalita Moura Leite**, pela boa vontade e auxílio nas atividades cotidianas e da pesquisa.

Aos pacientes que, com boa vontade, participaram dessa pesquisa.

A todos que contribuíram para que esse trabalho pudesse ser realizado.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À **Profa. Dra. Regina Célia Poli-Frederico**, meu respeito e minha gratidão, pela paciência, por acreditar em meu projeto e pela sua dedicação durante a execução desta pesquisa, sempre me auxiliando no caminho do conhecimento, de maneira simples e objetiva, me fazendo compreender, colocando suas idéias de forma sugestiva, para melhorar meu aprendizado, como uma verdadeira orientadora. Obrigado por tudo.

**“NADA MELHOR DO QUE UM SONHO PARA CRIAR O FUTURO”
VICTOR HUGO**

SILVA FILHO, JM. **Relação entre o polimorfismo no gene IL-1 β e a reabsorção radicular apical externa em pacientes tratados ortodonticamente.** 2008. 42f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) Universidade Norte do Paraná, Londrina.

Resumo

A reabsorção radicular apical externa (RRAE) é um fenômeno comum associado ao tratamento ortodôntico. Estudos prévios sugerem que a RRAE apresenta um componente genético substancial. Este trabalho teve por objetivo avaliar a relação entre o polimorfismo no gene da interleucina 1 β e a reabsorção radicular apical externa em 50 pacientes de 12 a 30 anos de idade tratados ortodonticamente durante os anos de 1999 a 2000, assim como investigar a sua associação com as variáveis: idade, gênero, ocorrência em inclinações vestibulares e linguais de incisivos superiores e tipo de má oclusão. Foram coletados dados dos prontuários dos indivíduos, e avaliação radiográfica. O DNA foi obtido a partir das células epiteliais da mucosa bucal. O polimorfismo foi avaliado por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) seguido de digestão por enzima de restrição, pela técnica da RFLP. Os produtos foram analisados em gel de agarose a 2% e corados por brometo de etídeo. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes da RRAE em relação à idade, gênero, inclinação dos incisivos superiores. Entretanto foi verificada associação entre a RRAE e o polimorfismo do gene da IL-1 β , assim como, quando se analisou a RRAE, o polimorfismo segundo a inclinação dos incisivos superiores. Houve diferença significativa nas frequências alélicas e genotípicas do gene IL-1 β entre os indivíduos com RRAE e sem esta condição. Os dados deste estudo sugerem que o alelo 1 do gene da IL-1 β aumenta significativamente o risco para a RRAE.

Palavras-chave: Reabsorção Radicular, Interleucina-1 β , Polimorfismo genético, Ortodontia.

ABSTRACT

External apical root resorption (EARR) can be an undesirable sequela of orthodontic treatment. Previous studies have suggested that EARR has a substantial genetic component. The aim of this study was to examine the relationship between the RRAE and the polymorphisms of the interleukin IL-1 gene, as well as investigate its association with the variables: age, gender, occurrence in inclinations of superior incisors. Buccal swabs cells were collected for DNA isolation and analysis by PCR and RFLP. There were no occurred statistic differences between age, gender, inclinations of superior incisors with EARR. Persons homozygous for the IL-1 β allele 1 presented RRAE ($P < 0.01$) as compared with those who are not homozygous for the IL-1 β allele 1. Data indicate that allele 1 at the IL-1 β gene increases the risk of EARR.

Key words: Root resorption, Interleukin-1 β , Polymorphism Genetic , Orthodontics

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	11
2.REVISÃO DE LILIDERATURA.....	13
2.1 Reabsorção radicular apical externa(RRAE).....	13
2.2 Predisposição genética a reabsorção radicular apical externa	15
2.3 Interleucina.....	16
3. OBJETIVOS.....	18
4. METODOLOGIA	19
4.1 Amostra	19
4.2 Critérios de inclusão	19
4.3 Critérios de exclusão	19
4.4 Protocolo de levantamento de dados	20
4.4.1 Análise clínica	20
4.4.2 Análise radiográfica	20
4.4.3 Extração do DNA.....	21
4.4.4 Análise do polimorfismo IL-1β	22
4.4.5 Análise estatística.....	23
5.RESULTADOS.....	24
5.1Caracterização da amostra.....	24
5.2 Reaborção radicular apical externa.....	25
5.3 O polimorfismo da IL-1β.....	27
6.DISSCUSSÃO.....	33

7.CONCLUSÃO.....	35
8. REFERÊNCIAS.....	36
ANEXO 1	40
ANEXO 2	41

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Caracterização dos indivíduos segundo a reabsorção radicular apical externa.	25
FIGURA 2	Caracterização dos indivíduos segundo o genótipo para o gene IL-1 β .	27
FIGURA 3	Eletroforese dos produtos do RFLP ilustrando os genótipos 1/1, 1/2 e 2/2 decorrentes do polimorfismo do gene da IL-1 β . Os produtos resultantes da digestão foram denominados alelo 1 (85pb e 97pb) e alelo 2 (182pb). No: controle negativo da PCR. M: marcador de peso molecular- 100pb DNA Ladder.	28
FIGURA 4	Caracterização dos indivíduos considerando a ocorrência de RRAE segundo o genótipo	29
FIGURA 5	Distribuição dos indivíduos com e sem RRAE segundo a inclinação dos incisivos superiores (NA) e os genótipos para o gene da IL-1 β	30
TABELA 1	Caracterização dos indivíduos segundo o gênero e a faixa etária (N=50).	24
TABELA 2	Distribuição dos indivíduos segundo a ocorrência de RRAE considerando-se o gênero, a idade, inclinação dos IS, perfil facial e polimorfismo no gene IL-1 β (N=50).	26
TABELA 3	Distribuição dos genótipos segundo o gênero, a idade e a inclinação dos incisivos superiores e a ocorrência de reabsorção em indivíduos tratados ortodonticamente (N=50) -(Pág.30).	31
TABELA 4	Freqüência dos genótipos e dos alelos do gene da IL-1B.	32

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

ANB	- Ângulo Cefalométrico formado pelos pontos ANB (A-Ponto mais profundo do contorno anterior da maxila, N-Ponto mais anterior da sutura frontonasal, B-Ponto mais profundo do contorno anterior da mandíbula)
µL	- Unidade de medida referente a 1 microlitro
µmol/L	- Micromol por litro
bp	- Pares de bases
C1	- Comprimento Longitudinal Coronário Inicial
R1	- Comprimento Longitudinal Radicular Inicial
C2	- Comprimento longitudinal coronário controle
R2	- Comprimento longitudinal radicular controle
DNA	- Ácido desoxirribonucléico
dNTP	- Solução de 2' – deoxinucleotídeos 5'- trifosfato: dATP , dTTP, dCTP e dGTP
dpm	- Documentos por minuto
EGF	- Fator de crescimento epidérmico
IL-1 β	- Interleucina 1 beta
IL-1	- Interleucina 1
IL -1α	- Interleucina 1 alfa
RRAE	- Reabsorção Radicular Apical Externa
SNGoGn	- Ângulo Cefalométrico formado pelo plano SM (S-Centro da sela túrcica, N-Ponto mais anterior da sutura frontonasal) e o plano GoGn (Go-Ponto da intersecção das linhas tangentes à base e o ramo mandibulares, Gn-Ponto mais inferior na sínfise mentoniana).
1/.PIMx	- Ângulo Palatino com incisivo central
IC	- Incisivo central
MgCl ₂	- Cloreto de magnésio
PCR	- Reação em cadeia de polimerase
PGE	- Prostaglandina E
RC	- Razão de chances

TNF	- Fator de necrose tumoral
TNF α	- Fator de necrose tumoral alfa
V	- Volts

Introdução

Uma seqüela indesejada no tratamento ortodôntico é a reabsorção radicular apical externa - RRAE (Al-Qawasmi et al., 2003a). Esta patologia inevitável (Brezniak e Wasserstein, 2002a) resulta em perda permanente de estrutura radicular. Em alguns casos esta patologia origina-se de um resultado iatrogênico associado ao tratamento ortodôntico (BREZNIAK e WASSERSTEIN, 2002b; HARTSFIELD et al., 2004).

