

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM ORTODONTIA

MARIA CECILIA GALACINI AÑEZ

AÇÃO DOS ESTERÓIDES ANABOLIZANTES, DECA-DURABOLIN E
DURATESTON, NA MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA EM RATOS

Curitiba 2010

**AÇÃO DOS ESTERÓIDES ANABOLIZANTES, DECA-DURABOLIN E
DURATESTON, NA MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Odontologia – Área de concentração em Ortodontia.

Pós-Graduanda: Maria Cecilia Galacini Añez

Orientador: Prof. Dr. Orlando Tanaka

CURITIBA 2010

Aos meus pais,

Iver Añez Urgel e Marlei de Lourdes Galacini Añez, a quem devo minha vida e minha formação moral. Agradeço por todo amor, carinho e dedicação que sempre me foi dado, por sempre acreditarem em mim e me darem força para superar todas as dificuldades. Obrigada por toda paciência, incentivo e apoio na busca dos meus objetivos. Vocês sempre foram e serão para mim, um exemplo a ser seguido, cada qual com sua qualidade e superação de vida; muitas vezes abdicando de suas próprias vontades para satisfazer as minhas. Com certeza, vocês têm todo o meu reconhecimento e gratidão, e saibam que todas as minhas conquistas são primeiramente de vocês.

“Os nossos pais amam-nos porque somos seus filhos, é um fato inalterável. Nos momentos de sucesso, isso pode parecer irrelevante, mas nas ocasiões de fracasso, oferecem um consolo e uma segurança que não se encontram em qualquer outro lugar.” (Bertrand Russell)

DEDICO.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. Orlando Tanaka, um verdadeiro exemplo do que é ser mestre, fazendo com que eu crescesse e me superasse a cada dia. Obrigada pela orientação exemplar, paciência, dedicação, empenho e compreensão em todos os momentos, por sempre ter estado disposto a me ajudar. Agradeço toda a credibilidade e confiança que me foi dada, tanto como aluna quanto como pessoa. Serei eternamente grata por tudo, mais do que um orientador, com certeza, foi um grande amigo.

AGRADECIMENTOS

À DEUS, minha maior prova de existência e fé. Que sempre esteve ao meu lado, iluminando minha mente e guiando meus passos. Ajudando-me a superar todos os momentos difíceis, dando força, superação e paciência para que eu pudesse concluir todos meus objetivos com serenidade e confiança.

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela oportunidade de realização desse sonho e por todo o crescimento profissional.

Aos meus mestres, professores da Pós- Graduação de Odontologia, Área de Concentração em Ortodontia da PUCPR, Elisa Souza Camargo, Hiroshi Maruo e Odilon Guariza Filho, por todo o auxílio, aprendizado e conhecimento. Mestres que sempre terão o meu respeito e admiração. Foram fundamentais para o meu crescimento profissional e serei eternamente grata por toda a dedicação.

Ao Prof. José Vinicius Bolognesi Maciel cuja ajuda foi fundamental para a conclusão dessa pesquisa. Agradeço imensamente por toda a compreensão e paciência com meus erros, as explicações e ajudas buscando as escolhas certas, a disponibilidade em auxiliar diante de minhas dúvidas assim como a presença em todos os momentos necessários.

À Profa. Aline Cristina Batista Rodrigues Johann, por toda a cooperação e ajuda com a interpretação dos resultados. Meu imenso reconhecimento.

Ao Prof. Sérgio Aparecido Ignácio, pela disposição em nos auxiliar nos resultados estatísticos, assim como a disponibilidade de realizá-los.

À Profa. Lúcia de Noronha, assim como aos funcionários do Laboratório de Patologia Experimental, Ana Paula Camargo Martins, Marina Luise Viola de Azevedo e Misael Gomes Barbosa, essenciais para execução da nossa pesquisa.

À comissão examinadora composta pelos professores: Elisa Souza Camargo, Aline Cristina Batista Rodrigues Johann e Odilon Guariza Filho, por todo o respeito, dedicação, sugestões e ajuda para a conclusão desse trabalho.

Ao Biotério da PUCPR, que nos deu credibilidade para a realização desse trabalho oferecendo a obtenção e manutenção dos animais aqui utilizados.

Aos meus colegas do mestrado Alinne Ulbrich Mores, Ana Leticia Rocha Avila, Cristina Hepp, Denise Odete Manarelli, Dolores Fátima Campos Navarro, Gabriela Pinto Molina da Silva, Ismael Signori, Lilian Mary Karakida, Lourenço Cattani, Maiara Medeiros Ronsani e Thiago Martins Meira, por toda a amizade, o convívio diário, os momentos vividos e as experiências compartilhadas. Obrigada pela compreensão nos momentos difíceis, pela mão sempre estendida, pela força e superação em cada obstáculo. Cada um deixará muitas recordações e saudades.

Aos meus familiares, que vivenciaram cada situação desses 2 anos de mestrado. Obrigada simplesmente pela presença de cada um, sempre dispostos a me acolher em qualquer momento e circunstância.

Ao meu namorado, Carlos Alexandre Manarelli, que embora ausente fisicamente, sempre esteve ao meu lado, disposto a me ouvir, aconselhar, acalmar, ajudar a superar os momentos difíceis assim como a dividir tantos momentos de alegrias. Obrigada por todo amor, carinho, dedicação, compreensão e paciência. Agradeço imensamente pela sua presença e companhia na minha vida.

Aos meus amigos que indiretamente ajudaram para a conclusão desse sonho, por compreenderem a minha ausência, por entenderem tantos convites negados e mesmo assim sempre estarem próximos, fortalecendo-me em cada desafio e encorajando-me a seguir em frente.

Aos alunos da graduação do curso de Odontologia do 7º e 8º períodos, que nos permitiram ajudá-los da melhor maneira possível.

Aos nossos pacientes da clínica de Ortodontia, por todo o carinho e confiança empregado a cada atendimento.

À todos os funcionários da Clínica de Odontologia da PUCPR, pela amizade, carinho e prontidão.

À todos que indiretamente participaram da concretização desse sonho e auxiliaram na minha formação profissional; meu eterno reconhecimento e minha imensa gratidão.

SUMÁRIO

PÁGINA TÍTULO.....	8
RESUMO.....	9
INTRODUÇÃO.....	10
MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	15
DISCUSSÃO.....	19
CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
LEGENDAS.....	33
TABELAS.....	34
FIGURAS.....	35
2-ARTIGO EM INGLÊS.....	37
TITLE PAGE.....	38
ABSTRACT.....	39
INTRODUCTION.....	40
MATERIALS AND METHODS.....	42
RESULTS.....	45
DISCUSSION.....	48
CONCLUSION.....	51
REFERENCES.....	52
FIGURE CAPTIONS.....	56
TABLES.....	57
FIGURES.....	58
3- ANEXOS.....	60
ANEXO I- REVISÃO DE LITERATURA.....	61
ANEXO II - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	69
ANEXO III- MATERIAIS E MÉTODOS.....	70
ANEXO IV – ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	74
ANEXO V – ILUSTRAÇÕES.....	78
ANEXO VI – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NO PERIÓDICO <i>AMERICAN JOURNAL OF ORTHODONTICS AND DENTOFACIAL ORTHOPEDICS</i>	82

PÁGINA TÍTULO

**AÇÃO DOS ESTERÓIDES ANABOLIZANTES, DECA-DURABOLIN E DURATESTON, NA
MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA EM RATOS**

Maria Cecilia Galacini Añez

Mestranda em Odontologia- Área de concentração em Ortodontia

Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

Curitiba, Paraná, Brasil

Orlando Tanaka

Doutor em Odontologia - Ortodontia – FO-UFRJ

Professor Titular – Curso de Odontologia – CCBS – PUCPR

Graduação e Pós-Graduação em Odontologia – Ortodontia

Diplomado pelo Board Brasileiro de Ortodontia

Endereço para correspondência:

Programa de Pós-Graduação em Odontologia

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Fone: 55 41 32711637 Fax: 55 41 32711405

Rua Imaculada Conceição, 1155

80.215-901 – Curitiba – PR – Brasil

email: tanakaom@gmail.com

RESUMO

AÑEZ, Maria Cecilia Galacini - Ação dos esteróides anabolizantes, Deca-durabolin e Durateston, na movimentação dentária em ratos. Orientador: Prof. Dr. Orlando Tanaka. Curitiba PUCPR – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2010. Dissertação (Mestrado em Odontologia, Ortodontia).

Introdução: Os esteróides anabolizantes androgênicos (EAA) são derivados sintéticos da testosterona, inicialmente utilizados com fins terapêuticos, contudo, seu uso indevido vem crescendo entre os adolescentes. Objetivou-se avaliar os efeitos dos anabolizantes Deca-durabolin e Durateston durante a movimentação dentária. **Método:** A amostra foi composta por 100 ratos *Wistar* divididos em três grupos: Controle (C) 30 ratos (avaliados nos 1º, 2º, 3º, 5º, 7º e 14º dias de observação), grupos experimentais Deca-durabolin (DE) e Durateston (DU), com 35 ratos cada (observados nos dias 0, 1, 2, 3, 5, 7 e 14). Aplicou-se em todos os grupos força de 50cN do primeiro molar direito aos incisivos superiores; 20 dias antes da instalação do dispositivo ortodôntico aplicou-se no grupo experimental 2,5mg/semana do anabolizante respectivo de cada grupo até o momento da morte do animal. As peças foram processadas, coradas com hematoxilina-eosina e avaliadas em microscopia de luz. **Resultado:** O teste estatístico Anova a dois critérios de classificação revelou que DE e DU apresentaram aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) no número de vasos sanguíneos (VS) comparado ao C no 3º dia, e aumento estatisticamente significativo em DE no número de osteoclastos comparado ao C no 3º dia ($p < 0,05$). **Conclusão:** Concluiu-se que os anabolizantes Deca-durabolin e Durateston podem interferir na movimentação dentária, favorecendo a reabsorção óssea.

INTRODUÇÃO

Existem várias razões para se realizar o tratamento ortodôntico; dentre elas há indicações psicossociais, de desenvolvimento, funcionais, para controlar traumas ou doenças e também como tratamento coadjuvante às outras especialidades (PROFFIT, 2007). Deve-se considerar cada uma dessas indicações, analisando o paciente adequadamente para então se obter correto diagnóstico e plano de tratamento.

Durante o tratamento ortodôntico, certos medicamentos são comumente ingeridos pelos pacientes e alguns deles podem interferir no processo da movimentação dentária. Dentre esses medicamentos, encontra-se o uso de esteróides anabolizantes androgênicos (EAA). Também conhecidos simplesmente como anabolizantes, os EAA são derivados sintéticos da testosterona (HOBBERMAN e YESALIS, 1995; GOLDBERG et al., 2000; WILMORE e COSTILL, 2001; KAM e YARROW, 2005; WEINECK, 2005), e foram inicialmente desenvolvidos com fins terapêuticos. Estes são utilizados para o tratamento de pacientes com deficiências androgênicas como hipogonadismo (BHASIN et al., 1997; DE ROSE e NÓBREGA, 1999), distúrbios de crescimento (GEUSENS e DEQUEKER, 1986), na recuperação de cirurgias e atrofia muscular, e no tratamento da osteoporose, do câncer de mama e de anemias, uma vez que estimulam a eritropoiese (HEBERT et al., 1984; CELOTTI e CESI, 1992; CREUTZBERG et al., 2003). Entretanto, o uso dessas drogas destacou-se no meio esportivo, devido às suas propriedades anabólicas que promovem o aumento da massa muscular, do crescimento ósseo, do desenvolvimento da força, da velocidade de recuperação da musculatura e o controle dos níveis de gordura corporal melhorando o desempenho físico (EVANS, 2004).

Entretanto, o que vem chamando mais a atenção é o uso indevido dos esteróides, fazendo parte da rotina de jovens escolares e praticantes de atividades físicas em academias ou centro de práticas esportivas (EVANS, 2004; PARKINSON e EVANS, 2006). Seu uso indevido provoca muitos efeitos adversos como distúrbios hepáticos, tumores renais, câncer de próstata, infertilidade e cefaléias. Nas mulheres pode ocorrer atrofia mamária em

resposta aos níveis elevados de hormônios masculinizantes, bem como ciclos menstruais irregulares, esterilidade, crescimento de pêlos com distribuição masculina, alteração da voz para tom mais grave e hipertrofia do clitóris. Aumento ou diminuição da libido também é relatado, tanto em homens quanto em mulheres (BROWER, 1993). Segundo BEHRKE et al., 1990, o uso ilícito de EAA está associado com episódios de depressão, quadros de esquizofrenia, delírios, agressividade e até suicídios e homicídios. Na adolescência ocorre maturação esquelética precoce, com fechamento prematuro das epífises ósseas e puberdade acelerada, levando a um crescimento raquítico, acne, calvície precoce e exacerbação da apnéia do sono (BROWER, 1992). Porém, nem todos esses efeitos colaterais e a ilegalidade para obtenção dos medicamentos parecem deter o uso pelos adolescentes (LOBO, 2002).

Há vários tipos de anabolizantes, porém os mais consumidos são os orais e injetáveis. Em entrevista com usuários de EAA das academias de Salvador, os anabolizantes Deca-durabolin (decanoato de nandrolona) e o Durateston (sais de testosterona) estão entre os três esteróides mais utilizados (IRIART e ANDRADE, 2002). Isto é confirmado pelos dados obtidos por SILVA et al., 2007; nos quais esses dois anabolizantes também estavam na lista dos mais utilizados por frequentadores de academia.

Os pacientes em tratamento ortodôntico, muitas vezes fazem uso indevido de esteróides anabolizantes. Devido à conhecida influência desse medicamento na formação óssea, acelerando o *turnover* ósseo (GIROTRA et al., 2006) assim como ocasionando maior síntese de fibras colágenas (CARVALHO E OKAMOTO, 1985); e sendo esses, elementos que auxiliam na remodelação óssea, é possível que a associação do fármaco com a biomecânica ortodôntica interfira na movimentação dentária. Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar a interação dos anabolizantes Deca-durabolin e Durateston, no ligamento periodontal e no osso alveolar após a indução de movimento dentário em ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado com parecer nº 492 pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

Foram utilizados 100 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com 9 semanas de vida, pesando aproximadamente 300-350g, fornecidos e mantidos pelo Biotério da PUCPR. Os animais foram acondicionados em gaiolas plásticas, cada uma contendo 5 animais, com temperatura controlada entre 19°C e 22°C e fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro para evitar alterações no ciclo metabólico. Foram fornecidos água e ração triturada *ad libitum*. O ambiente de manutenção apresentava-se constantemente limpo e arejado.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grandes grupos: grupo Controle (C), grupo experimental Deca-Durabolin (DE) e grupo experimental Durateston (DU). Dentro do grupo controle, os animais foram subdivididos em 6 subgrupos 1, 2, 3, 5, 7 e 14 dias; e em cada grupo experimental, os animais foram subdivididos em 7 subgrupos 0, 1, 2, 3, 5, 7 e 14 dias. Esses subgrupos correspondem ao dia da morte do animal após a aplicação do dispositivo ortodôntico, com a finalidade de caracterizar a evolução do movimento dentário induzido ao longo do tempo. Cada subgrupo continha 5 ratos; conseqüentemente, o grupo controle foi constituído de 30 ratos e cada grupo experimental de 35 ratos.