A RRAE acomete principalmente os incisivos centrais superiores, sendo que mais de um terço dos indivíduos tratados apresentam reabsorção maior que 3 mm e reabsorção grave (maior que 5 mm), em 2 a 5% da população. (Hartsfield Jr et al 2004.; Killiany, 1999; Taithongchal et al. 1996;). Fatores genéticos, fisiológicos e anatômicos podem estar envolvidos na etiopatogenia da RRAE (Capelozza Filho e Silva Filho, 1998). Segundo Barbosa, Graber e Vanarsdall (1996), a etiologia da reabsorção radicular durante, o tratamento ortodôntico, é complexa e alguns fatores isolados ou em associações podem contribuir para o seu desenvolvimento, tais como idade do paciente, tipo de aparelho ortodôntico, duração de força, direção do movimento dentário e vulnerabilidade dentária.

Para Consolaro (2005), a predisposição à RRAE associada com tratamento ortodôntico está relacionada com a morfologia radicular (forma, comprimento e angulação entre coroa e raiz) e com a morfologia óssea (altura, espessura e forma da crista alveolar).

Harris et al (1997) exploraram a hipótese da influência genética na RRAE e relataram alta possibilidade de herança.

Recentemente, uma ligação foi identificada entre um polimorfismo no gene *IL-1* e a ocorrência da mesma com o tratamento ortodôntico. Foi observado que a presença do *IL-1 β* alelo 1 está associado com risco aumentado para a reabsorção radicular (indivíduos homozigotos para *IL-1 β* alelo 1 apresentam 5 a 6% de risco de RRAE aumentado comparado com indivíduos não homozigóticos). O alelo 1 codifica uma citocina deficiente que deve causar um modelamento ósseo menos catabólico e pode resultar em um stress prolongado que está concentrado na raiz do dente, que por sua vez poderia provocar uma cascata de eventos relacionados à fadiga, levando à reabsorção da raiz (AL-QAWASMI et al., 2003a).

Embora fatores etiológicos que estejam associados à reabsorção radicular apical externa sejam ainda pouco compreendidos, há algumas evidências de fatores genéticos na predisposição individual à mesma.

2 Revisão de Literatura

2.1 Reabsorção radicular apical externa (RRAE)

A ortodontia é a especialidade da odontologia que se caracteriza pela movimentação dos dentes para uma correta posição nos arcos dentários. Para que essa movimentação se realize é necessária à aplicação de forças no sistema biológico que agem sob o princípio de reabsorção no lado de pressão e aposição no lado de tensão. Ao aplicar uma força no dente cria-se no lado de pressão um estreitamento do ligamento periodontal e ação compressiva idêntica sobre os seus limites, isto é, a superfície radicular e óssea. Como o cemento é mais resistente à reabsorção quando comparado ao osso mais vulnerável, as forças aplicadas geralmente induzem reabsorção óssea, o dente movimenta e a membrana periodontal volta a sua dimensão original. Entretanto, a reabsorção de cemento e dentina também podem ocorrer (Brezniak E Wasserstein, 1993; Capellozza Filho e Silva Filho, 1998). A presença de reabsorção radicular nos dentes submetidos à movimentação é um dos efeitos mais indesejados do tratamento ortodôntico. A terapia ortodôntica pode resultar em um encurtamento radicular iatrogênico e irreversível, decorrente da reabsorção radicular apical em quase todos os dentes, sendo mais evidenciada nos incisivos centrais e laterais superiores e inferiores, variando apenas quanto a sua gravidade (BENDER et al., 1997; CAPELOZZA FILHO e SILVA FILHO, 1998; DESHIELDS, 1969;).

A reabsorção é uma condição associada tanto a processos fisiológicos quanto patológicos, resultando em uma perda de dentina, cemento ou osso (NE et al., 1999). É considerado um processo normal, essencial e fisiológico quando ocorre nos dentes decíduos para permitir a esfoliação dos mesmos e facilitar o irrompimento do sucessor permanente (BREZNIAK e WASSERSTEIN, 1993). A reabsorção patológica, de acordo com a superfície afetada, pode ocorrer em superfície externa como resultado de uma reação tecidual periodontal ou pericoronária, ou na superfície interna, a partir de reação do tecido pulpar (SHAFER et al., 1987). São relatados os seguintes fatores de risco para a reabsorção radicular interna: pela infecção pulpar e externa por trauma, infecção pulpar, procedimentos de

clareamento, procedimentos periodontais, dentes impactados e tratamento ortodôntico (PIZZO et al., 2007).

Dependendo do método empregado, a reabsorção radicular apical externa associada ao tratamento ortodôntico pode variar de zero a 100% (BREZNIAK e WASSERSTEIN, 1993). Embora o tratamento ortodôntico esteja associado à reabsorção nos incisivos centrais da maxila na maioria dos pacientes sendo que mais de 1/3 daqueles tratados apresentam mais que 3 mm de perda, a reabsorção severa (mais que 5 mm) ocorre em apenas 2% da população (TAITHONGCHAI et al., 1996).

Existem três tipos de reabsorção radicular externa: reabsorção de superfície, reabsorção inflamatória e reabsorção por substituição. A reabsorção radicular associada ao tratamento ortodôntico corretivo, devido à aplicação de forças ortodônticas, pode ser do tipo superficial ou do tipo inflamatória transitória ou progressiva, no entanto, raramente, observa-se a reabsorção por substituição após o tratamento ortodôntico (BREZNIAK e WASSERSTEIN, 1993 ;LINGE e LINGE, 1991,; SHAFER et al., 1987).

Consolaro (2005) estabeleceu critérios para a classificação das reabsorções dentárias patológicas como: 1-superfície dentária afetada (interna, externa e interna-externa), 2-fase de evolução do processo (ativa, paralisada e reparada), 3-região dentária afetada (coronária, cervical, radicular lateral e apical) ,4-extensão do comprometimento da raiz (simples e múltiplas),5- dimensão da causa do processo (local, sistêmica e idiopática) e 6- mecanismo de ocorrência do processo (inflamatória e por substituição).

Malmgren et al. (1982) classificaram as reabsorções radiculares apicais associadas ao movimento dentário ortodôntico em quatro graus, de acordo com a gravidade da reabsorção: grau 1 - contorno irregular; grau 2 - reabsorção apical com menos de 2mm de redução do comprimento radicular; grau 3 - reabsorção apical com mais de 2mm a um terço de redução do comprimento original da raiz e grau 4 - reabsorção apical com redução maior que em terço do comprimento original da raiz.

Enquanto alguns graus de reabsorção radicular ocorrem em quase todos os pacientes (DESHIELDS, 1969), 93% dos adolescentes tratados demonstraram alguma forma de reabsorção radicular (KUROL, OWMAN-MOLL, LUDGREN, 1996). Aproximadamente 15% mostraram reabsorção radicular apical moderada à severa

(LINGE e LINGE, 1991) e 10-20% dos casos relataram reabsorção severa de >3 mm (LEVANDER et al., 1994). Contudo, na maioria dos pacientes, a reabsorção radicular é menor e insignificante (LEVANDER e MALMGREN, 1988).

2.2 Predisposição genética à reabsorção radicular apical externa

Newman (1975) foi o primeiro pesquisador a relacionar características de hereditariedade com a reabsorção radicular. Foram investigados os seguintes fatores: as influências genéticas em familiares, as causas sistêmicas, o tipo de má oclusão, história pregressa médica e dentária e relacionados com a reabsorção radicular. Suas conclusões foram que dentes com raízes curtas tiveram maiores reabsorções após o tratamento ortodôntico, embora o padrão de herança não estivesse claro.

Harris et al. (1997) procuraram verificar a frequência e a extensão da reabsorção radicular apical externa relacionada ao tratamento ortodôntico numa população de 103 pares de irmãos, observando se em irmãos, a frequência e extensão se repetiam. Alta possibilidade de herança foi verificada.

Al-Qawasmi et al. (2003a) avaliaram a associação entre os polimorfismos no genes de IL-1 β e a RRAE decorrente do tratamento ortodôntico. Tais genes foram investigados, pois codificam citocinas conhecidas por estarem envolvidas na reabsorção óssea acompanhada de movimento dentário ortodôntico. Trinta e cinco famílias americanas foram examinadas. Células da mucosa bucal foram coletadas para isolar e analisar o DNA. As RRAE nos incisivos centrais superiores, nos incisivos centrais inferiores e nas raízes mesial e distal dos primeiros molares inferiores foram analisadas separadamente e em conjunto. Houve alta evidência (estatisticamente significativa) de associação do polimorfismo IL-1 β com a manifestação da RRAE. Além disso, segundo estes autores, esses achados são consistentes com a interpretação da RRAE como uma complexa condição influenciada por muitos fatores, com o gene IL-1 β contribuindo com importante predisposição para este problema.

Em outro trabalho, Al-Qawasmi et al.(2003b) estudaram o polimorfismo no gene do TNFRSF11A, que codifica a produção do RANK, um mediador essencial na

remodelação óssea e na diferenciação das células clásticas e concluíram que existe relação entre esse marcador e a RRAE. Também consideraram que outros estudos são necessários para confirmar estes achados iniciais.

Recentemente, Al-Qawasmi et al. (2006) pesquisaram o efeito de algumas características genéticas na suscetibilidade ou resistência para desenvolver reabsorção radicular devido ao tratamento ortodôntico. Camundongos machos com nove semanas de oito linhagens diferentes foram distribuídos em oito grupos caso/controle. Os camundongos receberam aparelhos ortodônticos nos primeiros molares superiores. Afirmaram que a variação na gravidade da reabsorção associada à força ortodôntica quando a idade, gênero, alimentação, acomodação, magnitude e duração da força são controladas, suporta a hipótese de que suscetibilidade ou resistência à reabsorção radicular associada à força ortodôntica é uma característica influenciada geneticamente.

2.3 Interleucina

As citocinas são proteínas solúveis, secretadas por células, que agem como mensageiras transmitindo sinais para outras células. Elas participam da iniciação e manutenção das respostas imune e inflamatória e da regulação do crescimento e diferenciação das células. Elas não são estocadas na célula, sendo sua síntese induzida por algum estímulo e iniciada por uma nova transcrição do gene responsável. Os mRNA que codificam as citocinas são instáveis e são funcionais por apenas um curto período (SIQUEIRA JUNIOR & DANTAS,2000)

Existem duas formas básicas de interleucina: a alfa (α) e a beta (β) codificadas por dois genes (*IL-1A* e *IL-1 β*) localizados no cromossomo 2q13. As IL-1 são produzidas por monócitos/macrófagos em resposta a agressões bacterianas e estimulam os sistemas enzimáticos que produzem óxido nítrico, prostaglandinas, leucotrienos e fator de ativação de plaquetas. Entretanto, quando produzida em quantidade excessiva, esta citocina pode induzir mecanismos que culminam na reabsorção óssea, inibição da síntese do colágeno e ativação das metaloproteinases, causando destruição de tecido conjuntivo e osso alveolar. A produção de mediadores inflamatórios ocorre durante a resposta imune/inflamatória, a qual possui primordialmente um papel protetor contra patógenos, mas pode se

tornar altamente destrutiva quando há alterações na quantidade destes mediadores (AL-QAWASMI *et al.*, 2003 b).

A IL-1 é a citocina que está envolvida no processo inflamatório que ocorre durante a movimentação dentária como demonstrado por Grieve *et al.* (1994) e Uematsu *et al.* (1996). Estes pesquisadores procuraram identificar e quantificar as citocina no fluido do sulco gengival humano e constataram níveis significativamente aumentados de IL-1 β no grupo experimental quando comparado ao controle.

Em 2005, Jader *et al.*, evidenciaram o papel importante das IL-1 β no processo inflamatório do movimento dentário ortodôntico.

Al-Qawasmi *et al.* (2003a) apontaram a relação entre o polimorfismo no gene da IL-1 β e a ocorrência de reabsorção radicular apical externa em indivíduos tratados ortodonticamente. Estes pesquisadores constataram que a presença do alelo 1 do gene da IL-1 β estava associada a um risco aumentado para a reabsorção radicular periapical externa - indivíduos homozigotos para o alelo 1 do gene da IL-1 β apresentam 5,6% de risco aumentado para a reabsorção radicular apical externa quando comparado aos indivíduos heterozigotos. O alelo 1 está relacionado a deficiência de citocina que pode provocar uma modelagem óssea relativamente menos catabólica devendo resultar em um stress prolongado concentrado na raiz do dente, o que, por sua vez, poderia desencadear uma cascata de eventos levando a reabsorção radicular. Esta variação no alelo 1 está sendo considerada como um marcador genético potencial para a reabsorção radicular apical externa.

Em seus estudos mais recente, Al-Qawasmi *et al.*, (2006) pesquisaram o efeito de algumas características genéticas no desenvolvimento da RRAE devido ao tratamento ortodôntico. Camundongos machos com nove semanas de oito linhagens diferentes foram distribuídos em oito grupos caso/controle. Os camundongos receberam aparelhos ortodônticos nos primeiros molares superiores. Análise histológica foi realizada para determinar a reabsorção radicular e mostrou que três grupos foram altamente susceptíveis à reabsorção radicular. Esses autores ainda afirmaram que a variação na gravidade da reabsorção radicular associada à força ortodôntica quando idade, gênero, alimentação, acomodação, magnitude e duração da força são controlados, suporta a hipótese de que suscetibilidade ou resistência à reabsorção radicular associada à força ortodôntica é uma característica influenciada geneticamente.

3. Objetivos

3.1 Geral

- Avaliar a relação entre o polimorfismo no gene da interleucina 1 β e a reabsorção radicular apical externa em pacientes entre 12 a 30 anos de idade tratados ortodonticamente.

3.2 Específicos

- Avaliar o polimorfismo no gene da IL-1 β ;
- Investigar a associação do polimorfismo do gene da IL-1 β com as variáveis gênero, idade, classificação de Angle para a má oclusão, inclinações vestibulares e linguais de incisivos superiores e reabsorção radicular apical externa.

4. Metodologia

4.1-Amostra

Foi desenvolvido um estudo transversal, tendo como universo 50 indivíduos entre 12 a 30 anos de idade que receberam tratamento ortodôntico corretivo na clínica odontológica do pesquisador, na cidade de Umuarama-Paraná iniciados nos anos de 1999 a 2000. Estes pacientes apresentaram teleradiografias laterais e radiografias periapicais de boa qualidade dos incisivos superiores, anteriores a coleta das amostras nas fases de pré e pós-tratamento.

A partir destas teleradiografias foram coletados dados como padrão de crescimento facial, Tipo de má oclusão e perfil facial.

As radiografias periapicais foram tomadas com o mesmo aparelho radiográfico da marca GNATUS, modelo XR 6010, com cones e posicionadores de filme radiográficos para dentes anteriores CONE INDICADOR da marca Maquira.

A amostra foi dividida nos seguintes grupos: (1) Grupo estudo, formado por adultos com reabsorção radicular apical externa (mais de 1 mm). (2) Grupo controle, formado por adultos sem a reabsorção radicular apical externa. O termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido por escrito (Anexo 2).

O projeto foi submetido à apreciação pelo Comitê de Ética da UNOPAR, previamente a realização da coleta de dados recebendo parecer favorável a sua realização (Anexo 1).

4.2 Critérios de inclusão

Todos os participantes apresentaram ausência de tratamento ortodôntico prévio, teleradiografias e periapicais de boa qualidade realizadas antes e após o tratamento ortodôntico e ausência de história de trauma nos incisivos superiores..

4.3 Critérios de exclusão

Todos os participantes, com histórico de trauma, fratura de coroa ou restauração na borda incisal dos incisivos superiores e qualquer sinal clínico de fissura de esmalte foram excluídos da amostra.

4.4 Protocolo de levantamento dos dados

4.4.1 Análise clínica

Foram coletados dados dos prontuários dos indivíduos referentes ao exame clínico e avaliação radiográfica de acordo com as características dos Padrões descritas por Capelozza Filho (2004) para a má oclusão, utilizando as medidas cefalométricas ANB, o tipo de padrão facial e esquelético (SNGoGn,1/.PIMx) e a quantidade de movimento. Todas as informações foram rigorosamente confirmadas pelo pesquisador.