No grupo controle (C) não se realizou qualquer aplicação de medicamento. No grupo experimental (DE) foi administrado o esteróide anabolizante DECA- DURABOLIN® (decanoato de nandrolona - 1 ampola 1ml - 50mg – Akzo Nobel Ltda - laboratório ORGANON- BRASIL). No grupo experimental (DU) foi administrado o esteróide anabolizante DURATESTON® (sais de testosterona – 1 ampola 1ml - 250mg- Akzo Nobel Ltda- laboratório ORGANON- BRASIL). Foram realizadas nos animais dos grupos experimentais, aplicações a cada três dias, na concentração de 2,5mg/semana, via intramuscular alternando entre o lado direito e esquerdo, iniciando 20 dias antes da aplicação do dispositivo ortodôntico e prosseguindo até o momento da

morte do animal, sempre no mesmo horário (BOUILON e PRODONOVA, 2000).

Em todos os animais foi instalado um dispositivo ortodôntico para caracterizar a movimentação dentária. Para isso, os animais foram sedados com solução anestésica Tiletamina/Zolazepam (Zoletil 50[®] do Brasil Indústria e Comércio Ltda, São Paulo- SP, Virbac), na dosagem de 50mg/kg de peso corporal e média de volume de 0,25 ml/animal. Esta substância foi injetada no músculo quadríceps do membro inferior esquerdo.

O dispositivo ortodôntico utilizado consistiu em uma mola fechada de níquel-titânio de 9mm (3M Unitek[®]), fixada entre o primeiro molar superior direito e os incisivos centrais, produzindo força recíproca de 50cN. Após a ativação inicial, o dispositivo não foi reativado durante o período experimental, no entanto seu posicionamento foi conferido diariamente. Os animais que morreram antes do término do experimento ou nos quais a mola foi perdida, foram excluídos da amostra e substituídos por outros animais para ser feito o experimento.

A morte dos animais foi obtida por meio de dose excessiva de solução anestésica (Quetamina/ 5,4ml/kg), via intraperitoneal. A partir disso, a maxila de cada animal foi removida, dissecada e seccionada na sua linha mediana. As peças foram então introduzidas em solução de formaldeído à 10% durante 24 horas para a adequada fixação. Ao término, as peças foram condicionadas em solução desmineralizadora de etilenodiaminotetracetatodissodico (EDTA) à 10% até que fossem completamente descalcificadas. Obtida a completa desmineralização, os espécimes foram processados histologicamente e incluídos em parafina. Secções transversais foram realizadas em cada peça na região cervical com espessura de 5µm e corados com hematoxilina e eosina (HE).

As peças foram coradas pelo método hematoxilina - eosina de Harris e Lison, e escolheu-se a raiz intermediária vestibular para a observação dos resultados experimentais. Ao término dos procedimentos laboratoriais, as lâminas foram analisadas sob microscopia de luz com aumento original de 400X e avaliados qualitativamente e quantitativamente. Para análise qualitativa

observou-se a disposição das fibras colágenas assim como a forma dos fibroblastos, tanto no lado de compressão como no lado tracionado e verificou-se também a presença de reabsorção solapante na raiz intermediária vestibular. As áreas hialinizadas foram observadas em todas as raízes do 1º molar. Na análise quantitativa, quantificaram-se os osteoclastos, as lacunas de howship e os vasos sanguíneos em todo o ligamento periodontal da raiz intermediária vestibular. O critério histológico para identificação de células osteoclásticas foi a presença de células multinucleadas e eosinofílicas adjacentes à superfície óssea (ARIAS e MÁRQUEZ-OROSCO, 2006), e as lacunas de Howship contadas foram aquelas próximas às células osteoclásticas, consideradas ativas.

Para análise estatística das variáveis categóricas (FC, FB, RS, AH) aplicou-se o teste Qui-Quadrado para todos os grupos. Para as variáveis contínuas (OC, LH, VS), tanto para DE quanto para DU, utilizou-se o teste Anova a um critério de classificação seguido do teste não paramétrico de comparações múltiplas de Games-Howell. Para avaliação das variáveis contínuas, comparando-se todos os grupos, utilizou-se Anova a 2 critérios de classificação.

RESULTADOS

ANÁLISE QUALITATIVA

Grupo Controle (C)

No 1º dia (C1), em toda a extensão do ligamento periodontal (LP), observou-se feixes de fibras colágenas (FC) desorganizadas no lado de compressão com predomínio de fibroblastos (FB) arredondados, enquanto no lado de tração, observou-se uma disposição das fibras mais organizadas estando elas estiradas e paralelas entre si com predomínio de fibroblastos fusiformes. Havia pouca quantidade de vasos sanguíneos (VS) estando eles comprimidos no lado de compressão e dilatados na área tracionada. Verificou-se também, a presença de reabsorção solapante (RS).

Do mesmo modo, todos os demais tempos apresentaram as mesmas características quanto à disposição de FC e de FB acima citados, diferindo somente na intensidade de organização. No 2º dia (C2), nenhuma mudança foi observada, mantendo-se os mesmos resultados.

A partir do 3º dia (C3), as fibras tornaram-se mais desorganizadas no lado de compressão, o número de osteoclastos (OC) localizados no interior das lacunas de Howship (LH) aumentou, assim como o número de VS (Figura 1a, página 35). Notou-se também, maior presença de RS (Figura 1c, página 35). Os resultados descritos acima se intensificaram no 5º dia (C5), alcançando o auge no número de OC e VS (Figura 2a, página 36).

A partir do 7º dia (C7) houve decréscimo no número de OC; porém, ainda com presença de RS. As disposições das FC mantiveram-se iguais, diminuindo levemente na intensidade de desorganização. O número de VS permaneceu constante até o 14º dia. No 14º dia (C14), os feixes de FC no lado de compressão tornaram-se menos desorganizadas; contudo, ainda notou-se a presença de RS.

Grupo Experimental Deca-durabolin

No grupo DE, no dia 0 (DE0) haviam feixes de FC organizadas, estiradas e paralelas entre si tanto no lado de compressão quanto no lado de tração, predomínio de FB fusiformes e grande número de VS pela extensão do ligamento periodontal, não houve presença de reabsorção solapante.

A partir do 1º dia (DE1) as disposições das fibras no lado de compressão apresentavam-se desorganizadas com predomínio de FB arredondados enquanto no lado tracionado encontravam-se estiradas com FB fusiformes. A mesma disposição se manteve ao longo de todos os dias do grupo experimental, variando somente na intensidade. Houve diminuição no número de VS quando se comparou DE1 a DE0 e pode-se observar a presença de reabsorção solapante.

Os eventos biológicos foram se intensificando, atingindo o auge no 3º dia (DE3) em que se verificou o maior número de OC e VS, assim como se obteve maior intensificação de reabsorção solapante (Figura 1d, 1f – página 35). A partir do 5º dia (DE5) o número de OC diminuiu consideravelmente, assim como de VS; observou-se também, melhor organização das FC no lado de compressão quando se comparou ao grupo C, sendo esta semelhante ao 14º dia do controle, notou-se ainda presença de RS (Figura 2d, 2f- página 36).

No 7º dia (DE7) as FC mantinham-se a se reorganizar, melhorando as suas disposições no lado de compressão. Constatou-se ainda a presença de reabsorção solapante, porém não mais intensa. No 14º dia (DE14), 80% da amostra não apresentavam RS e as outras características se mantiveram, mantendo a tendência à normalidade.

Grupo Experimental Durateston

No grupo experimental Durateston (DU) observou-se no tempo 0 (DU0) feixes de FC organizadas dispostas em ambos os lados do ligamento periodontal, compressão e tração, com predomínio de FB fusiformes. Verificou-se também grande número de VS com ausência de reabsorção solapante.

No 1º dia (DU1) as FC tornaram-se desorganizadas no lado de compressão com predomínio de FB arredondados enquanto no lado de tração mantiveram-se iguais, constatou-se uma diminuição no número de VS comparado a DU0 e pode-se observar a presença de reabsorção solapante. Do mesmo modo nos demais grupos, as disposições das fibras mantiveram as mesmas características apresentadas no 1º dia variando somente em intensidade de organização. Os resultados referentes ao 2º dia mantiveram-se semelhantes a DU1.

A partir do 3º dia (DU3), os eventos biológicos tornaram-se mais intensos, alcançando o maior número de OC e VS, do mesmo modo que a presença de RS se intensificou (Figura 1g e 1i, página 35). No 5º dia (DU5), o número de OC diminuiu quando comparado a DU3, porém, a presença de RS permaneceu constante. De maneira semelhantemente ao grupo DE, pode-se observar mais reorganização das fibras ao se comparar ao grupo controle (Figura 2g, página 36).

No 7º dia (DU7) as fibras continuaram a se reorganizar. Constatou-se diminuição no número de OC quando comparado a DU5, assim como leve diminuição no número de VS. Ainda observou-se presença de RS. No 14º dia (DU14) as mesmas características do DU7 foram encontradas, diferenciando somente na ausência de reabsorção solapante, mostrando, portando, tendência à normalidade.

Com relação às áreas hialinas (AH), verificou-se no grupo Controle a presença em todos os dias, sendo mais significativa ao 5º dia de movimentação dentária, e concentrada principalmente na raiz Disto-Palatina (DP). Nos grupos experimentais, não se observou AH no dia 0, em que não foi realizada movimentação. A presença de AH foi crescente tanto para DE quanto para DU no decorrer dos tempos, sendo mais evidente no 3º dia, concentradas na raiz DP ou associada à Disto-Vestibular (DP+DV). A partir do 7º dia, notou-se diminuição considerável em ambos os grupos, ausentando-se por completo no 14º dia.

ANÁLISE QUANTITATIVA

No grupo Controle notou-se aumento no número de OC no decorrer dos dias atingindo seu auge no 5º dia, em que demonstrou aumento estatisticamente significativo quando comparou C5 aos demais tempos ($p < 0,05$). Do mesmo modo, o número de VS também apresentou aumento estatisticamente significativo quando comparado C5 à C1 e C2 ($p < 0,05$).

No grupo DE e DU observamos no 1º dia diminuição estatisticamente significativa no número de VS quando comparado ao dia 0 ($p < 0,05$). O número de OC foi crescente obtendo aumento estatisticamente significativo no 3º dia de ambos os grupos experimentais, quando comparado aos demais dias ($p < 0,05$). Do mesmo modo, o número de VS também demonstrou aumento estatisticamente significativo no 3º dia quando comparado ao 1º e 2º dia ($p < 0,05$).

A correlação entre osteoclastos e lacunas de howship mostrou-se significativa para todos os grupos e em todos os dias do experimento (Gráfico 1- página 76).

Ao se comparar os grupos DE e DU, tanto no dia 0 como nos demais dias, não se observou diferença estatisticamente significativa entre as variáveis OC, LH e VS ($p > 0,05$).

Ao se comparar o 3º dia entre todos os grupos, DE demonstrou aumento estatisticamente significativo tanto para OC quanto para VS quando comparado a C3 ($p < 0,05$). O grupo DU, apresentou aumento estatisticamente significativo no número de VS quando comparado ao C no 3º dia ($p < 0,05$), e embora não se observou diferença estatística relacionado à OC ($p > 0,05$), verificou-se que DU3 apresentou média superior a C3 (Tabela 1, página 34).

DISCUSSÃO

Número escasso de trabalhos com anabolizantes está direcionado para a Odontologia. OZCELIK et al., 2006, constataram aumento do volume gengival em usuários do medicamento. BARROS et al., 2008, avaliaram os efeitos do anabolizante no sistema mastigatório e observaram que os esteróides aumentaram a incidência de disfunção temporomandibular, assim como seus sinais e sintomas. BARRETT e HARRIS, 1993, verificaram que os anabolizantes influenciam o crescimento crânio-facial, promovendo alterações no tamanho e na morfologia. E, GEBHARDT e PANCHERZ, 2003, concluíram que os esteróides têm influência direta no crescimento mandibular. Contudo, ainda não há na literatura artigos que relacionem os esteróides anabolizantes androgênicos com a movimentação dentária. Sabendo do crescente número de usuários, principalmente, entre jovens adolescentes, e sendo essa a faixa etária na qual é corriqueira a realização do tratamento ortodôntico, propusemos a abordagem a esse estudo.

Os resultados encontrados no grupo controle são características condizentes com as respostas biológicas e teciduais obtidas a partir de forças mecânicas promovidas pela movimentação dentária ortodôntica sobre o ligamento periodontal e osso alveolar, concernentes aos estudos de MACAPANPAN et al., 1954, e HELLER e NANDA, 1979. No presente estudo, comparando-o aos grupos experimentais, os resultados obtidos revelaram que o anabolizante produziu algumas mudanças biológicas relevantes.

Constatou-se em ambos os grupos experimentais que o maior número de osteoclastos foi verificado no 3º dia, sendo esse número diminuído a partir do 5º dia. No grupo controle o número de osteoclastos foi crescente nos primeiros dias, alcançando seu auge somente no 5º dia e seu declínio ocorreu a partir do 7º dia. Além disso, analisando o número de osteoclastos entre os grupos, foi possível observar que ambos os grupos experimentais apresentaram no 3º dia, médias superiores ao grupo controle, sendo estatisticamente significativa quando se comparou DE3 e C3. Sugere-se, portanto, que os anabolizantes possam ter acentuado e acelerado a reabsorção óssea.

Sabe-se que o anabolizante tem uma relação direta com a neoformação óssea, e essa correlação está relacionada à maior proliferação de células osteoblásticas (FORTUNATO et al., 2007). Sendo os osteoclastos ativados a partir dos osteoblastos (FRACALOSSI et al., 2009), pode-se sugerir que essa seja uma das razões para a maior reabsorção causada nos grupos experimentais, quando comparada à do grupo controle. Outra hipótese seria a de que o anabolizante possa atuar à semelhança do hormônio de crescimento, que ocasiona um efeito bifásico no osso atuando primeiramente na ativação da reabsorção óssea e posteriormente na neoformação (DANAHUE, ROSEN, 1999; ACKERT-BICKNELL et al., 2002).