Todos os pacientes foram submetidos à mesma técnica de tratamento corretivo ortodôntico, com brequetes pré-ajustados de prescrição Roth.

Para os pacientes que foram submetidos a extrações, foram usados mecânica de deslizamento, com fio redondo 0,20mm com ganchos soldados entre os laterais e caninos, a força elástica gerada por sistemas de elásticos em cadeia (elastik), com forças de 100 gramas, puxadas pelo gancho do tubo molar ,em ambos os lados, que foram padronizadas com o uso de um dinamômetro. Em paciente Classe II esquelética, foi usado elástico intermaxilares, 5/16 ou 3/16 com força de retração superior anterior de 100 gramas, também padronizadas pelo dinamômetro.

Os fios para o nivelamento eram fios de aço pré-contornados da marca MORELLI.

4.4.2 Análise radiográfica

Para determinar e calcular as mudanças no comprimento dentário e radicular em duas radiografias diferentes foi feito o cálculo da diferença do tamanho radicular pré-retração e pós-retração, corrigido pela distorção da imagem radiográfica.

Esta distorção foi estabelecida pelo seguinte cálculo:

Comprimento longitudinal coronário inicial= C1

Comprimento longitudinal radicular inicial= R1

Comprimento longitudinal coronário de controle= C2

Comprimento longitudinal radicular de controle= R2

Uma regra de três foi usada para calcular a mudança no comprimento radicular devido ao tratamento. A razão entre o comprimento inicial (C1) e final da coroa (C2) determina o fator de alteração da radiografia. O R2 será corrigido para a comparação ao R1 inicial. Assim a quantidade de reabsorção foi quantificada como

sendo R1-R2(corrigido)

Estes traçados longitudinais seguiram o longo eixo do dente, na linha média da polpa radicular, que se apresenta radiolúcida na radiografia periapical, ela foi traçada no ponto médio, na borda incisal do central superior, até o ponto médio do contorno radicular. Para corrigir erros de medidas e sua calibração, todas as medidas foram feitas pelo pesquisador, por 3 vezes, num período de intervalo de uma semana, usando um negatoscópio, compasso de ponta seca e uma régua milimétrica.

A concordância intraexaminador foi verificada inicialmente em um grupo de 10 radiografias, através da realização de exames em duplicata, com intervalos de sete dias entre eles. O teste estatístico do coeficiente *Kappa* foi utilizado para aferição ($K= 0,97$), o qual revelou excelente concordância intraexaminador.

4.4.3 Extração do DNA

O DNA foi extraído a partir das células epiteliais da mucosa bucal dos pacientes averiguados neste estudo seguindo a metodologia descrita por AIDAR e LINE, (2007).

Os procedimentos usados neste estudo evitaram o uso de solventes orgânicos permitindo uma prática laboratorial mais segura. Isto é alcançado pela remoção das proteínas celulares por desidratação e precipitação com uma solução de acetato de amônio 8M.

Bochechos com 5 mL de dextrose 3% foram coletados de 50 indivíduos. Adicionados a cada amostra 3 mL de solução TNE [17 mM Tris-HCL (pH 8,0), 50 mM NaCl, 7 mM EDTA] diluído em etanol 66%.. As células bucais foram centrifugadas e ressuspensas em solução contendo 10 mM Tris (pH 8.0), 0.5% SDS, 5 mM EDTA e proteinase K (20 mg/mL). Após incubação a 55°C overnight, as proteínas foram removidas pela adição de acetato de amônio 8M seguida por centrifugação. . O DNA foi precipitado com sal/etanol (Figura 7) e ressuspensado em 500uL de tampão TE (10mM Tris pH 7,8; 1mM EDTA). Esta solução contendo o DNA foi acondicionada a -4°C até posterior utilização na reação em cadeia da polimerase (PCR).

4.4.4 Análise do polimorfismo IL-1 β

Para a amplificação pela reação em cadeia da polimerase (PCR) do gene da IL1- β foram utilizados os seguintes iniciadores descritos por AL-QAWASMI *et al.* (2003c):

- a) Forward 5'- CTC AGG TGT TCC TCG AAG AAA TCA A-3'
- b) Reverse 5'- GCT TTT TTG CTG TGA GTC CCG-3'

A mistura da PCR consistiu em um volume total de 50 μ l, contendo aproximadamente 500ng de DNA genômico, 1 μ M de cada primer, 200 μ M de dNTPs e duas unidades de Taq DNA polimerase. As soluções foram incubadas em um termociclador Multi-Gene. As condições de amplificação foram: um ciclo a 95°C por dois minutos de desnaturação inicial, 38 ciclos de amplificação consistindo em cada ciclo por um minuto a 95°C (desnaturação), um minuto a 67°C (pareamento dos iniciadores) e um minuto a 74°C (polimerização), e um ciclo a 72°C por oito minutos para a extensão final. O fragmento amplificado apresentou 182pb.

Após a amplificação, 5 μ l do produto da PCR foi analisado pela eletroforese em gel de agarose (1,0%). Posteriormente o gel foi corado por brometo de etídeo e os fragmentos recém-sintetizados foram visualizados sob luz ultravioleta. O tamanho do produto amplificado pela PCR será estimado a partir da migração eletroforética do produto relativo ao marcador de 100 pb DNA Ladder (Invitrogen).

Para a técnica do polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição – (RFLP), 12 μ l do produto amplificado pela PCR foi adicionados a 13 μ l de solução, contendo 2,5 μ l de Tampão NE 10x, 0,2 μ l de TaqI (10.000U/ml) e 10,3 μ l de água deionizada esterilizada. A solução foi incubada a 37°C overnight..

Os produtos resultantes da digestão foram dois fragmentos de 85 pb e 97 pb denominados de alelo 1 e um fragmento não digerido de 182pb denominado de alelo 2.

Os indivíduos portadores de dois alelos 1 (homozigoto para o alelo1) foram descritos como 1/1, enquanto que indivíduos homozigoto para o alelo 2 receberam a descrição 2/2. Já os heterozigotos foram descritos como 1/2.

Os produtos da digestão foram separados por eletroforese em gel de agarose 2% e corados por brometo de etídeo.

4.4.5 Análise estatística

Uma vez realizada a coleta dos dados os mesmos foram codificados para todas as variáveis e categorias estudadas, possibilitando a elaboração de um banco de dados.. As variáveis foram analisadas dependendo dos objetivos e das medidas de associação pelo teste de χ^2 (Qui-quadrado). Para a análise do polimorfismo no gene da IL-1 β , a distribuição do genótipo e freqüência alélica nos indivíduos do grupo controle e do grupo com RRAE foram comparados por meio do teste do χ^2 . Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ($P < 0,05$).

5.RESULTADOS

5.1.Caracterização da amostra

50 indivíduos participaram deste estudo, destes 60% eram do gênero feminino e maior parcela (54%) apresentava idade entre 12 e 18 anos (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização dos indivíduos segundo o gênero e a faixa etária (n=50).

CARACTERÍSTICAS	<i>n</i>	%
Gênero		
<i>Masculino</i>	30	60
<i>Feminino</i>	20	40
Idade		
<i>12 a 18 anos</i>	27	54
<i>19 a 22 anos</i>	11	22
<i>23 ou mais</i>	12	24

Proporções semelhantes foram encontradas para a má oclusão padrão I e II (48% e 42%, respectivamente). 10% dos indivíduos apresentaram má oclusão de padrão III.

Aproximadamente a metade da população estudada apresentou inclinação diminuída ou aumentada dos incisivos superiores para a cefalométrica 1. NA (46% e 44%, respectivamente). Somente 10% apresentaram inclinação normal (1.NA = 22°).

Os incisivos superiores, avaliados pela variável 1-PP, apresentaram em 64% dos casos uma inclinação aumentada (1-PP >110°). 30% dos indivíduos analisados apresentaram inclinação diminuída (1-PP < 110°) e poucos apresentaram 1-PP igual a 110° (6%).

Examinando o ângulo formado por SN e plano mandibular, GoGn, foi

verificado que 37 (74%) indivíduos eram dolicocefálico e 13 (26%) apresentaram padrão cefálico do tipo braquicefálico.