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, pode-se observar, em ambos os grupos experimentais, maior reorganização das fibras colágenas a partir do 5º dia, enquanto no grupo controle tal organização se assemelhou somente no 14º dia. Constatou-se também, que em DE e DU já não havia presença de áreas hialinizadas a partir do 7º dia, enquanto no C essa ausência só foi observada no 14º dia. Isso nos leva à hipótese de que o anabolizante acelera o processo de remodelação das fibras do ligamento periodontal e possivelmente a neoformação óssea. Haja visto que o esteróide tem papel importante no processo de reparo, ocasionando maior síntese de fibras colágenas (CARVALHO e OKAMOTO, 1985; FALANGA et al., 1998), aumentando a quantidade de fibroblastos e de substância fundamental (CARVALHO e OKAMOTO, 1985), essa hipótese sugerida pode ter relevância, uma vez que esses elementos são fundamentais para a reorganização das fibras e conseqüente remodelação óssea. Do mesmo modo, RETAMOSO et al., 2009 verificou em seu estudo que a maturação das fibras colágenas ocorre por completo somente ao 14º dia em ratos que foram submetidos a movimentação dentária sem nenhuma aplicação de medicamento.

KADI, 2000, e SMURAWA e CONGENI, 2007, relatam que entre os efeitos dos anabolizantes está a formação óssea, assim como GIROTRA et al., 2006 reforçam que agentes anabólicos influenciam a neoformação óssea, melhoram a densidade mineral assim como o *turnover* ósseo. Contudo, estudos posteriores poderão ser desenvolvidos para avaliar a neoformação óssea.

Também foi verificado no presente trabalho, aumento estatisticamente significativo no número de vasos sanguíneos em DE3 e DU3 quando comparados a C3. A influência dos esteróides anabólicos na angiogênese ainda é escassa, porém, segundo CARVALHO e OKAMOTO, 1985, os anabolizantes aceleram a quantidade de vasos neoformados. Ainda em relação aos vasos sanguíneos, foi verificado declínio estatisticamente significativo em ambos os grupos experimentais quando se comparou o 1º dia com o dia 0, resultado esperado devido aos processos biológicos decorrentes a movimentação dentária, nos quais ocorrem nos períodos iniciais após a aplicação da força, compressão nos vasos e diminuição da quantidade dos mesmos no lado de compressão (FRACALOSSI et al., 2009).

Comparando-se também o dia 0 com o 1º dia nos grupos experimentais, verificou-se no 1º dia a desorganização das fibras no lado de compressão assim como o predomínio de fibroblastos arredondados. Estes resultados são condizentes com os eventos biológicos naturais decorrentes da movimentação ortodôntica, em que a força modifica a disposição das FC assim como a morfologia dos FB nas áreas pressionadas (MACAPANPAN e WEINMANN, 1954).

Quando a força aplicada ao dente é de grande intensidade, pode haver o colapso total dos vasos com ausência de oxigênio, ocorrendo morte celular, migração de células e a formação de áreas hialinas (FRACALOSSI et al., 2009). A força empregada no presente estudo foi de 50cN e baseada na literatura (GONZALES et al., 2009). Pode-se considerar que o nível de força empregado produziu força exagerada por ter ocasionado reabsorção solapante e áreas hialinas em grande parte dos tempos experimentais. Contudo, como o objetivo do trabalho foi avaliar os aspectos microscópicos da movimentação dentária induzida, a utilização dessa força para o experimento foi pertinente, uma vez que o trabalho necessita da presença desses fenômenos para estudar algumas condicionantes que alteram as características microscópicas dos tecidos.

A escolha da raiz intermediária vestibular para análise foi decorrente do estudo de FRACALOSSI et al. (2009), que mostram que o primeiro molar superior do rato pode apresentar de 4 a 6 raízes, sendo na maioria das vezes 5

raízes, sendo elas: mesiovestibular (MV), mesiolingual (ML), intermediária vestibular (IV), distovestibular (DV) e distolingual (DL). A diferença na forma e no volume das raízes do primeiro molar superior direito tem influência direta na distribuição da força utilizada no movimento. Nas raízes mesiais, maiores e mais volumosas, os fenômenos biológicos mostram-se mais moderados; enquanto nas raízes distais, menores e menos volumosas, os fenômenos revelam-se intensos. Devido a essa diferença de intensidade, optou-se pela avaliação na raiz intermediária vestibular, onde não há tanta dissipação de força como ocorre nas raízes mesiais, e nem resultados exuberantes como ocorre nas raízes distais. Corroborando com esses achados pode-se verificar no presente estudo que as áreas hialinizadas encontravam-se principalmente nas raízes distais, concentradas na DP ou em associação com a DV.

A escolha pelo corte transversal na região cervical do molar no presente estudo decorreu da maior incidência de força nessa região, devido ao volume radicular ser menor, obtendo-se assim fenômenos mais significativos (FRACALOSSO et al., 2009).

O número crescente de usuários de esteróides anabolizantes (EAA) vem aumentando significativamente entre os adolescentes nas últimas décadas (CATLIN et al., 1991; YESALIS et al., 1993; KORKIA et al., 1997; FRANKE et al., 1997; HARTGENS et al., 2004; MATAVA, 2005). YESALIS et al., 1993, estimaram que mais de um milhão de pessoas usam ou já usaram EAA, ao menos uma vez na vida, nos Estados Unidos da América. No Brasil, poucos estudos foram realizados até o presente momento. De acordo com CONCEIÇÃO et al. em 1999, 24,3% dos praticantes de musculação de uma academia de Porto Alegre estavam usando esteróides anabolizantes. ARAÚJO et al., 2002, demonstraram prevalência de 24% de usuários de EAA e suplementação, quando realizaram pesquisa em 14 academias de Goiânia. SILVA e MOREAU, 2003, avaliando 3 grandes academias em São Paulo, observaram que a prevalência de uso de anabolizantes era de 8%, representando um total de 206 indivíduos.

Dentro dessa elevada porcentagem de usuários, o uso é significativamente maior no sexo masculino do que no sexo feminino (YESALIS et al., 1993; FAIGENBAUM et al., 1998; GRENN et al., 2001; NILSSON et al.,

2001). Isso pode ser decorrente do decréscimo de participação feminina em atividades esportivas no início da adolescência comparado ao sexo masculino (52), ou talvez pelas mulheres acharem os efeitos virilizantes, como alteração de voz e crescimento de pelos, não tão aceitos na sociedade (FAIGENBAUM, 1998). A prevalência do uso de EAA geralmente aumenta com a idade, tendo início em média, de 11 a 13 anos para meninos, e 10 a 12 anos para meninas (FAIGENBAUM, 1998). Como a maioria dos usuários são praticantes de atividades físicas em academias, e usam essas drogas com finalidade estética e com o intuito de atingir melhores performances físicas (EVANS, 1997), muitos utilizam doses suprafisiológicas para obtenção de resultados mais rápidos. No presente trabalho a dosagem utilizada nos ratos foi de 2,5mg/semana, sendo essa obtida através da proporção de peso rato/homem e com base em uma dosagem de 500mg/semana utilizada entre os usuários para ambos anabolizantes (<http://wgtjiujitsucn.blogspot.com/2010/01/anabolizantes.html> ; <http://www.cbcm.com.br/modulos/artigos/descricao.php?cod=16>).

O efeito anabólico da testosterona depende da dose, sendo que o aumento significativo do músculo só ocorre em doses iguais ou superiores a 300mg/semana (BHASIN et al., 2001; SINHA-HIKIM et al., 2002); e conforme os achados de PARKINSON e EVANS em 2006, a maioria dos usuários utiliza uma dose de 500mg/semana. Doses suprafisiológicas podem chegar até a 500mg/dia, sendo consumidas por várias semanas ou meses (HARDMAN et al., 1996; RANG et al., 1997; WU, 1997; CATLIN, 2001). Contudo, as dosagens e frequências utilizadas pelos usuários são variáveis, determinadas pelo maior ou menor imediatismo de aquisição da forma física desejada, pelo nível de conhecimento dessas substâncias, pelas experiências pregressas em relação aos efeitos colaterais e pelos recursos disponíveis para a aquisição do produto (IRIART e ANDRADE, 2002).

Os esteróides decanoato de nandrolona (Deca-durabolin) e sais de testosterona (Durateston) são os EAA mais comumente utilizados (IRIART e ANDRADE, 2002; SILVA et al., 2007). No presente estudo, a administração da dose de ambos os anabolizantes foi feita dois dias por semana, dando-se um intervalo de 3 dias a cada aplicação (<http://wgtjiujitsucn.blogspot.com/2010/01/anabolizantes.html> ;

<http://www.cbcm.com.br/modulos/artigos/descricao.php?cod=16>). Contudo, estudos descrevem três formas variadas de administração, dentre elas o “ciclo”, que se refere a qualquer período de utilização de tempos em tempos; a segunda, denominada “pirâmide”, que começa com pequenas doses, aumentando progressivamente até o ápice e, após atingir essa dosagem máxima existe a redução regressiva até o final do período; e a terceira conhecida como “stacking”, onde o usuário faz utilização de vários esteróides ao mesmo tempo, combinando anabolizantes injetáveis e orais (64; STRAUSS, 1985; Council on scientific affairs, 1988). Enquanto para IRIART e ANDRADE, 2002 o uso dos anabolizantes acontece de forma irregular, algumas vezes contínuo, quase diário ou com intervalos maiores; suas interrupções são motivadas pelo efeito colateral e o retorno devido à falta de motivação para exercitar e insatisfação com as formas corpóreas na ausência do uso do anabolizante.

Foi possível por meio deste estudo, verificar correlação entre os esteróides anabolizantes e a movimentação dentária induzida. Verificou-se que os anabolizantes possivelmente aceleram a movimentação dentária, verificada por meio do adiantamento e intensificação da reabsorção. Com base nesses resultados o ortodontista frente a um paciente usuário de anabolizante, deve realizar um planejamento diferenciado, tendo em vista esta aceleração da reabsorção óssea, modulando a força assim como os intervalos entre as consultas.

CONCLUSÃO

O Deca-durabolin e o Durateston interferiram na movimentação dentária, antecipando e intensificando a reabsorção óssea.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Proffit WR, Fields Jr HW, Sarver DM. Contemporary Orthodontics. 4th ed. St Louis: Elsevier; 2007.
2. Hoberman JM, Yesalis CE. The history of synthetic testosterone. Sci Am 1995 Feb; 272(2): 60-5.
3. Goldberg L, Mackinnon DP, Elliot DL, Moe EL, Clarke G, Cheong J. The adolescents training and learning to avoid steroids program: preventing drug use and promoting health behaviors. Arch Pediatr Adolesc Med 2000 Apr; 154(4): 332-8.
4. Wilmore JH, Costill DL. Fisiologia do esporte e do exercício. 2^a ed. São Paulo: Manole; 2001.
5. Kam PCA, Yarrow M. Anabolic Steroid Abuse: Physiological and Anaesthetic considerations. Anaesthesia 2005 Feb; 60(7): 685-92.
6. Weineck J. Fatores que influenciam a capacidade de desempenho esportivo. In: Weineck J. Biologia do esporte. 7^a ed. São Paulo: Manole; 2005. P. 417-544.
7. Bhasin S, Storer TW, Berman N, Yarasheski KE, Clevenger B, Phillips J, et al. Testosterone replacement increases fat-free mass and muscle size in hypogonadal men. J Clin Endocrinol Metab 1997; 82(2): 407-13.
8. De rose EH, Nóbrega, ACL. Drogas lícitas e ilícitas. In: Ghorayeb N, Barros TO. Exercício. São Paulo: Atheneu; 1999. P. 395-405.
9. Geusens P, Dequeker J. Long-term effect of nandrolone decanoate, 1 alpha-hydroxyvitamin D3 or intermittent calcium infusion therapy on bone mineral content, bone remodeling and fracture rate in symptomatic osteoporosis: double-blind controlled study. Bone Miner 1986 Sep;1(4): 347-357.
10. Hebert A, Haupt MD, George D, Rovere M. Anabolic steroids: a review of the literature. Am J Sports Med 1984 Dec; 12(6): 469-84.
11. Celotti F, Cesi PN. Anabolic steroids: a review of their effects on the muscle, of their possible mechanisms of action and of their

- use in athletics. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992 Oct; 43(5): 469-77.
12. Creutzberg EC, Wouters EF, Mostert R, Pluymers RJ, Schols AM. A role for anabolic steroids in the rehabilitation of patients with COPD? A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Chest* 2003 Nov; 124(5): 1733-42.
 13. Evans NA. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am J Sports Med* 2004 Mar; 32(2): 534-42.
 14. Parkinson AB, Evans NA. Anabolic androgenic steroids: a survey of 500 users. *Med Sci Sports Exerc* 2006 Apr; 38(4): 644-51.
 15. Brower KJ. Anabolic Steroids. The psychiatric clinics of north America- recent advances in addictive disorders 1993; 16: 97-103.
 16. Bahrke MS, Yesalis CE, Wright JE. Psychological and behavioural effects of endogenous testosterone levels and anabolic-androgenic steroids among males: a review. *Sports Medicine* 1990 Nov; 10(5): 303-337.
 17. Brower KJ. Addictive potential of anabolic steroids. *Psychiatric Annals* 1992; 22: 30-34.
 18. Lobo APT. O uso indevido de anabolizantes na cidade de São Paulo: um estudo qualitativo (Dissertação). São Paulo: EPM-UNIFESP; 2002.
 19. Iriart JAB, Andrade TM. Musculação, uso de esteróides anabolizantes e percepção de risco entre jovens fisiculturistas de um bairro popular de Salvador, Bahia, Brasil. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro 2002 set-out; 18(5):1379-1387.
 20. Silva PRP, Machado Jr LC, Figueiredo VC, Cioffi AP, Prestes MC, Czepielewski MA. Prevalência do uso de agentes anabólicos em praticantes de musculação de Porto Alegre. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007 fev; 51(1): 104-110.
 21. Girotra M, Rubin MR, Bilezikian JP. Anabolic Skeletal Therapy for Osteoporosis. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006 ago; 50(4): 745-54.