5.2 Reabsorção Radicular Apical Externa (RRAE)

Foi observado que 37 indivíduos apresentaram RRAE (74%), enquanto 13 estavam livres deste evento (Figura 1). Não foi observado diferenças estatisticamente significativa com relação as variáveis idade, gênero, inclinação do incisivos superiores e padrão do esqueleto cefálico. Entretanto, foi identificada diferença estatística entre a RRAE e o polimorfismo no gene IL-1 β (Tabela 2).

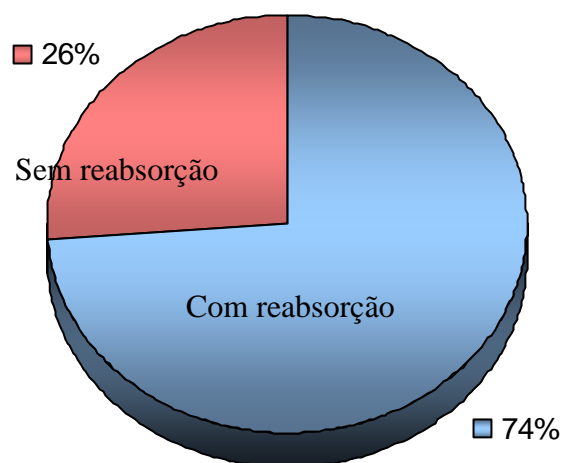


Figura 1 - Caracterização dos indivíduos segundo a reabsorção radicular apical externa.

Tabela 2. Distribuição dos indivíduos segundo a ocorrência de RRAE considerando-se o gênero, a idade, inclinação dos IS, perfil facial e polimorfismo no gene IL-1 β (n=50).

<i>Variáveis</i>	<i>RRAE</i>		<i>P</i>
	<i>Com</i> <i>n (%)</i>	<i>Sem</i> <i>n(%)</i>	
<i>Gênero</i>			
Feminino	20 (66,6)	10 (33,3)	0,152
Masculino	17 (85,0)	3 (15,0)	
<i>Idade</i>			
12-18 anos	21 (77,8)	6 (22,0)	
19-22 anos	8 (72,7)	3 (27,3)	0,465
23-30 anos	8 (66,7)	4 (33,3)	
<i>Padrão esquelético cefálico</i>			
Braquicefálico	11 (84,6)	2 (15,4)	0,292
Dolicocefálico	26 (70,3)	11 (29,7)	
<i>Inclinação dos IS</i>			
1.NA < 22	17 (73,9)	6 (26,1)	
1. NA=22	3 (60,0)	2 (40,0)	0,744
1.NA>22	17 (77,3)	5 (22,7)	
<i>Polimorfismo*</i>			
Genótipo 1/1	28 (96,6)	1 (3,4)	
Genótipo 1/2	8 (66,7)	4 (33,3)	0,001
Genótipo 2/2	1 (11,1)	8 (88,9)	

χ^2 ; P < 0,01

5.3 Polimorfismo da IL-1 β

Pode ser observado na Figura 2 que 58% dos indivíduos eram homozigotos para o alelo 1, 20% heterozigoto, 22% homozigotos para o alelo 2. A figura 3 ilustra a eletroforese em gel de agarose (2%) do produto do RFLP nas amostras analisadas.

A caracterização dos indivíduos segundo a ocorrência de RRAE, considerando os genótipos, está mostrada na figura 4. Foi observada a ocorrência de RRAE em 93,1% dos indivíduos com genótipo 1/1, 80% do genótipo 1/2 e 18,2% para o genótipo 2/2, ressaltando-se que essas diferenças foram significativas ($P=0,001$).

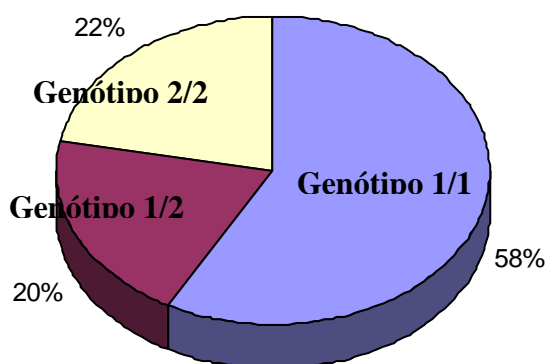


Figura 2- Caracterização dos indivíduos segundo o genótipo para o gene IL-1 β .

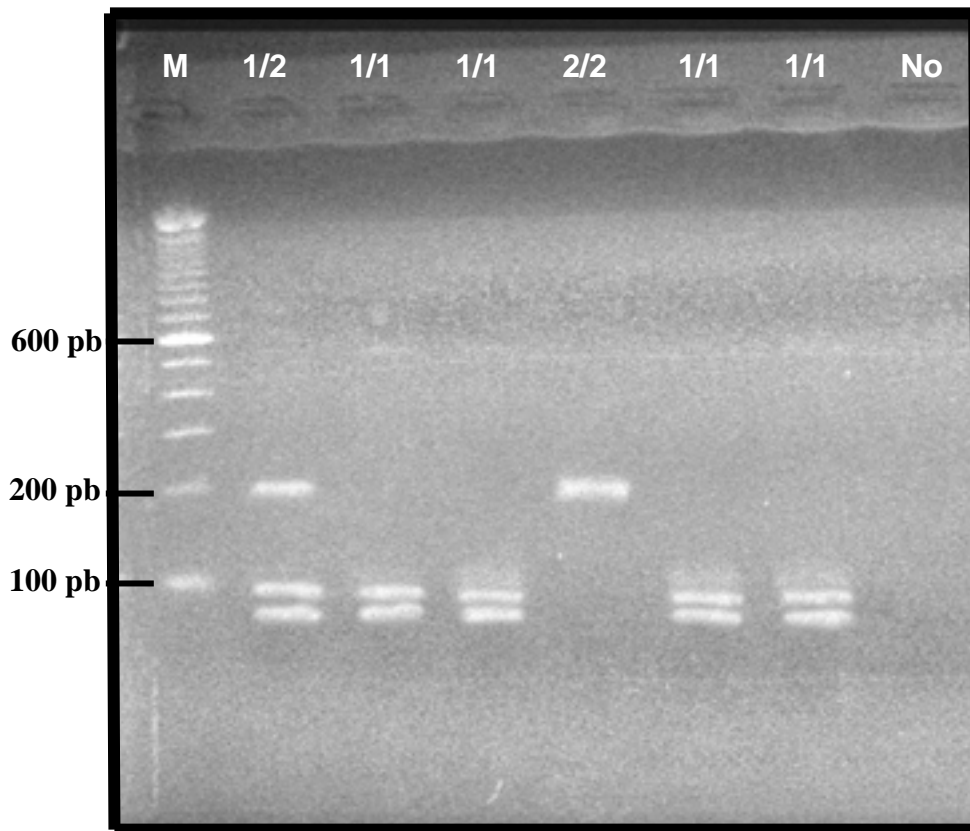


Figura 3 – Eletroforese dos produtos do RFLP ilustrando os genótipos 1/1, 1/2 e 2/2 decorrentes do polimorfismo do gene da IL-1 β . Os produtos resultantes da digestão foram denominados alelo1 (85pb e 97pb) e alelo 2 (182pb). No: controle negativo da PCR. M: marcador de peso molecular- 100pb DNA Ladder.

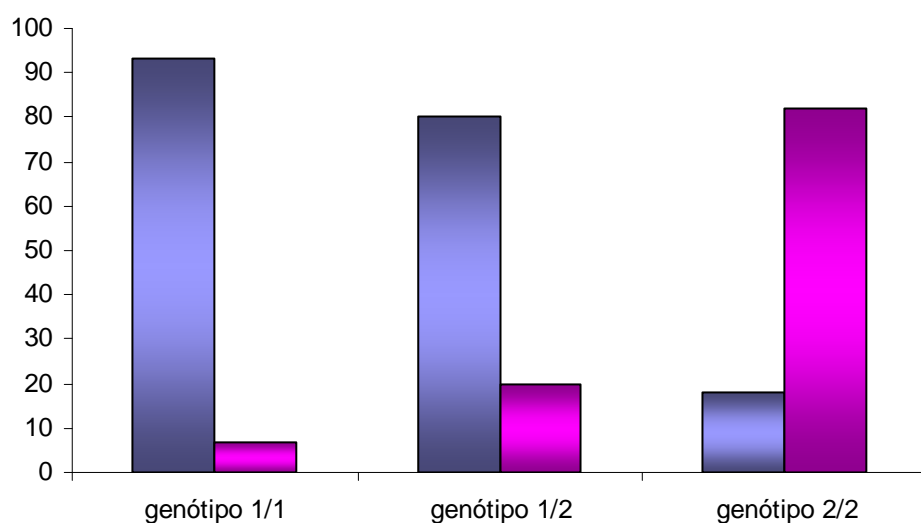


Figura 4- Caracterização dos indivíduos considerando a ocorrência de RRAE segundo o genótipo (χ^2 ; $P = 0,0001$).

Ao se considerar a amostra global, nenhuma associação estatisticamente significativa entre o polimorfismo do gene da IL-1 β e as variáveis: gênero, idade, perfil facial, inclinação dos incisivos superiores pelos ângulos NA e 1-PP. Contudo, ao se proceder a estratificação por gêneros, idade e inclinação do incisivo superior houve associação estatisticamente significativa como pode ser visualizado na Tabela 3.

Quando se relacionou a inclinação dos incisivos superiores com a RRAE e os genótipos pode-se observar que 71% dos indivíduos com RRAE e inclinação diminuída do IS apresentaram o genótipo 1/1. Em contrapartida 83% dos indivíduos com esta mesma inclinação e sem RRAE apresentaram o genótipo 2/2 ($P = 0,001$). Foi verificada que 76% dos indivíduos com inclinação aumentada dos IS (1.NA.>22°) com RRAE mostraram o genótipo 1/1, enquanto que 60% deles sem RRAE abrigaram o genótipo 2/2 ($P = 0,003$). Para os participantes deste estudo com inclinação normal dos IS não foi observada diferença estatística significativa (Figura 5).

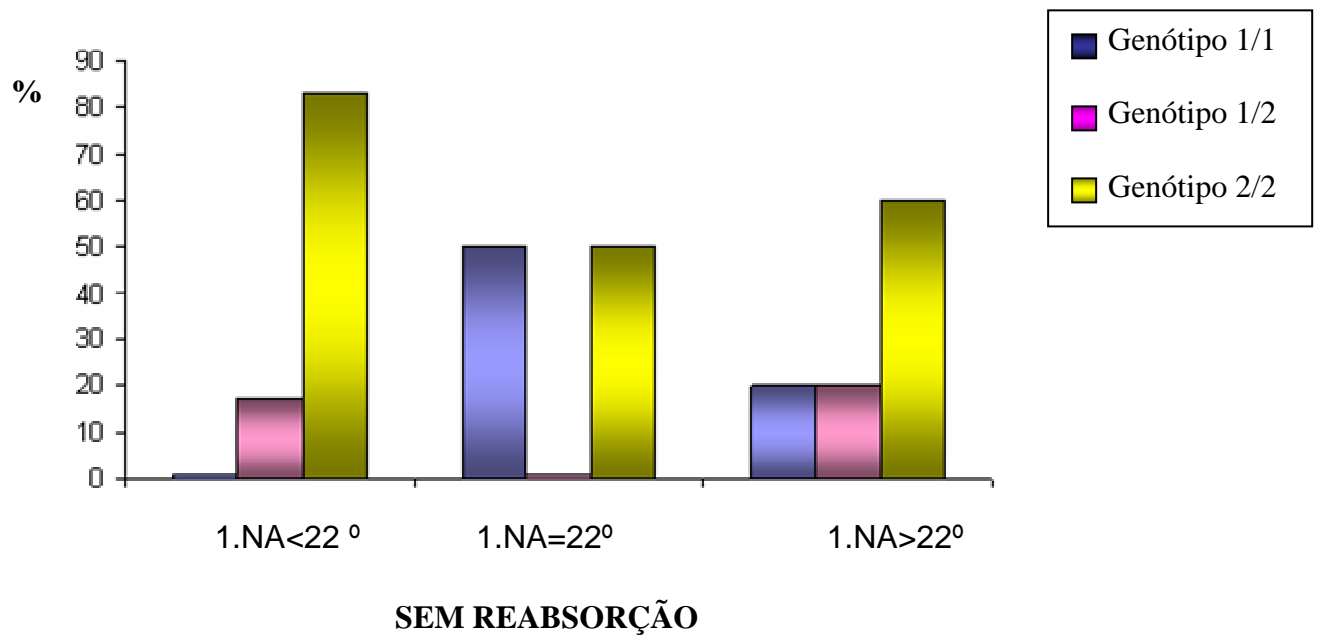
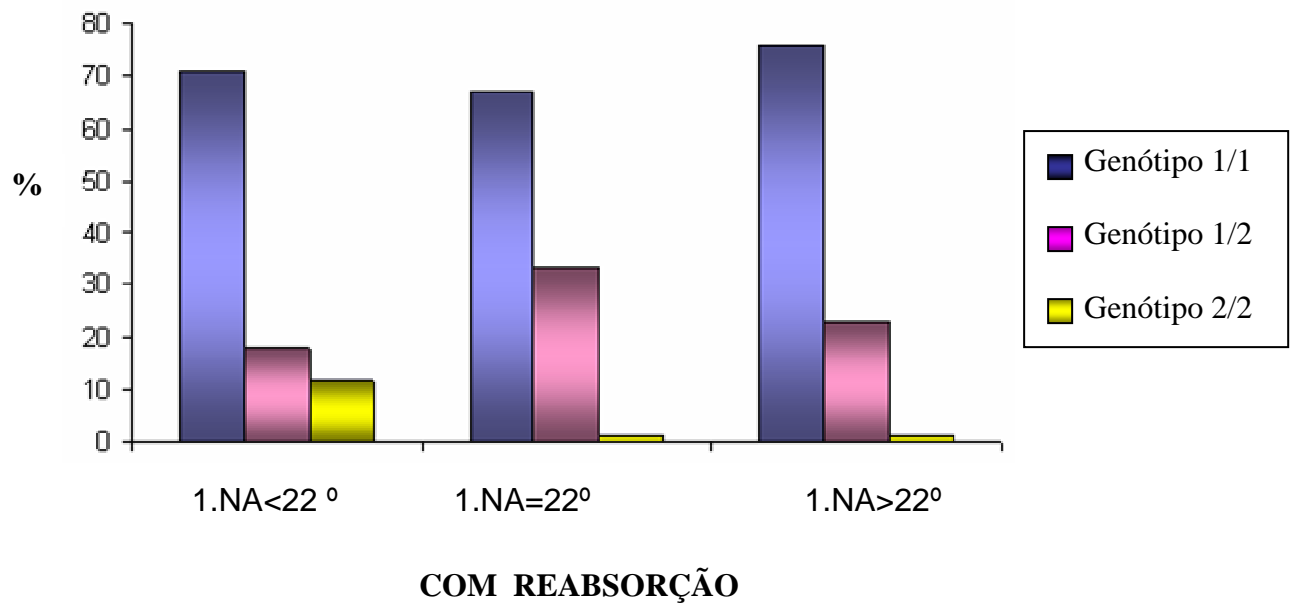


Figura 5 – Distribuição dos indivíduos com e sem RRAE segundo a inclinação dos incisivos superiores (1.NA) e os genótipos para o gene da IL-1 β .

Tabela 3 – Distribuição dos genótipos segundo o gênero, a idade e a inclinação dos incisivos superiores e a ocorrência de reabsorção em indivíduos tratados ortodonticamente (n=50).