22. Carvalho ACP, Okamoto T. Interferências sistêmicas sobre o processo de reparo em feridas de extração dental. Rev. Odont. Unesp, São Paulo 1985 abr; 14(½): 27-33
23. Bouillon R, Prodonova A. Growth and hormone deficiency and peak bone mass. J Pediatr Endocrinol Metab 2000,13(Suppl 6):1327-36.
24. Arias OR, Marquez-Orosco MC. Aspirin, acetaminophen and ibuprofen: their effects on orthodontic tooth movement. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2006; 130(3):364-370.
25. Ozcelik O, Haytac MC, Seydaoglu G. The effects of anabolic-androgenic steroids abuse on gingival tissues. J Periodontol 2006 Jul; 77(7):1104-1109.
26. Barros TSP, Santos MBF, Shinozaki EB, Santos JFF, Marchini L. Effects of use of anabolic steroids on the masticatory system: a pilot study. Journal of oral science 2008 Mar; 50(1): 19-24.
27. Barrett RL, Harris EF. Anabolic steroids and craniofacial growth in the rat. Angle Orthod 1993 Dec; 63(4): 289-298.
28. Gebhardt A, Pancherz H. The effect of anabolic steroids on mandibular growth. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2003 Apr; 123(4): 435-40.
29. Macapanpan LC, Weinmann JP. The influence of injury to the periodontal membrane on the spread of gingival inflammation. J Dent Res 1954 Apr; 33(2): 263-72.
30. Heller IJ, Nanda R. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontic tooth movement. An experimental study. Am J Orthod 1979 Mar; 75(3): 239-58.
31. Fortunato RS, Rosenthal D, Carvalho DP. Abuso de Esteróides Anabolizantes e seu Impacto sobre a Função Tireóidea. Arq Bras Endocrinol Metab 2007 dez; 51(9): 1417-1424.
32. Fracalossi ACC, Santamaria Jr M, Consolaro MFM, Consolaro A. Movimentação Dentária experimental em murinos: período de observação e plano de cortes microscópicos. Rev. Dental Press Ortodon Ortop Facial 2009 jan/fev; 14(1): 143-157.

33. Danahue LR, Rosen CJ. Growth Hormone and Insulin-like growth factor I as therapeutic modalities for age related osteoporosis. In: Rosen CJ, Glowacki J, Bilezikian JP. The aging skeleton. San Diego: Academic Press, 1999. P. 579-84.
34. Ackert-bicknell C, Rubin J, Zhu L, Fran X, Murphy T, Nanes M, et al. IGF-I Acts as a coupling factor for bone remodeling by regulating osteoprotegerin and RANK ligand in vitro and osteoprotegerin in vivo. 84th annual meeting of the endocrine society. San Francisco: CA; 2002. p. 3-366.
35. Falanga V, Greenberg AS, Zhou L, Ochoa SM, Roberts AB, Falabella A, Yamaguchi Y. Stimulation of collagen synthesis by the anabolic steroid stanozolol. J Invest Dermatol 1998 Dec; 111(6): 1193-1197.
36. Retamoso LB, Cunha TMA, Knop LAH, Shintcovsk RL, Tanaka OM. Organization and quantification of the collagen fibers in bone formation during orthodontic tooth movement. Micron 2009 Dec; 40(8): 827-830.
37. Kadi F. Adaptation of human skeletal muscle to training and anabolic steroids. Acta Physiol Scand Suppl 2000 Jan; 646: 1-52.
38. Smurawa TM, Congeni JA. Testosterone precursors: use and abuse in pediatric athletes. Pediatr Clin North Am 2007 Aug; 54(4): 787-96.
39. Gonzales C, Hotokezaka H, Matsuo K, Shibasaki T, Yozgatian JH, Darendeliler MA, Yoshida N. Effects of steroidal and nonsteroidal drugs on tooth movement and root resorption in the rat molar. Angle Orthod 2009 Jul; 79(4): 715-726.
40. Catlin DH, Hatton CK. Use and abuse of anabolics and other drugs for athletic enhancement. Adv Intern Med 1991; 36: 399-424.
41. Yesalis CE, Kennedy NJ, Kopstein AN, Bahrke MS. Anabolic-androgenic steroid use in the United States. Jama 1993; v. 270, p. 1217-1221.

- 42.Korkia P, Stimson GV. Indications of prevalence practice and effects of anabolic steroids use in Great Britain. *Int. J. Sports Med* 1997 Oct; 18(7): 557-562.
- 43.Franke WW, Berendonk B. Hormonal doping and androgenization of athletes: A secret program of the German Democratic Republic government. *Clin Chem* 1997 Jul; 43(7): 1262-1279.
44. Hartgens F, Kuipers H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med* 2004 Aug; 34(8): 513-554.
- 45.Matava MJ. Anabolic steroids and the athlete. *Sports Medicine Update* (serial online). 2002 Winter; 1: 4-8. Available at: http://www.sportsmed.org/secure/reveal/admin/uploads/documents/SMU_Winter2002.pdf.
- 46.Conceição CA, Wander FS, Massili LP, Vianna LAF, Gonçalves DM, Fossati G. Uso de anabolizantes entre praticantes de musculação em academias. *Rev Pesq Med* 1999; 33: 103-116.
- 47.Araújo LR, Andreolo L, Silva MS. Utilização de suplemento alimentar e anabolizante por praticantes de musculação nas academias de Goiânia- GO. *Rev Bras Ciênc Mov* 2002 jul; 10(3): 13-8.
- 48.Silva LSMF, Moreau RLM. Uso de esteróides anabólicos androgênicos por praticantes de musculação de grandes academias de São Paulo. *Rev Bras Ciênc Farm* 2003 jul/set; 39(3): 327-333.
- 49.Faingenbaum AD, Zaichowsky LD, Gardner DE, Micheli LJ. Anabolic steroid use by male and female middle school students. *Pediatrics* 1998 May; 101(5): 1-6.
- 50.Green GA, Uryasz FD, Petr TA, Bray CD. NCAA Study of substance use and abuse habits of college student-athletes. *Clin J Sport Med* 2001 Jan; 11(1): 51-6.
- 51.Nilsson S, Baigi A, Marklund B, Fridlund B. The prevalence of the use of androgenic-anabolic steroids by adolescents in a county side of Sweden. *Euro J Public Health* 2001 Jun; 11(2):195-7.

52. US Department of health and human services. Physical activity and health: A report from the surgeon general. Atlanta, GA: US Dept of health and human services, Centers for disease control and prevention, National center for chronic disease prevention and health promotion; 1996.
53. Evans NA. Gym & tonic: A profile of 100 male steroid users. Br. J. Sports Med 1997 Mar; 31(1): 54-58.
54. <http://paulitosnews.wordpress.com/2008/03/04/deca-durabolin/>
55. <http://www.saudeforum.com.br/viewtopic.php?p=49720>
56. Bhasin S, Woodhouse L, Casaburi R, Singh AB, Bhasin D, Berman N, et al. Testosterone dose-response relationships in healthy young men. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2001 Dec; 281(6): E1172-E1181.
57. Sinha-hikim I, Artaza J, Woodhouse L, Gonzalez-Cadavid N, Singh AB, Lee MI. Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is associated with muscle fiber hypertrophy. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab 2002 Jul; 283(1): E154- E164.
58. Hardman JG, Gilman AG, Linbird LE. editors. Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill, 1996.
59. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Farmacologia. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.
60. Wu FCW. Endocrine aspects of anabolic steroids. Clin. Chem. 1997 Jul; 43(7): 1289-92.
61. Catlin DH. Use and abuse of anabolic steroids. In: de Groot LJ, Jameson JL, editors. Endocrinology. Philadelphia: Saunders, p. 2232-42. 2001.
62. <http://wgtiujitsucn.blogspot.com/2010/01/anabolizantes.html>
63. <http://www.cbcm.com.br/modulos/artigos/descricao.php?cod=16>
64. National institute on drug abuse. <http://www.nida.nih.gov/>
65. Strauss RH, Liggett MT, Lanese RR. Anabolic steroid use and perceived effects in ten weight-trained woman athletes. JAMA 1985 May; 253(17): 2871-3.

66. Council on scientific affairs, Bohigian GM, Estes Jr AH, Friedlander IR, Kennedy WR, Moxley III JH, et al. Drug abuse in athletes: anabolic steroids and human growth hormone. JAMA 1988 Mar; 259(11): 1703-5.

LEGENDAS

Gráfico 1: Média de osteoclastos ao longo dos dias no grupo Controle, Decadurabolin e Durateston (A). Média de vasos sanguíneos ao longo dos dias nos três grupos (B).

Figura 1: Fotomicrografia da raiz intermediária vestibular do 1º molar superior direito do grupo C, DE, DU (HE). Lado de compressão (a, d, g) e lado de tração (b, e, h) no 3º dia (Aumento de 200x). Presença de reabsorção solapante (c, f, i) no 3º dia (Aumento de 400x). D- dentina, LP- ligamento periodontal, OA- osso alveolar, OC- osteoclasto, RS- reabsorção solapante, VS- vaso sanguíneo, → setas indicando osteoclastos no lado de pressão e na reabsorção solapante.

Figura 2: Fotomicrografia da raiz intermediária vestibular do 1º molar superior direito do grupo C, DE, DU (HE). Lado de compressão (a, d, g) e lado de tração (b, e, h) no 5º dia (Aumento de 200x). Presença de reabsorção solapante (c, f, i) no 5º dia (Aumento de 400x). D- dentina, LP- ligamento periodontal, OA- osso alveolar, OC- osteoclasto, RS- reabsorção solapante, VS- vaso sanguíneo, → setas indicando osteoclastos no lado de pressão e reabsorção solapante.

TABELAS

TABELA 1 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA COMPARAÇÃO DAS VARIÁVEIS OSTEOCLASTOS E VASOS SANGUÍNEOS SEGUNDO GRUPO X TEMPO

Variável	GT	GT	Média	D.P.	Média	D.P.	p
Osteoclastos	C3	DE3	8	2,1	15,2	4,2	0,00*
	C3	DU3	8	2,1	12	6,1	0,61
	DE3	DU3	15,2	4,2	12	6,1	0,89
Vasos Sanguíneos	C3	DE3	8,6	3,7	15	3,3	0,01*
	C3	DU3	8,6	3,7	14,8	2,9	0,02*
	DE3	DU3	15	3,3	14,8	2,9	1

FONTE: Dados de pesquisa

LEGENDA: GT- Grupo x Tempo, C3- controle no 3º dia, DE3- deca-durabolin no 3º dia, DU3- durateston no 3º dia, D.P.- desvio padrão

NOTA: *Valor estatisticamente significante quando $p < 0,05$

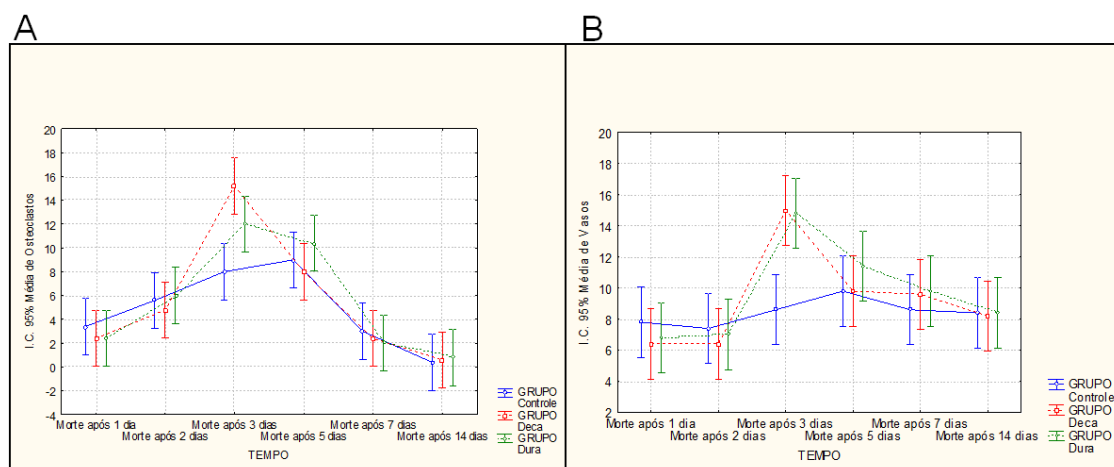


Gráfico 1

FIGURAS

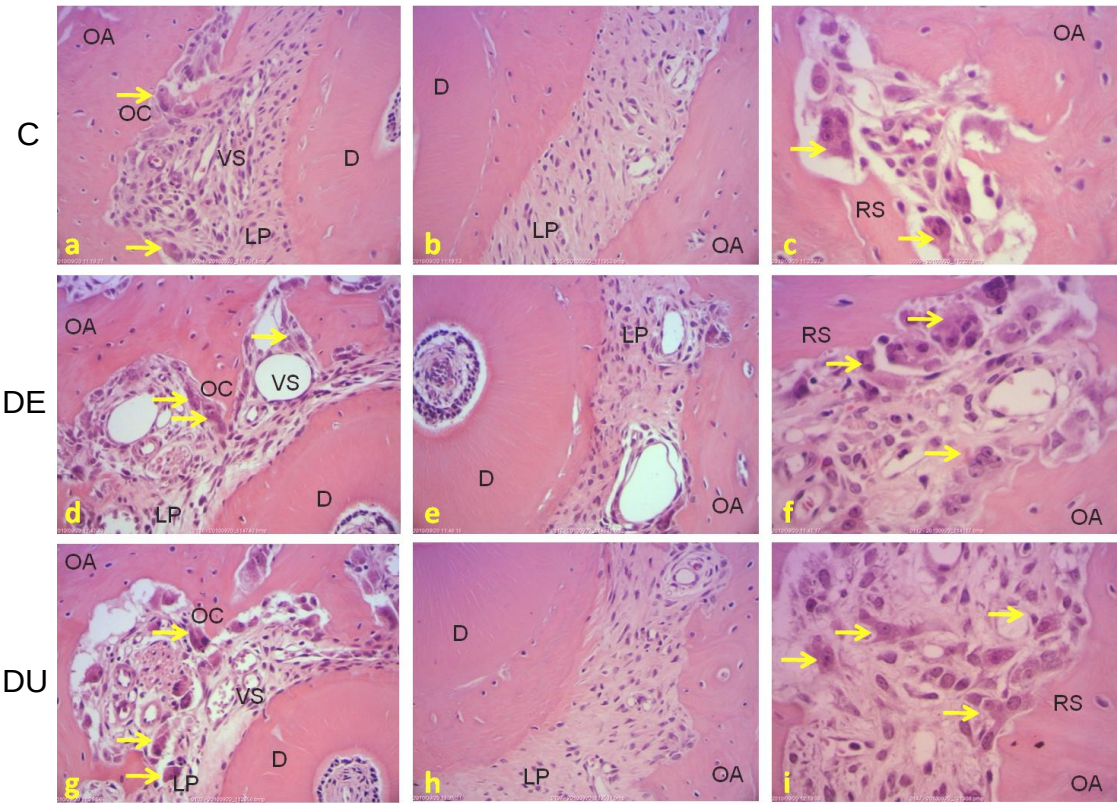


Figura 1

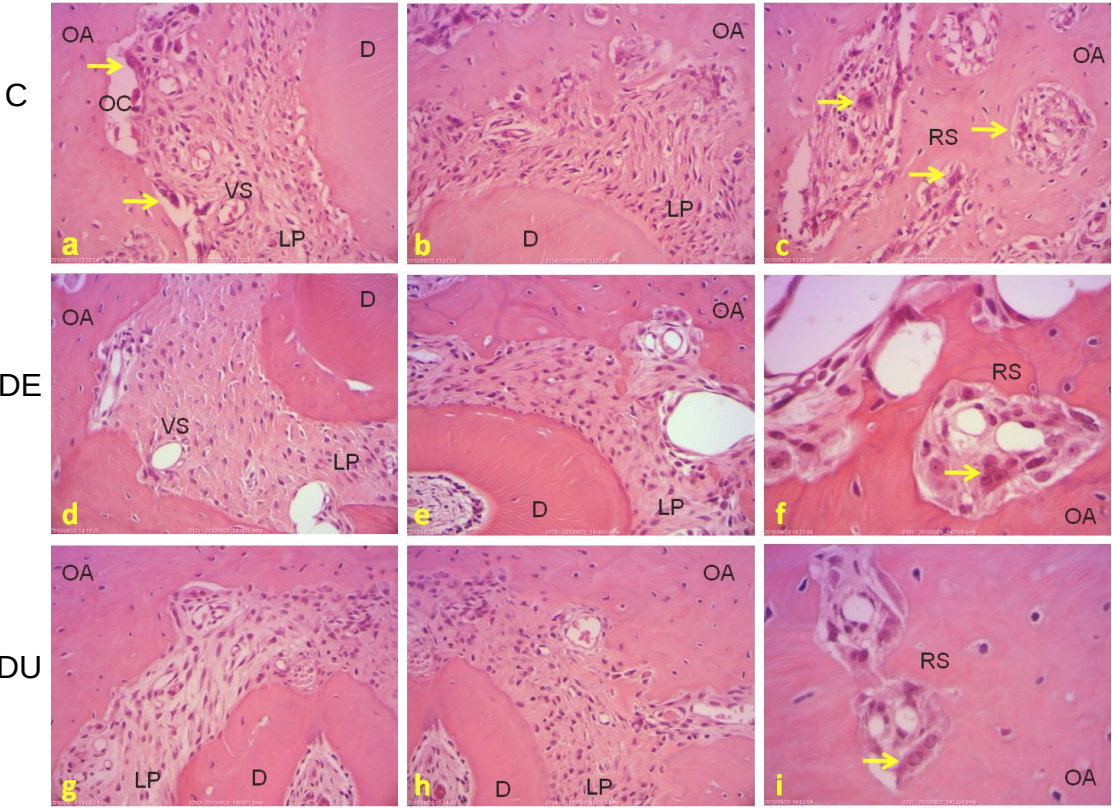


Figura 2

2-ARTIGO EM INGLÊS

TITLE PAGE**ACTION OF ANABOLIC STEROIDS, DECA-DURABOLIN AND
DURATESTON, IN TOOTH MOVEMENT IN RATS**

Maria Cecilia Galacini Añez, DDS, MSc
Dentistry Graduate Program
Pontifical Catholic University of Paraná, Curitiba, Brazil
Email: cecigalacini@hotmail.com

Orlando Motohiro Tanaka, DDS, MSc, PhD
Senior Professor, Graduate Dentistry Program, Orthodontics
Pontifical Catholic University of Paraná, Curitiba, Brazil
Diplomate of Brazilian Board of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics
Email: tanakaom@gmail.com

CORRESPONDING AUTHOR

Prof. Dr. Orlando Tanaka
Graduate Dentistry Program - Orthodontics
R. Imaculada Conceição, 1155
Fone: 55 41 3271-1637 / Fax: 55 41 3271-1405
Email: tanakaom@gmail.com
80215-901 – CURITIBA – PR
BRAZIL

ABSTRACT

Introduction: Androgenic anabolic steroids (AAS) are synthetic derivatives of testosterone that were first used for therapeutic purposes; however, their misuse is growing among adolescents. The objective of this study was to assess the effects of the anabolic steroids during orthodontic tooth movement.

Methods: The sample was composed of 100 Wistar rats divided into three groups: the control group (C) with 30 rats (assessed at days 1, 2, 3, 5, 7 and 14 of observation) and the Deca-durabolin (DE) and Durateston (DU) groups, with 35 rats in each (observed on days 0, 1, 2, 3, 5, 7 and 14). In all groups, a force of 50 cN was exerted on the right first molar. The experimental animals were injected with 2.5 mg/week of the steroid corresponding to each group, beginning 20 days before fitting the orthodontic device and continuing until death. The pieces were processed, stained with hematoxylin and eosin, and evaluated under light microscopy. **Results:** A two-way ANOVA revealed that the DE and DU groups showed a statistically significant increase ($p > 0.05$) in the number of blood vessels (BV) compared to C, and a significant increase in the number of osteoclasts in the DE group compared to the C group ($p > 0.05$). **Conclusions:** The anabolic steroids may interfere with tooth movement, favoring bone reabsorption.

INTRODUCTION

There are several reasons to undergo orthodontic treatment, including psychosocial, developmental and functional indications, the control of trauma or diseases, or as a secondary treatment in other specialties (1). Each one of these indications must be considered, and the patient must be correctly examined to obtain an accurate diagnosis and treatment plan.

During orthodontic treatment, certain medications are commonly ingested by patients, and some of these medications may interfere in the orthodontic tooth movement process. One such class of drugs is anabolic-androgen steroids (AAS). Also known simply as steroids, the AAS are synthetic derivatives of testosterone that were initially developed for therapeutic purposes (2, 3). They are used for the treatment of patients with androgen deficiencies such as hypogonadism (4) and growth disorders (5), in surgical recovery and muscle atrophy recovery, and in the treatment of osteoporosis, breast cancer and anemia due to their erythropoietic effect (6, 7). However, these drugs are widely used in sports because of their anabolic properties, which promote increased muscle mass, bone growth, development of strength, speed of muscle recovery, and control of body fat levels, improving physical performance (8).

Nevertheless, the topic that has drawn the most attention is the routine misuse of steroids by school-aged youth and by those who exercise in gyms or sport centers (8, 9). The misuse of steroids causes many adverse effects such as liver disorders, kidney tumors, prostate cancer, infertility, and headaches. In women, it may lead to mammary atrophy in response to increased levels of masculinizing hormones as well as to irregular menstrual cycles, sterility, male pattern hair growth, change in voice to a deeper tone, and clitoral hypertrophy. Changes in libido (either increases or decreases) have also been reported for both men and women (10). According to Behrke et al., the misuse of AAS is associated with episodes of depression, schizophrenia, delusion, aggressiveness, and even suicides and homicides (11). In adolescents, it causes early skeletal maturation, with premature epiphyseal closure and accelerated puberty, leading to stunted growth, acne, premature baldness and

the aggravation of sleep apnea (12). But not even all of these side effects and the illicitness of obtaining these drugs seem to deter their use by adolescents (13).

Patients undergoing orthodontic treatment often misuse anabolic steroids. Due to the known influence of these drugs on bone formation, namely, accelerating bone turnover (14) and causing increased collagen fiber synthesis (15), which are elements that aid in bone remodeling, it is possible that the association of this drug with orthodontic biomechanics interferes in tooth movement. Therefore, the objective of this study was to assess the interaction of the steroids Deca-durabolin and Durateston with the periodontal ligament and alveolar bone after the induction of tooth movement in rats.

MATERIALS AND METHODS

This study was approved, with resolution number 492, by the Animal Ethics Committee of the Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

The investigation used 100 nine-week-old male Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*) weighing approximately 300 to 350 g that were provided and maintained by the Vivarium from PUCPR.

The animals were randomly distributed into 3 large groups: the control group (C), the Deca-durabolin group (DE) and the Durateston group (DU). Within the control group, the animals were subdivided into 6 subgroups: 1, 2, 3, 5, 7 and 14 days; and in each experimental group (DE and DU), the animals were subdivided into 7 subgroups: 0, 1, 2, 3, 5, 7 and 14 days. These subgroups corresponded to the date that the animal was killed after the use of the orthodontic device in order to characterize the progress of tooth movement over time. Each subgroup had 5 rats; consequently, the control group consisted of 30 rats and each experimental group had 35 rats.

In the control group (C), no drugs were administered to the rats. In the DE group, the anabolic steroid DECA- DURABOLIN[®] (nandrolone decanoate - 1 ampoule 1 ml – 50 mg – Akzo Nobel Ltda - ORGANON laboratory - BRAZIL) was administered. In the DU group, the anabolic steroid DURATESTON[®] (testosterone salts – 1 ampoule 1ml – 250 mg – Akzo Nobel Ltda - ORGANON laboratory - BRAZIL) was administered to the rats. The animals in the DE and DU groups were injected every three days, with a concentration of 2.5 mg/week, intramuscularly, switching between the right and left sides; this protocol started 20 days before fitting the orthodontic device and continued until the death of the animal, and it was performed at the same time each day (16).

Every animal was fitted with an orthodontic device to characterize tooth movement. For this procedure, the animals were sedated with a Tiletamine/Zolazepam anesthetic solution (Zoletil 50[®] from Brasil Indústria e Comércio Ltda, São Paulo- SP, Brazil, Virbac) using a dosage of 50 mg/kg of body weight and an average volume of 0.25 ml/animal. This substance was injected into the quadriceps muscle of the left lower limb.

The orthodontic device used consisted of a 9 mm nickel-titanium closed coil spring (3M Unitek[®]) fitted between the right upper first molar and the central incisors, producing a reciprocal force of 50 cN. After the initial activation, the device was not reactivated during the experimental period; however, its position was checked daily. The animals that died before the end of the experiment and those who lost the spring were excluded from the sample and replaced with other animals to redo the experiment.

The animals were killed by an intraperitoneal overdose of anesthetic solution (ketamine/ 5.4 ml/kg). Subsequently, the maxilla of each animal was removed, dissected and sectioned along its midline. The pieces were then introduced into a 10% formaldehyde solution for 24 hours for adequate fixation. When this was complete, the pieces were placed in 10% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) demineralizing solution until they were completely decalcified. When complete demineralization was reached, the specimens were histologically processed and embedded in paraffin. Cross sections with a 5 μ m thickness were taken from each piece in the cervical region and stained with hematoxylin and eosin (H&E).

The pieces were stained by the hematoxylin-eosin method described by Harris and Lison, and the mesiobuccal root was chosen for the observation of experimental results. At the end of the laboratory procedures, the slides were analyzed under light microscopy with an original magnification of 400X, and each was assessed qualitatively and quantitatively. For the qualitative analysis, the arrangement of collagen fibers was observed; the shape of fibroblasts, both on the compression and traction sides, was also recorded, as was the presence of overlapping resorption in the mesiobuccal root. Hyalinized areas were observed in all first molar roots. In the quantitative analysis, the osteoclasts, Howship's lacunae and blood vessels were quantified in the entire periodontal ligament of the mesiobuccal root.

For the statistical analysis of categorical variables (cf, fb, or, ha), the chi-squared test was used for all groups. To evaluate continuous variables (oc, hl, bv), a two-way anova was used to compare all of the groups.

RESULTS

Qualitative Analysis

Control group (C)

The collagen fibers were disorganized with a predominance of fibroblasts (FB) that were rounded on the compression side, whereas on the traction side, the collagen fibers were organized and with fusiform FBs. This arrangement was present on all of days of tooth movement, differing only in intensity.

Biological events occurred progressively over the course of the time, reaching a peak on the fifth day, when a greater number of osteoclasts (OC) was observed within the Howship's lacunae (HL), in addition to a greater number of blood vessels (BV). From the 7th day on, there was a decrease in events.

The presence of overlapping resorption (OR) was observed every day and was most evident on day 5. Similarly, the hyaline area (HA) remained present every day, concentrated particularly in the DP root. Better organization of CF in the compression side was observed on the 14th day.

Deca-durabolin group

On day 0, the CFs were arranged in an organized fashion with a predominance of fusiform FBs in the entire extension of the periodontal ligament (PL); a large number of BVs was observed; HA and OR were not present.

From the 1st day, the CF on the compression side became disorganized with rounded FBs, whereas the traction side remained organized with fusiform FBs. The number of BVs decreased on the 1st day; however, the peak was reached on day 3, when there was a higher intensity of biological events.

On the 3rd day, there was also the maximum peak in the number of OC within HLs, a higher number of BVs, as well as more pronounced OR. From the 5th day, there was a decrease in biological events, and the CF started to reorganize on the compression side; this pattern was similar to that seen on the 14th day in the control group.

The hyaline areas showed a greater intensity on day 3 that was concentrated mainly in the DP+DV root. From the 7th day, 80% of the sample did not have HA, which ceased altogether on day 14. Overlapping resorption was observed in all of the days of tooth movement; it progressively decreased from day 5 on and was absent in 80% of the sample by day 14.

Durateston group

On day 0, CF bundles were arranged on both sides of the periodontal ligament, compression and traction, with a predominance of fusiform FBs. There was also a large number of BVs, with an absence of HAs and OR.

On day 1, the CFs became disorganized on the compression side, with a predominance of rounded FBs, whereas on the traction side they remained the same. The same arrangement was maintained over time, varying only in intensity. There was a decrease in the number of BVs compared to day 0.

On day 3, the biological events became more intense, attaining a greater number of OC within the HL, as well as a greater number of BVs. These events started to reduce from day 5, when greater organization of CF on the compression side was also observed.

The HA were more evident on day 3, concentrated in the DP root or associated with DV, and from day 7 they were no longer seen. The presence of OR decreased from day 5, ceasing altogether on day 14.

Quantitative Analysis

When the DE and DU groups were compared, both on day 0 and on the remaining days, there were no significant differences between the OC, HL and BV variables ($p>0.05$).

When day 3 was compared among all of the groups, the DE group showed a significant increase in OCs and BVs when compared to the control group ($p<0.05$). The DU group had a significant increase in the number of BVs when compared to the C3 group ($p<0.05$), and although the differences in

relation to OCs were not significant ($p < 0.05$), it was found that DU3 had a higher average of these cells in relation to the C3 group.

DISCUSSION

The growing number of anabolic steroid (AAS) users has been significantly increasing among adolescents in the last several decades (17-22). Yesalis et al. has estimated that more than a million people use or have used AAS at least once in their lives in the United States (18).