		GENÓTIPOS						Valor de P
		1/1		1/2		2/2		
		n	%	n	%	n	%	
Genero*								
Feminino	Com RRAE	17	85	3	15	0	0	0,001
	Sem RRAE	1	10	3	30	6	60	
Masculino	Com RRAE	11	65	5	29	1	6	0,098
	Sem RRAE	0	0	1	33	2	67	
Idade*								
12-18 anos	Com RRAE	15	71	5	24	1	5	0,004
	Sem RRAE	1	17	2	33	3	50	
19-22 anos	Com RRAE	7	87	1	12	0	0	0,063
	Sem RRAE	0	0	2	67	1	33	
23-30 anos	Com RRAE	6	75	2	25	0	0	0,002
	Sem RRAE	0	0	0	0	4	100	
Inclinação IS*								
1.NA <22°	Com RRAE	13	76	3	18	1	6	0,001
	Sem RRAE	0	0	1	17	5	83	
1.N=22°	Com RRAE	2	67	1	33	0	0	0,710
	Sem RRAE	1	50	1	50	0	0	
1.N>22°	Com RRAE	13	76	4	23	0	0	0,001
	Sem RRAE	0	0	2	40	3	60	

χ^2 ; P < 0,01

A Tabela 4 demonstra as freqüências alélicas e genóticas do gene da IL-1 β . O genótipo homocigoto para o alelo 1 esteve presente em 96,6% dos indivíduos com RRAE e o genótipo 2/2 apareceu em 11,1% dos pacientes com RRAE. Esta diferença foi estatisticamente significativa ($P=0,001$). A distribuição genotípica também revelou que 12 indivíduos eram heterocigotos para esse gene. A distribuição alélica mostrou que 64 indivíduos com RRAE portavam o alelo 1.

Tabela 4. Freqüência dos genótipos e dos alelos do gene da IL-1 β .

GENÓTIPOS (n=50)				
	1/1	1/2	2/2	Valor de P
	n (%)	n(%)	n (%)	
Sem RRAE	1 (3,4)	4 (33,3)	8 (88,9)	$P = 0,001$
Com RRAE	28 (96,6)	8 (66,7)	1 (11,1)	

ALELOS (n=100)			
	1	2	
	n (%)	n (%)	
Sem RRAE	6 (6%)	20 (20%)	$P < 0,01$
Com RRAE	64 (64%)	10 (10%)	

χ^2

6.DISCUSSÃO

Apesar de vários estudos investigarem a etiopatogenia da RRAE, nenhum fator isolado ou em associação foi identificado como responsável por esta ocorrência a partir do tratamento ortodôntico (Frits *et al.*, 2005; Al-Qawasmi *et al.*, 2006). Ressalta-se a necessidade de estudos adicionais para desvendar este evento.

O reconhecimento de uma tendência familiar para a RRAE tem sugerido uma possível relação entre genes e esta condição (Harris; Newman; Kineret, 1975, e Tolley, 1997). Entretanto, tal constatação não deve estar desvinculada de componentes do ambiente familiar e outros fatores de risco, tais como: a magnitude da força, sua duração e o tipo de tratamento ortodôntico, tamanho da raiz dos dentes, perfil facial, entre outros.

Este trabalho buscou avaliar a influencia de variáveis como idade, gênero, inclinação dos IS, tipo de má oclusão, padrão cefálico esquelético com a RRAE. Entretanto, esta pesquisa não revelou diferenças estatisticamente significantes em relação às mesmas. Este fato pode ser influenciado pelo número amostral do presente estudo.

Com relação a idade, outros trabalhos também não demonstraram uma associação entre esta variável e RRAE (BAUMRIND *et al.*, 1996 ; HARRIS *et al.*, 1997; HENDRIX *et al.*, 1994).

Neste estudo não se pode observar a associação entre gênero e RRAE, apenas o estudo de Kjaer (1995) relatou ter encontrado mais RRAE em mulheres do que em homens.

Conclusões controversas são vistas na literatura sobre a possível associação causal entre o tipo de má oclusão e RRAE (Baumrind *et al.*, 1996; Hendrix *et al.*, 1994; Mirabella & Artun, 1995; Sameshima & Sinclair, 2001a ; Taithongchai *et al.*, 1996;). Neste estudo foi encontrada ausência de associação entre estas variáveis. Vale ressaltar, que muitos fatores estão envolvidos no tratamento de uma má oclusão, tanto dentaria quanto esquelética, gerando diversas variáveis de risco à RRAE.

Como a movimentação ortodôntica esta relacionada diretamente com o tipo de má oclusão, a quantidade de movimento ortodôntico pode estar positivamente associado com a extensão da RRAE (Parker & Harris, 1998).Em seus estudos

Parker & Harris(1998) atribuíram á extensão do movimento dentário a responsabilidade de 90% do total da variação da RRAE.Em um trespasse horizontal aumentado é possível uma maior possibilidade de RRAE nos incisivos devido a quantidade de retração durante o tratamento ortodôntico (BECK & HARRIS, 1994; HARRIS *et al.*, 1997).

Diante deste fato, a presente investigação avaliou a associação entre RRAE e o polimorfismo da IL-1 β em pacientes tratados ortodonticamente, verificando-se uma associação entre estas duas variáveis. Foi constatado uma diferença significativa para as freqüências genotípicas e alélicas, entre os grupos com e sem RRAE. Fato digno de nota, é que indivíduos portadores do alelo 1 estão mais predispostos a desenvolver a RRAE ou indivíduos com o genótipo homozigoto para o alelo 2 (2/2) estão protegidos desta condição. Estes resultados são concordantes com os achados de AL-Qawasmi *et al.* (2003^a). Estes autores sugeriram que a IL-1 β estimula a reabsorção óssea, assim como as células clásticas durante o movimento ortodôntico. Assim a baixa produção de IL-1 β pode resultar em menor reabsorção do osso cortical da interface com o ligamento periodontal levando a RRAE. O alelo 2 do gene da IL-1 β tem sido associado a um aumento de 4% na produção de IL -1 β (Di Giovine *et al.*, 1992; Pociot *et al.*, 1992;), justificando a proteção que este alelo confere ao indivíduo contra a RRAE.

Esses achados são consistentes com a interpretação de que a RRAE é uma condição complexa influenciada por vários fatores, tendo uma importante contribuição do gene da IL-1 β para a predisposição deste problema indesejável.

É relevante determinar o envolvimento de genes relacionados à RRAE, antes do início do tratamento ortodôntico, pois assim, o tratamento poderá ser possivelmente controlado, com forças leves, intervalo curto entre as manutenções ortodônticas e tomadas radiográficas periódicas, resultando em uma predição mais precisa deste tipo de reabsorção..

7.CONCLUSÃO

Dentro das limitações deste estudo, pode-se concluir que:

- Não houve diferença estatisticamente significativa na ocorrência de RRAE em relação à idade, gênero, inclinação dos IS e má oclusão.
- Maior parcela dos indivíduos tratados ortodonticamente apresentaram RRAE;
- A grande maioria dos indivíduos eram homozigotos para o alelo 1.
- Indivíduos com inclinação diminuída dos IS pertencentes ao genótipo 1/1, apresentaram 71% de RRAE, em contrapartida 83% dos indivíduos com esta mesma inclinação e sem RRAE apresentaram o genótipo 2/2.
- O polimorfismo estudado no gene da IL-1 β teve uma associação estatisticamente significativa com a RRAE.
- Com dados tão significantes, seria prudente, todos os pacientes fazerem o exame do polimorfismo do gene IL-1 β como um exame complementar para o tratamento ortodôntico, possivelmente como uma conduta de rotina clínica.

8.Referências

- Aidar M, Line SRP. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz_Denty_J* 2007, 18(2):148-152.
- Al-Qawasmi RA, Hartsfield JK Jr, Everett ET, Flury L, Liu L, Foroud TM *et al.* Genetic predisposition to external apical root resorption. *Am J Orthod Dentofacial_Orthop* 2003;123:242-52. (a)
- Al-Qawasmi RA, Hartsfield JK Jr, Everett ET, Flury L, Liu L, Foroud TM *et al.* Genetic predisposition to external apical root resorption in orthodontic patients: linkage of chromosome-18 marker. *J Dent Res* 2003;82:356-60. (b)
- Al-Qawasmi RA, Hartsfield JK Jr, Everett ET, Weaver MR, Foroud TM, Faust DM, Roberts WE. Root resorption associated with orthodontic force in inbred mice: genetic contributions. *Eur J Orthod.* 2006 Feb;28(1):13-9.(c)
- Baumrind S, Korn EL, Boyd RL. Apical root resorption in orthodontically treated adults.*Am J Ortod Dentofacial Orthop* 1996 Sept;110(3):311-20.
- Beck BW, Harris EF. Apical root resorption in orthodontically treated subjects: Analysis of edgewise and light wire mechanics. *Am J Othod Dentofacial Orthop* 1994 Apr; 205(4):350-61.
- Bender IB, Byers MR, Mori K. Periapical replacement resorption of permanent, vital, endodontically treated incisors after orthodontic movement: report of two cases. *J Endod.* 1997 Dec;23(12):768-73.
- Brezniak N, Wasserstein A Root resorption after orthodontic treatment. Part 2. Literature review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1993, 103:138-146.
- Brezniak N, Wasserstein A (2002a). Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part I: The basic science aspects. *Angle Orthod* 72:175-179.