There is a lack of studies that have explored steroids with a focus on dentistry. Ozcelik et al. has reported an increase in gingival volume in users of these drugs (23). Barros et al. has evaluated the effects of steroids on the masticatory system and observed that steroids increased the incidence of temporomandibular joint disorder as well as its signs and symptoms (24). Barrett and Harris have found that anabolic steroids influence craniofacial growth, promoting changes in size and morphology (25). In addition, Gebhardt and Pancherz have concluded that steroids directly influence mandibular growth (26). Given the growing number of users, especially among adolescents, and given that orthodontic treatment usually occurs within this age range, we proposed the approach presented in this study.

The results found in the control group are consistent with the biological and tissue responses obtained from mechanical forces promoted by orthodontic tooth movement on the periodontal ligament and alveolar bone, as reported by Macapanpan et al. and Heller and Nanda (27, 28). In the present study, comparing the control group to the experimental groups, the results revealed that anabolic steroids produced some important biological changes.

In both experimental groups, it was found that the highest number of osteoclasts was observed on day 3, and this number decreased from day 5 on. In the control group, the number of osteoclasts increased during the first days, reaching its peak only on day 5 and decreasing starting on day 7. Furthermore, analyzing the number of osteoclasts between the groups, it was possible to observe that both experimental groups had higher means than the control group on day 3; this was statistically significant when DU3 was compared to C3. It is therefore suggested that the anabolic steroids may have emphasized and accelerated bone resorption.

It is known that anabolic steroids have a direct relationship with new bone formation, and this correlation is related to a greater proliferation of osteoblasts (29). Given that osteoclasts are activated from osteoblasts (30), it may be suggested that this is one of the reasons for greater resorption in the experimental groups compared to the control group. Another hypothesis is that the anabolic steroid may act like growth hormone, causing a biphasic effect on bone that acts first on the activation of bone resorption and then on new bone formation (31, 32).

Based on the results of this study, there is greater reorganization of collagen fibers from day 5 in both experimental groups, whereas in the control group, this organization was only similar on day 14. It was also found that in DE and DU there were no hyalinized areas from day 7, whereas in the control group, this absence was only seen on day 14. This leads to the hypothesis that the anabolic steroids accelerate the remodeling process of periodontal ligament fibers and possibly new bone formation. Because steroids have an important role in the repair process, producing greater synthesis of collagen fibers (15, 33), increasing the amount of fibroblasts and of ground substance (15), this hypothesis may be relevant, given that these elements are essential for the reorganization of fibers and subsequent bone remodeling. Furthermore, Retamoso et al. stated that the maturation of collagen fibers is only complete on day 14 in rats that were subjected to orthodontic tooth movement without the application of any drugs (34).

Kadi as well as Smurawa and Congeni reported that among the effects of anabolic steroids is bone formation (35, 36). Similarly, Grotra et al. have reinforced the contention that anabolic agents influence new bone formation and improve mineral density as well as bone turnover (37). However, further studies may be developed to assess new bone formation.

This study also found a significant increase in the number of blood vessels in DE3 and DU3 when compared to C. The influence of anabolic steroids on angiogenesis is still not well understood; however, according to Carvalho and Okamoto, anabolic steroids accelerate the formation of new vessels (15). Moreover, a statistically significant decrease in BVs in both experimental groups was found when day 1 was compared to day 0, which was

an expected result due to the biological processes resulting from tooth movement, in which there is vessel compression and decreases in the amount of vessels on the compression side after the initial application of force (30).

When comparing day 0 with day 1 for the experimental groups, it was found that on day 1 there was a disorganization of fibers on the compression side and a predominance of rounded fibroblasts. These results are consistent with the natural biological processes that occur due to orthodontic tooth movement because the applied force changes the arrangement of CF and the morphology of FB in compressed areas (27).

When the force exerted on the tooth has a high intensity, there may be a total collapse of the vessels with the absence of oxygen, causing cellular death, cell migration and the formation of hyaline areas (30). The force used in this study was 50 cN, which was based on the literature (37). It is possible that the level of force used produced excessive force because it caused overlapping resorption and hyaline areas in most experimental times. However, as the purpose of the investigation was to evaluate the microscopic aspects of induced orthodontic tooth movement, the use of this force for the experiment was relevant, given that the investigation needs the presence of these phenomena to study the conditions that alter the microscopic characteristics of the tissues.

This study enabled us to verify the correlation between anabolic steroids and induced tooth movement. We found that anabolic steroids may accelerate tooth movement, a result that was verified by the progress and intensification of resorption. Based on these results, the orthodontist who has a patient who uses anabolic steroids must plan a different treatment, modulating strength as well as the intervals between appointments.

CONCLUSION

Deca-durabolin and Durateston interfered in orthodontic tooth movement by accelerating and intensifying bone resorption.

REFERENCES

1. Proffit WR, Fields Jr HW, Sarver DM. Contemporary Orthodontics. 4th ed. St Louis: Elsevier; 2007.
2. Kam PCA, Yarrow M. Anabolic Steroid Abuse: Physiological and Anaesthetic considerations. *Anaesthesia*. 2005 Feb;60(7):685-92.
3. Weineck J. Fatores que influenciam a capacidade de desempenho esportivo. In: Weineck J, editor. *Biologia do esporte*. 7^a ed. São Paulo: Manole; 2005. p. 417-544. Portuguese.
4. De rose EH, Nóbrega, ACL. Drogas lícitas e ilícitas. In: Ghorayeb N, Barros TO, editors. *Exercício*. São Paulo: Atheneu; 1999. P. 395-405. Portuguese.
5. Geusens P, Dequeker J. Long-term effect of nandrolone decanoate, 1 alpha-hydroxyvitamin D3 or intermittent calcium infusion therapy on bone mineral content, bone remodeling and fracture rate in symptomatic osteoporosis: double-blind controlled study. *Bone Miner*. 1986 Sep;1(4):347-57.
6. Celotti F, Cesi PN. Anabolic steroids: a review of their effects on the muscle, of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1992 Oct;43(5):469-77.
7. Creutzberg EC, Wouters EF, Mostert R, Pluymers RJ, Schols AM. A role for anabolic steroids in the rehabilitation of patients with COPD? A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Chest*. 2003 Nov;124(5):1733-42.
8. Evans NA. Currents concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am J Sports Med*. 2004 Mar;32(2):534-42.
9. Parkinson AB, Evans NA. Anabolic androgenic steroids: a survey of 500 users. *Med Sci Sports Exerc*. 2006 Apr; 38(4): 644-51.
10. Brower KJ. Anabolic Steroids. *Psychiatr Clin North Am*. 1993;16:97-103.
11. Bahrke MS, Yesalis CE, Wright JE. Psychological and behavioural effects of endogenous testosterone levels and anabolic-androgenic steroids among males: a review. *Sports Med*. 1990 Nov; 10(5):303-37.

12. Brower KJ. Addictive potential of anabolic steroids. *Psychiatr Ann.* 1992;22:30-4.
13. Lobo APT. O uso indevido de anabolizantes na cidade de São Paulo: um estudo qualitativo [Dissertação]. São Paulo: EPM-UNIFESP; 2002. Portuguese.
14. Girotra M, Rubin MR, Bilezikian JP. Anabolic Skeletal Therapy for Osteoporosis. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006 Aug;50(4):745-54.
15. Carvalho ACP, Okamoto T. Interferências sistêmicas sobre o processo de reparo em feridas de extração dental. *Rev Odont Unesp, São Paulo.* 1985 Apr;14(½):27-33. Portuguese.
16. Bouillon R, Prodonova A. Growth and hormone deficiency and peak bone mass. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2000;13(Suppl 6):1327-36.
17. Catlin DH, Hatton CK. Use and abuse of anabolics and other drugs for athletic enhancement. *Adv Intern Med.* 1991;36:399-424.
18. Yesalis CE, Kennedy NJ, Kopstein AN, Bahrke MS. Anabolic-androgenic steroid use in the United States. *JAMA.* 1993;270:1217-21.
19. Korkia P, Stimsom GV. Indications of prevalence practice and effects of anabolic steroids use in Great Britain. *Int J Sports Med.* 1997;18:557-62.
20. Franke WW, Berendonk B. Hormonal doping and androgenization of athletes: A secret program of the German Democratic Republic government. *Clin Chem.* 1997 Jul;43(7):1262-79.
21. Hartgens F, Kuipers H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med.* 2004 Aug;34(8):513-54.
22. Matava MJ. Anabolic steroids and the athlete. *Sports Med Update.* 2002 Winter;1:4-8. Available at: http://www.sportsmed.org/secure/reveal/admin/uploads/documents/SMU_Winter2002.pdf.

23. Ozcelik O, Haytac MC, Seydaoglu G. The effects of anabolic-androgenic steroids abuse on gingival tissues. *J Periodontol*. 2006 Jul;77(7):1104-9.
24. Barros TSP, Santos MBF, Shinozaki EB, Santos JFF, Marchini L. Effects of use of anabolic steroids on the masticatory system: a pilot study. *J Oral Sci*. 2008 Mar;50(1):19-24.
25. Barrett RL, Harris EF. Anabolic steroids and craniofacial growth in the rat. *Angle Orthod*. 1993 Dec;63(4):289-98.
26. Gebhardt A, Pancherz H. The effect of anabolic steroids on mandibular growth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2003 Apr;123(4):435-40.
27. Macapanpan LC, Weinmann JP. The influence of injury to the periodontal membrane on the spread of gingival inflammation. *J Dent Res*. 1954 Apr;33(2):263-72.
28. Heller IJ, Nanda R. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontic tooth movement. An experimental study. *Am J Orthod*. 1979 Mar;75(3):239-58.
29. Fortunato RS, Rosenthal D, Carvalho DP. Abuso de Esteróides Anabolizantes e seu Impacto sobre a Função Tireóidea. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2007 Dec; 51(9):1417-24. Portuguese.
30. Fracalossi ACC, Santamaria Jr M, Consolaro MFM, Consolaro A. Movimentação Dentária experimental em murinos: período de observação e plano de cortes microscópicos. *Rev Dent Press Ortodon Ortop Facial* 2009 Jan/Feb;14(1):143-57.
31. Danahue LR, Rosen CJ. Growth Hormone and Insulin-like growth factor I as therapeutic modalities for age related osteoporosis. In: Rosen CJ, Glowacki J, Bilezikian JP, editors. *The aging skeleton*. San Diego: Academic Press, 1999. p. 579-84.
32. Ackert-bicknell C, Rubin J, Zhu L, Fran X, Murphy T, Nanes M, et al. IGF-I Acts as a coupling factor for bone remodeling by regulating osteoprotegerin and RANK ligand in vitro and osteoprotegerin in vivo. 84th annual meeting of the endocrine society. San Francisco: CA; 2002. p. 3-366.

33. Falanga V, Greenberg AS, Zhou L, Ochoa SM, Roberts AB, Falabella A, et al. Stimulation of collagen synthesis by the anabolic steroid stanozolol. *J Invest Dermatol*. 1998 Dec;111(6):1193-7.
34. Retamoso LB, Cunha TMA, Knop LAH, Shintcovsk RL, Tanaka OM. Organization and quantification of the collagen fibers in bone formation during orthodontic tooth movement. *Micron*. 2009 Dec;40(8):827-30.
35. Kadi F. Adaptation of human skeletal muscle to training and anabolic steroids. *Acta Physiol Scand Suppl*. 2000 Jan;646:1-52.
36. Smurawa TM, Congeni JA. Testosterone precursors: use and abuse in pediatric athletes. *Pediatr Clin North Am*. 2007 Aug;54(4):787-96.
37. Gonzales C, Hotokezaka H, Matsuo K, Shibazaki T, Yozgatian JH, Darendeliler MA, et al. Effects of steroidal and nonsteroidal drugs on tooth movement and root resorption in the rat molar. *Angle Orthod*. 2009 Jul;79(4):715-26.

FIGURE CAPTIONS

Chart 1: Mean osteoclasts over the experimental period in the control, Deca-durabolin and Durateston groups (A). Mean blood vessels over the experimental period for the three groups (B).

Figure 1: Photomicrography of the mesiobuccal root of the right upper molar from groups C, DE and DU (HE). Compression side (a, d, g) and traction side (b, e, h) on day 3 (200x magnification). Presence of overlapping resorption (c, f, i) on day 3 (400x magnification). D- dentin, PL- periodontal ligament, AB- alveolar bone, OC- osteoclast, OR- overlapping resorption, BV- blood vessel, → arrows indicate osteoclasts on the pressure side and on overlapping resorption

Figure 2: Photomicrography of the mesiobuccal root of the right upper molar from groups C, DE and DU (HE). Compression side (a, d, g) and traction side (b, e, h) on day 5 (200x magnification). Presence of overlapping resorption (c, f, i) on day 5 (400x magnification). D- dentin, PL- periodontal ligament, AB- alveolar bone, OC- osteoclast, OR- overlapping resorption, BV- blood vessel, → arrows indicate osteoclasts on the pressure side and on overlapping resorption

TABLES

Table 1 – Descriptive statistics of comparison of osteoclasts and blood vessel variables according to group x time

Variable	GT	GT	Mean	S. D.	Mean	S. D.	p
osteoclasts	C3	DE3	8	2.1	15.2	4.2	0.00*
	C3	DU3	8	2.1	12	6.1	0.61
	DE3	DU3	15.2	4.2	12	6.1	0.89
blood vessels	C3	DE3	8.6	3.7	15	3.3	0.01*
	C3	DU3	8.6	3.7	14.8	2.9	0.02*
	DE3	DU3	15	3.3	14.8	2.9	1

Source: Research data

Key: group x time, C3 - control group on Day 3, DE3 - deca-durabolin on Day 3, DU3 - durateston on Day 3

Note: *Statistically significant mean when $p < 0.05$

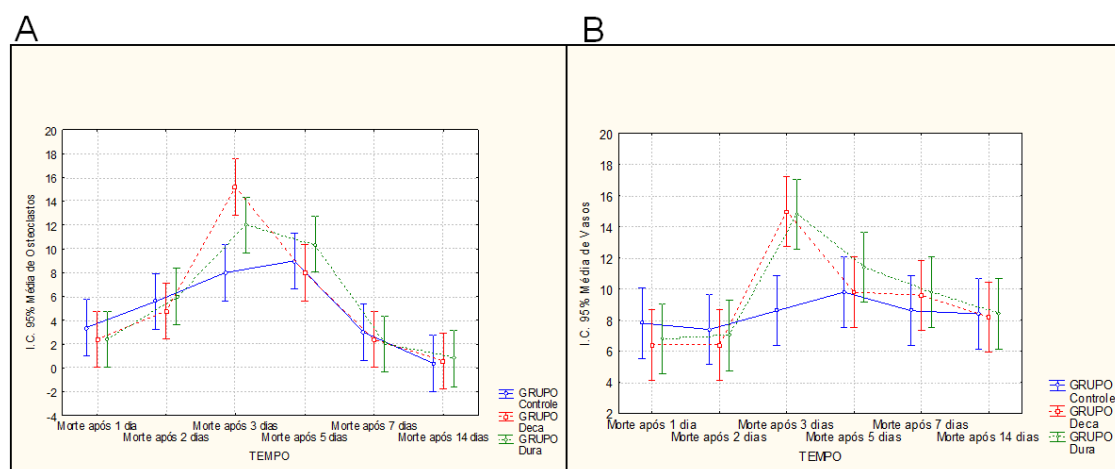


Chart 1

FIGURES

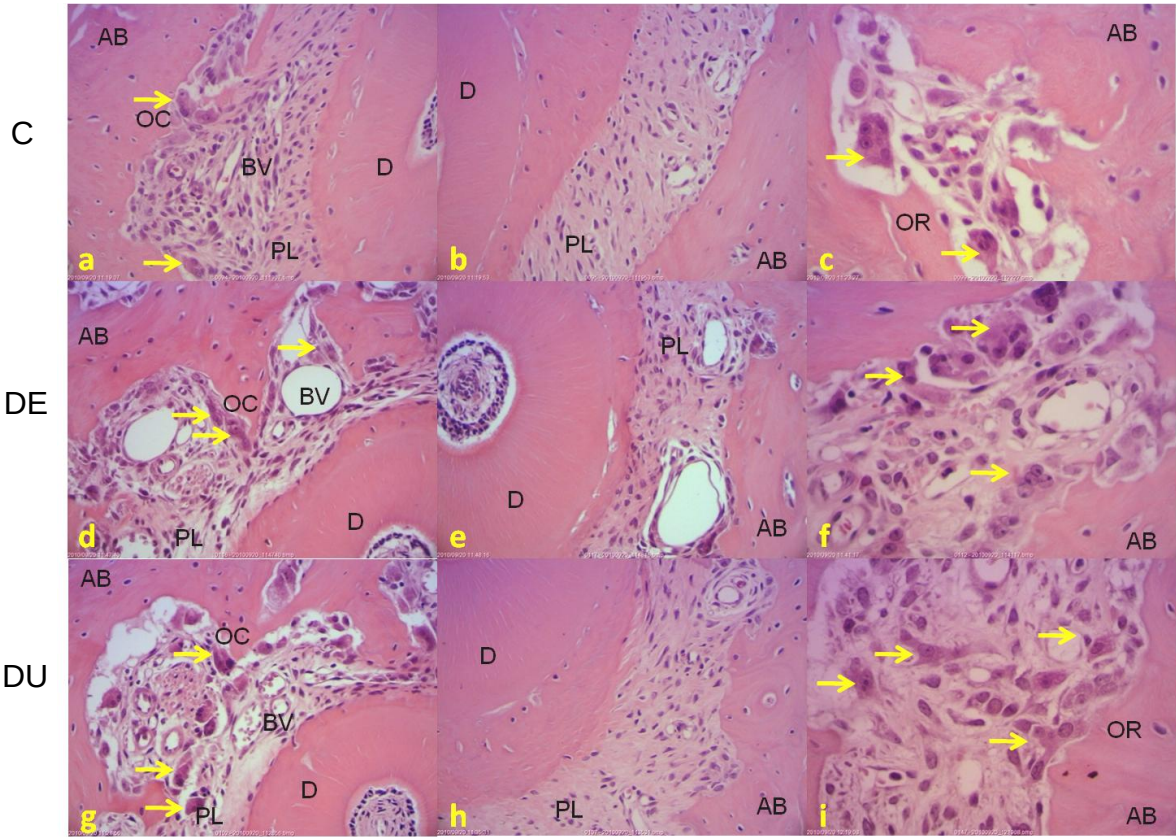


Figure 1

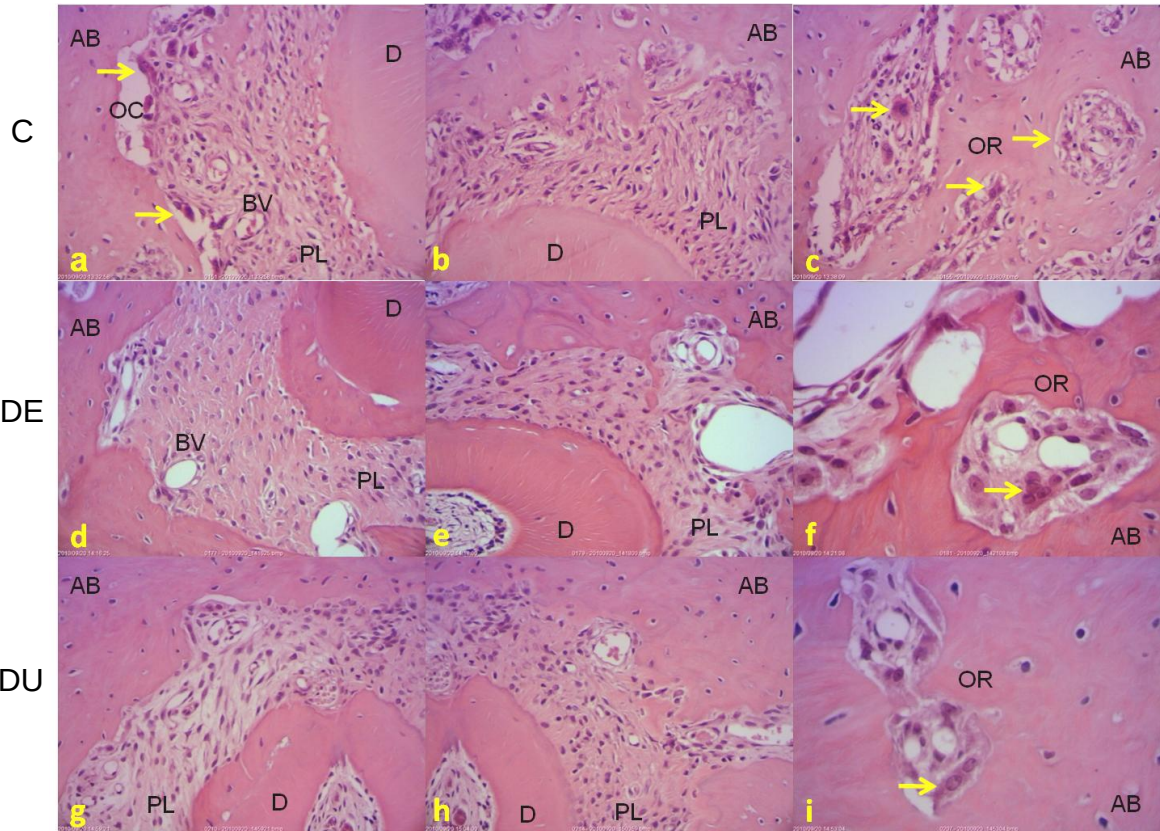


Figure 2

3- ANEXOS

ANEXO I- REVISÃO DE LITERATURA

Movimento dentário

Existem várias razões para se realizar o tratamento ortodôntico; dentre elas há indicações psicossociais, de desenvolvimento, funcionais, para controlar traumas ou doenças e também como tratamento coadjuvante às outras especialidades (PROFFIT, 2007). Deve-se considerar cada uma dessas indicações, analisando o paciente adequadamente para então se obter correto diagnóstico e plano de tratamento.

O tratamento ortodôntico é baseado no princípio de que se uma pressão prolongada é aplicada sobre um dente, o movimento dentário irá ocorrer à medida que o osso ao seu redor se remodelar (MOYERS, 1988; PROFFIT, 2007). A movimentação dentária é um processo biológico múltiplo, caracterizado por reações seqüenciais do tecido periodontal em resposta às forças biomecânicas que induzem alterações em duas regiões do tecido periodontal: o lado de compressão e o lado de tração. As modificações teciduais estão relacionadas à remodelação tecidual por ativação da reabsorção óssea alveolar no lado de compressão e conseqüente aposição óssea no lado de tração (MACAPANPAN e WEINMANN, 1954; HELLER e NANDA, 1979; ASHIZAWA e SAHARA, 1998; SHIRAZI e NILFOROUSHAN et al., 2002). O osso é removido em algumas partes e adicionado em outras, conseqüentemente o dente se movimenta através do osso carregando consigo seu tecido de sustentação (MOYERS, 1988; PROFFIT, 2007).

A inflamação é um importante fator para a movimentação dentária. A ativação de células inflamatórias e a conseqüente liberação de mediadores químicos apresentam importante função sobre os tecidos mineralizados (LARA, FIGUEIREDO et al., 2003). Alterações celulares e vasculares, mediadores inflamatórios, fatores de crescimento e neuropeptídios tem sido identificados no tecido que circunda o dente sujeito às forças induzidas (VANDEVSKA-RADUNOVIC e KRISTIANSEN et al., 1994; DUDIC, KILIARIDIS et al., 2006). A fase inicial da movimentação dentária estimula a liberação de fatores químicos

e elétricos das fibras nervosas sensoriais e desencadeiam resposta inflamatória que modifica a microcirculação, promovendo vasodilatação periodontal acompanhada por migração de leucócitos a partir dos capilares sanguíneos (PERINETTI e PAOLANTONIO et al., 2002).

Microscopicamente, no lado de compressão do ligamento periodontal, os seguintes eventos biológicos são descritos: distúrbio no fluxo sanguíneo, necrose, morte celular, fagocitose dos restos celulares, hialinização tecidual, estreitamento da largura do ligamento periodontal, reabsorção óssea nas proximidades das áreas hialinizadas por osteoclastos multinucleados associados a pequenas lacunas de Howship (MACAPANPAN e WEINMANN, 1954; KUFTINEC, 1968; HELLER e NANDA, 1979; HAMAYA e MIZOGUCHI et al., 2002; MABUCHI e MATSUZAKA et al., 2002; TALIC e EVANS et al., 2003). No lado tracionado, o espaço periodontal torna-se amplo com figuras de mitose e aumento do número de células, resultando em atividade osteoblástica com deposição de tecido osteóide e sua posterior mineralização, além da remodelação das fibras colágenas (MACAPANPAN e WEINMANN, 1954).

Esteróides anabolizantes androgênicos (EAA)

Os EAA, também conhecidos simplesmente como anabolizantes, são derivados sintéticos da testosterona (HOBERMAN, YESALIS, 1995; GOLDBERG et al., 2000; WILMORE, COSTILL, 2001; KAM e YARROW, 2005; WEINECK, 2005) que foram inicialmente desenvolvidos com fins terapêuticos, como exemplo: para o tratamento de pacientes com deficiências androgênicas como hipogonadismo (BHASIN et al., 1997; DE ROSE e NÓBREGA, 1999), distúrbios de crescimento (GEUSENS e DEQUEKER, 1986), na recuperação de cirurgias e atrofia muscular, no tratamento da osteoporose, do câncer de mama e anemias, uma vez que estimulam a eritropoiese (HEBERT et al., 1984; CELOTTI e CESI, 1992; CREUTZBERG et al., 2003). Entretanto, o uso dessas drogas destacou-se no meio esportivo, devido às suas propriedades anabólicas que promovem o aumento da massa muscular, do crescimento ósseo, do desenvolvimento da força, da velocidade de recuperação da musculatura e o

controle dos níveis de gordura corporal melhorando o desempenho físico (EVANS, 2004).

Contudo, o que vem chamando mais atenção é o uso indevido dos esteróides fazendo parte da rotina de jovens escolares e praticantes de atividades físicas, principalmente em academias ou centro de práticas esportivas (EVANS, 2004; PARKINSON e EVANS, 2006). A grande “atração” para o consumo dessas drogas ocorre porque seus efeitos são visíveis (para os que se preocupam com a aparência física) e relativamente duradouros, até nove meses após o término da ingestão. Estas duas características, somadas ao apelo da aparência física, levaram o consumo de esteróides a uma faixa etária problemática: a pré- adolescência e adolescência (PARKINSON e EVANS, 2006).

Seu uso indevido provoca muitos efeitos adversos como distúrbios hepáticos, tumores renais, câncer de próstata, infertilidade e cefaléias. Nas mulheres pode ocorrer atrofia mamária em resposta aos níveis elevados de hormônios masculinizantes, bem como ciclos menstruais irregulares, esterilidade, crescimento de pêlos com distribuição masculina, alteração da voz para tom mais grave e hipertrofia do clitóris. Aumento e diminuição da libido também são relatados, tanto em homens quanto em mulheres (BROWER, 1993). Segundo BEHRKE et al., 1990, o uso ilícito de EAA está associado com episódios de depressão, mania, quadros de esquizofrenia, delírios, agressividade e até suicídios e homicídios. Na adolescência ocorre maturação esquelética precoce, com fechamento prematuro das epífises ósseas e puberdade acelerada, levando a um crescimento raquítico, acne, calvície precoce e exacerbação da apnéia do sono (BROWER, 1992). Porém, nem todos esses efeitos colaterais e a ilegalidade para obtenção dos medicamentos parecem deter o uso pelos adolescentes (LOBO, 2002).

Há vários tipos de anabolizantes, desde supositórios, cremes, selos de fixação na pele e sublingual, porém os mais consumidos são os orais e injetáveis. Os esteróides injetáveis são menos nocivos que os orais, por não passar por um processo de alcalinização. Esse tipo de esteróide passa pela corrente sanguínea via muscular e a base oleosa permanece na corrente sanguínea com uma longa duração, visto que o óleo demora a se dissipar no

local de aplicação devido a sua viscosidade. Porém, segundo IRIART e ANDRADE, 2002; essa via de administração é a preferida pelos usuários por ser mais barata e produzir um efeito imediato.

Os mecanismos de ação dos anabolizantes, até o momento, ainda parecem controversos. Basicamente, são substâncias sintéticas, similares à testosterona. Essas substâncias podem atuar diretamente em receptores específicos, sendo que, uma vez na circulação, elas são transportadas pela corrente sanguínea como mensageiros, na forma livre ou combinada às moléculas transportadoras, mas somente na sua forma livre difundem-se diretamente através da membrana plasmática de células-alvo ligando-se a receptores protéicos intracelulares. Esse processo de entrada na célula, por si só, gera maior produção de AMPc (Adenosina monofosfato cíclico), aumentando o metabolismo celular (HEBERT et al., 1984; CELOTTI e CESI, 1992). Dentro da célula (citoplasma), a molécula de esteróide ligada ao receptor androgênico específico, migra para o núcleo celular, onde inicia o processo de transcrição gênica alterando a expressão de genes específicos, resultando na síntese de proteínas específicas (HEBERT et al., 1984; CELOTTI e CESI, 1992; LEHNINGER, 1995; SHAHIDI, 2001). Após esse processo, aparecem efeitos como, por exemplo, o aumento da massa muscular. Outro possível mecanismo de ação é a inibição da função dos glicocorticóides, devido à competitividade dos esteróides pelos seus receptores (MAYER e ROSEN, 1975). Os glicocorticóides têm efeitos catabólicos no organismo, uma vez inibidos, deixam de exercer esse efeito, favorecendo a produção e não a degradação das proteínas (HICKSON et al., 1990).