- Brezniak N, Wasserstein A (2002b). Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part II: The clinical aspects. *Angle Orthod* 72:180-184.
- CAPELOZZA FILHO, L. Diagnóstico em Ortodontia. Maringá: Dental Press, 2004.
- Consolaro, A. Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas. 2. ed. Maringá: Dental Press International, 2005.
- Di Giovanni et al,1992, Pociot et al (1992) .Interleucina I beta+alello 2:associacio with disease status in adult peiodontiis-Jornal of Clinical Periodonology.
- DeShields RW. A study of root resorption in treated Class II, Division I malocclusions. *Angle Orthod*. 1969 Oct;39(4):231-45.
- Fritz U, Rudzki-Janson I, Paschos E et al. Light microscopic and SEM findings after orthodontic treatment-analysis of a humam specimen. *J Orofac Orthop* 2005 Jan;66(1):39-53.
- Graber TM, Vanarsdall Júnior RL, Barbosa JA. Ortodontia, princípios e técnicas atuais. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p.897.
- Grieve WG, Johnson GK, Moore RN et al. Prostaglandin E (PGE) and intertleukin-1 beta (IL-1 beta) levels in gingival crevivular fluid during human orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1994, 105(4):369-74.
- Harris EF, Kineret SE, Tolley EA. A heritable component for external apical root resorption in patients treated orthodontically. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*_1997;111:301-9.
- Hartsfield J K, Everett E T, Al-Qawasmi R A Genetic factors in external apical root resorption and orthodontic treatment. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*_2004.15:115 – 122

- Hendrix I, Carels C, Kuipers-Jagtman AM et al. A radiographic study of posterior apical root resorption in orthodontic patients, *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1994 Apr; 105(4): 345-9.
- Kajaer I. Morphological characteristics of dentitions developing excessive root resorption during orthodontic treatment. *Eur J Orthod* 1996 Feb;17(1):25-34
- Killiany DM. Root resorption caused by orthodontic treatment: an evidence-based review of literature. *Semin Orthod*. 1999 Jun;5(2):128-33.
- Kurol J, Owman-Moll P, Lundgren D. Time-related root resorption after application of a controlled continuous orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1996 Sep;110(3):303-10.
- Levander E, Malmgren O (1988). Evaluation of the risk of root resorption during orthodontic treatment: a study of upper incisors. *Eur J Orthod* 10:30-38.
- Levander E, Malmgren O, Eliasson S. Evaluation of root resorption in relation to two orthodontic treatment regimes. A clinical experimental study. *Eur J Orthod*. 1994 Jun;16(3):223-8
- Linge L, Linge BO. Patient characteristics and treatment variables associated with apical root resorption during orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991, 99:35-43.
- Malmgren O, Goldson L, Hill C, Orwin A, Petrini L, Lundberg M. Root resorption after orthodontic treatment of traumatized teeth. *Am J Orthod*. 1982 Dec;82(6):487-91.
- Mirabella AD, Artun J. Risk factors for apical root resorption of maxillary anterior teeth in adult orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995 July;108(1):48-55.

- Ng RF, Witherspoon DE, Gutmann JL (1999). Tooth resorption. *Quintessence Int* 30:9-25.
- Newman WG Possible etiologic factors in external root resorption. *Am J Orthod* 1975, 67:522-539.
- Pizzo G, Licata ME, Guiglia R, Giuliana G. Root resorption and orthodontic treatment. Review of the literature. *Minerva Stomatol*, 2007 Jan-Feb;56(1-2):31-44.
- Parker RJ, Harris EF. Directions of orthodontic tooth movements associated with external apical root resorption of the maxillary central incisor. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998 Dec; 114(6): 677-83..
- Pociot-92
- Sameshima Gt, Sinclair PM. Predicting and preventing root resorption: Part I Diagnostic factors. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001a May;119(5):505-10
- Shafer WG, Hine MK, Levy BM. *Tratado de Patologia Bucal*. Rio de Janeiro: Interamericana; 1987.
- Taithongchai R, Sookkorn K, Killiany DM. Facial and dentoalveolar structure and the prediction of apical root shortening. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996,110:296-302.
- Uematsu S, Mogi M, Deguchi T. Interleukin (IL)-1 beta, IL-6, tumor necrosis factor-alpha, epidermal growth factor, and beta 2-microglobulin levels are elevated in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *J Dent Res*, 1996, 75(1):562-7.



ANEXO 1

Universidade Norte do Paraná

Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO

PROTOCOLO: PP 285/07

RESPONSÁVEL: Regina Célia P011- Frederico

O Comitê de Ética em Pesquisa da Unopar analisou e APROVOU quanto ao aspecto ético o projeto “Predisposições genética à reabsorção radicular apical externa.”.

O CEPIUNOPAR estabelece:

- a) O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 — tem IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- b) O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP/UNOPAR (Res. CNS item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- c) O CEP/UNOPAR deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alteram o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP/UNOPAR junto com seu posicionamento.
- d) Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP/UNOPAR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.
- e) Semestralmente devem ser encaminhados relatórios parciais e ao término do projeto o relatório final.

Londrina, 03 de dezembro de 2007

Prof. Dr. Héttiifoshi Suguimoto

Presidente do C.E.P. UNOPAR

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA Av. Pans, 675— Jd. Piza — CLP: 86041-140. Fone: (43) 3371-7834— LONDRINA-PR-
CAMPUS DE LONDRINA (CCBSICCECA): Av. Pano, 675— Jd. Pina CEP: 86041-140 — C.P. 401 — Fone/Fax: (43) 371-7700
— LONDRINA-PR -

ANEXO 2



Universidade Norte do Paraná

PESQUISA SOBRE A PREDISPOSIÇÃO GENÉTICA À REABSORÇÃO RADICULAR APICAL EXTERNA E TRATAMENTO ORTODÔNTICO.

CARTA DE INFORMAÇÃO AO PACIENTE

Prezado(a) Senhor(a):

A Unopar, através de seu Curso de Mestrado em Odontologia, pretende desenvolver pesquisa para estudar a reabsorção radicular (diminuição do comprimento da raiz dos dentes) que pode ocorrer durante o tratamento ortodôntico. Esta pesquisa será útil para que, em uma etapa posterior, ações de controle e prevenção deste tipo de alteração sejam planejadas e desenvolvidas por professores e alunos.

O estudo terá o seguinte objetivo:

- Avaliar a predisposição genética à reabsorção radicular.

Para tanto, serão adotados procedimentos que já foram amplamente utilizados em pesquisas/estudos anteriores e que se mostraram totalmente seguros. Resumidamente, serão realizados:

- Coleta de saliva por meio de um bochecho com solução de glicose para coletar algumas células que servirão para o exame de laboratório.
- O exame de laboratório tem a finalidade de verificar se a reabsorção radicular é uma condição genética que passa de pai para filho.

Será garantido ao (à) participante: que receba respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa; a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo; a segurança de que não será identificada e que se manterá o caráter confidencial da informação relacionada com sua privacidade.

Terminada a pesquisa, os resultados, que são de minha inteira responsabilidade, estarão à sua disposição.

.....

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o(a) Sr(a) _____, portador(a) da cédula de identidade no. _____, após leitura minuciosa da **CARTA DE INFORMAÇÃO AO PACIENTE**, devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**, concordando em participar da pesquisa proposta, sem qualquer despesa e sem qualquer tipo de pagamento por esta participação.

Por estarem de acordo, assinam o presente termo.

Assinatura do Participante

Assinatura do(a) Pesquisador(a)
Dr. José Mário da Silva Filho

Umuarama, de _____ de 2008