Existe uma grande variedade de tipos de esteróides anabolizantes, porém, em entrevista com usuários de EAA das academias de Salvador, os anabolizantes Deca-durabolin (decanoato de nandrolona) e o Durateston (saís de testosterona) estão entre os três esteróides mais utilizados (IRIART e ANDRADE, 2002). Isto é confirmado pelos dados obtidos por SILVA et al., 2007; nos quais também esses dois anabolizantes estavam como os mais utilizados por freqüentadores de academia.

REFERÊNCIAS

1. Proffit WR, Fields Jr HW, Sarver DM. Contemporary Orthodontics. 4th ed. St Louis: Elsevier; 2007.
2. Moyers RE. Handbook of orthodontics. 4th ed. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1988.
3. Macapanpan LC, Weinmann JP. The influence of injury to the periodontal membrane on the spread of gingival inflammation. J Dent Res 1954 Apr; 33(2): 263-72.
4. Heller IJ, Nanda R. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontic tooth movement. An experimental study. Am J Orthod 1979 Mar; 75(3): 239-58.
5. Ashizawa Y, Sahara N. Quantitative evaluation of newly formed bone in the alveolar wall surrounding the root during the initial stage of experimental tooth movement in the rat. Arch Oral Biol 1998 Jun; 43(6): 473-84.
6. Shirazi M, Nilforoushan D, Alghasi H, Dehpour A-R. The role of nitric oxide in orthodontic tooth movement in rats. Angle Orthod 2002 Jun; 72(3): 211-5.
7. Lara VS, Figueiredo F, Da Silva TA, Cunha FQ. Dentin-induced in vivo inflammatory response and in vitro activation of murine macrophages. J Dent Res 2003 Jun; 82(6): 460-5.
8. Vandevska-radunovic V, Kristiansen AB, Heyeraas KJ, Kvinnsland S. Changes in blood circulation in teeth and supporting tissues incident to experimental tooth movement. Eur J Orthod 1994 Oct; 16(5): 361-9.
9. Dudic A, Kiliaridis S, Mombelli A, Giannopoulou C. Composition changes in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement: comparisons between tension and compression sides. Eur J Oral Sci 2006 Oct; 114(5): 416-22.
10. Perinetti G, Paolantonio M, D'Attilio M, D'Archivio D, Tripodi D, Femminella B, *et al.* Alkaline phosphatase activity in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2002 Nov; 122(5): 548-56.

11. Kuflinec MM. Vascular changes due to the application of force to the molar teeth in hamsters. *J Dent Res* 1968 Nov-Dec; 47(6): 916-8.
12. Mabuchi R, Matsuzaka K, Shimono M. Cell proliferation and cell death in periodontal ligaments during orthodontic tooth movement. *J Periodontal Res* 2002 Apr; 37(2): 118-24.
13. Talic NF, Evans CA, Daniel JC, Zaki AEM. Proliferation of epithelial rests of Malassez during experimental tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003 May; 123(5): 527-33.
14. Hoberman JM, Yesalis CE. The history of synthetic testosterone. *Sci Am* 1995 Feb; 272(2): 60-5.
15. Goldberg L, Mackinnon DP, Elliot DL, Moe EL, Clarke G, Cheong J. The adolescents training and learning to avoid steroids program: preventing drug use and promoting health behaviors. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2000 Apr; 154(4): 332-8.
16. Wilmore JH, Costill DL. *Fisiologia do esporte e do exercício*. 2ª ed. São Paulo: Manole; 2001.
17. Kam PCA, Yarrow M. Anabolic Steroid Abuse: Physiological and Anaesthetic considerations. *Anaesthesia* 2005 Feb; 60(7): 685-92.
18. Weineck J. Fatores que influenciam a capacidade de desempenho esportivo. In: Weineck J. *Biologia do esporte*. 7ª ed. São Paulo: Manole; 2005. P. 417-544.
20. Bhasin S, Storer TW, Berman N, Yarasheski KE, Clevenger B, Phillips J, et al. Testosterone replacement increases fat-free mass and muscle size in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(2): 407-13.
21. De rose EH, Nóbrega, ACL. Drogas lícitas e ilícitas. In: Ghorayeb N, Barros TO. *Exercício*. São Paulo: Atheneu; 1999. P. 395-405.
22. Geusens P, Dequeker J. Long-term effect of nandrolone decanoate, 1 alpha-hydroxyvitamin D3 or intermittent calcium infusion therapy on bone mineral content, bone remodeling and fracture rate in symptomatic osteoporosis: double-blind controlled study. *Bone Miner* 1986 Sep; 1(4): 347-357.

23. Hebert A, Haupt MD, George D, Rovere M. Anabolic steroids: a review of the literature. *Am J Sports Med* 1984 Dec; 12(6): 469-84.
24. Celotti F, Cesi PN. Anabolic steroids: a review of their effects on the muscle, of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992 Oct; 43(5): 469-77.
25. Creutzberg EC, Wouters EF, Mostert R, Pluymers RJ, Schols AM. A role for anabolic steroids in the rehabilitation of patients with COPD? A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Chest* 2003 Nov; 124(5): 1733-42.
26. Evans NA. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am J Sports Med* 2004 Mar; 32(2): 534-42.
27. Parkinson AB, Evans NA. Anabolic androgenic steroids: a survey of 500 users. *Med Sci Sports Exerc* 2006 Apr; 38(4): 644-51.
28. Brower KJ. Anabolic Steroids. The psychiatric clinics of north America- recent advances in addictive disorders 1993; 16: 97-103.
29. Bahrke MS, Yesalis CE, Wright JE. Psychological and behavioural effects of endogenous testosterone levels and anabolic-androgenic steroids among males: a review. *Sports Medicine* 1990 Nov; 10(5): 303-337.
30. Brower KJ. Addictive potential of anabolic steroids. *Psychiatric Annals* 1992; 22: 30-34.
31. Lobo APT. O uso indevido de anabolizantes na cidade de São Paulo: um estudo qualitativo (Dissertação). São Paulo: EPM-UNIFESP; 2002.
32. Iriart JAB, Andrade TM. Musculação, uso de esteróides anabolizantes e percepção de risco entre jovens fisiculturistas de um bairro popular de Salvador, Bahia, Brasil. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro 2002 set-out; 18(5):1379-1387.
33. Leningher AL. Princípios da Bioquímica. 2ªed. São Paulo: Sarvier; 1995. P. 583.

34. Shahidi NT. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. *Clin Ther* 2001 Sep; 23(9):1355-90.
35. Mayer M, Rosen F. Interaction of anabolic steroids with glucocorticoid receptor sites in rat muscle cytosol. *Am J Physiol* 1975 Nov; 229(5): 1381-6.
36. Hickson RC, Czerwinski SM, Falduto MT, Young AP. Glucocorticoid antagonism by exercise and androgenic anabolic steroids. *Med Sci Sports Exerc* 1990 Jun; 22(3): 331-340.
37. Silva PRP, Machado Jr LC, Figueiredo VC, Cioffi AP, Prestes MC, Czepielewski MA. Prevalência do uso de agentes anabólicos em praticantes de musculação de Porto Alegre. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007 fev; 51(1): 104-110.

ANEXO II - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



PUCPR

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

NÚCLEO DE BIOÉTICA
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

PARECER DE PROTOCOLO DE PESQUISA

Registro do projeto no CEUA: 492 2ª versão

Data do parecer: 23/10/2009

Título do Projeto:

Efeitos do uso de esteróides anabolizantes no tratamento ortodôntico

Pesquisador responsável:

Odilon Guariza Filho

Equipe da pesquisa:

Lilian Mary Karakida

Maria Cecília Galacini Añez

Instituição:

PUCPR

Categoria do Experimento – C

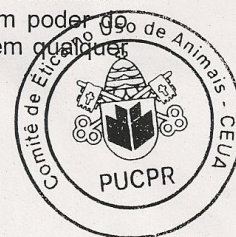
Espécie de Animal	Sexo	Idade ou peso	Quantidade
<i>Rattus norvegicus albinus</i>	Macho	9 semanas, 300-350g	180

O colegiado do CEUA em reunião no dia 22/10/2009, avaliou o projeto e emite o seguinte parecer: **APROVADO**.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEUA-PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEUA em qualquer tempo.

R



ANEXO III- MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado com parecer nº 492 pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

Foram utilizados 100 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com 9 semanas de vida, pesando aproximadamente 300-350g, fornecidos e mantidos pelo Biotério da PUCPR. Os animais foram acondicionados em gaiolas plásticas, cada uma contendo 5 animais, com temperatura controlada entre 19°C e 22°C e fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro para evitar alterações no ciclo metabólico. Foram fornecidos água e ração triturada *ad libitum*. O ambiente de manutenção das gaiolas apresentava-se constantemente limpo e arejado.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grandes grupos: grupo Controle (C), grupo experimental Deca-Durabolin (DE) e grupo experimental Durateston (DU). Dentro do grupo controle, os animais foram subdivididos em 6 subgrupos 1, 2, 3, 5, 7 e 14 dias; e em cada grupo experimental, os animais foram subdivididos em 7 subgrupos 0, 1, 2, 3, 5, 7 e 14 dias. Esses subgrupos correspondem ao dia da morte do animal após a aplicação do dispositivo ortodôntico, com a finalidade de caracterizar a evolução do movimento dentário induzido ao longo do tempo. Cada subgrupo continha 5 ratos; conseqüentemente, o grupo controle foi constituído de 30 ratos e cada grupo experimental de 35 ratos.

No grupo controle (C) não se realizou qualquer aplicação de medicamento. No grupo experimental (DE) foi administrado o esteróide anabolizante DECA- DURABOLIN® (decanoato de nandrolona - 1 ampola 1ml - 50mg – Akzo Nobel Ltda - laboratório ORGANON- BRASIL). No grupo experimental (DU) foi administrado o esteróide anabolizante DURATESTON® (saís de testosterona – 1 ampola 1ml - 250mg- Akzo Nobel Ltda- laboratório ORGANON- BRASIL). Foram realizadas nos animais dos grupos experimentais, aplicações a cada três dias, na concentração de 2,5mg/semana, via intramuscular alternando entre o lado direito e esquerdo, iniciando 20 dias antes da aplicação do dispositivo ortodôntico e prosseguindo até o momento da

morte do animal, sempre no mesmo horário (BOUILON e PRODONOVA, 2000).

Em todos os animais foi instalado um dispositivo ortodôntico para caracterizar a movimentação dentária. Para isso, os animais foram sedados com solução anestésica Tiletamina/Zolazepam (Zoetil 50[®] do Brasil Indústria e Comércio Ltda, São Paulo- SP, Virbac), na dosagem de 50mg/kg de peso corporal e média de volume de 0,25 ml/animal. Esta substância foi injetada no músculo quadríceps do membro inferior esquerdo.

O dispositivo ortodôntico utilizado consistiu em uma mola fechada de níquel-titânio de 9mm (3M Unitek[®]), fixada entre o primeiro molar superior direito e os incisivos centrais, produzindo força recíproca de 50cN. O dispositivo foi unido aos respectivos dentes por meio de um fio de amarrilho de aço inoxidável com 0,020 mm (MORELLI[®]- Dental Morelli Ltda, São Paulo - Brasil). Para prender uma extremidade da mola, utilizou-se o fio de amarrilho passando pela região interproximal do primeiro e segundo molar, circundando o 1^o molar; para a outra extremidade da mola, utilizou-se outro fio de amarrilho para que então fosse fixado nos incisivos superiores. Previamente à fixação, os incisivos foram submetidos ao condicionamento com ácido fosfórico à 37% durante 10s, com uma gaze umedecida em água, fez-se a remoção do ácido e então aplicou-se sobre o dente uma camada de adesivo Magic Bond (VIGODENT[®] - Vigodent S/A Ind. e Com., Rio de Janeiro - Brasil) e feita a polimerização durante 10s. Para a fixação do fio de amarrilho e conseqüentemente da mola, foi acrescentada uma camada de resina composta micro-híbrida (CHARISMA[®] - Heraeus Kulzer) (Figura 1, página 72).

Após a ativação inicial, o dispositivo não foi reativado durante o período experimental, no entanto seu posicionamento foi conferido diariamente. Os animais que morreram antes do término do experimento ou nos quais a mola foi perdida, foram excluídos da amostra e substituídos por outros animais para ser refeito o experimento.

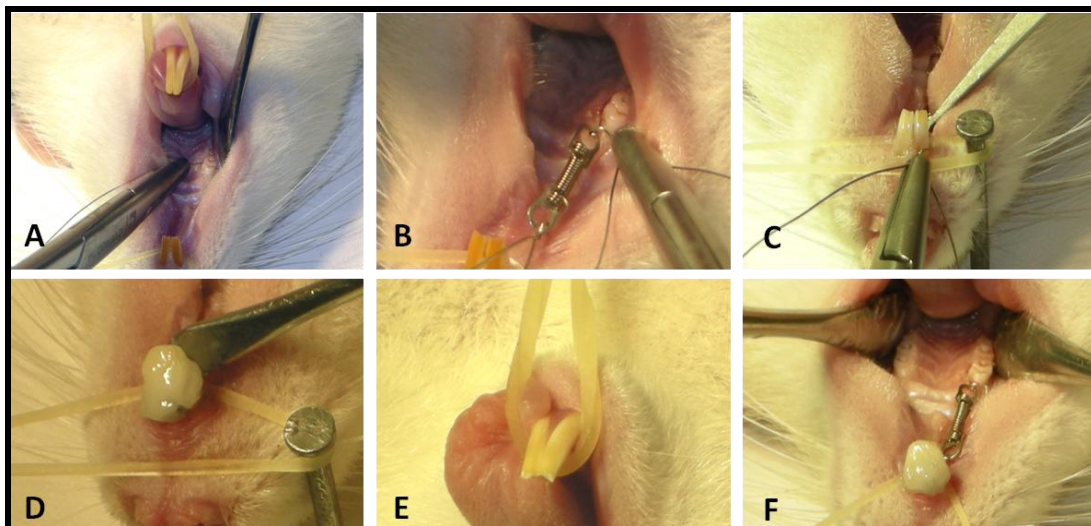


Figura 1 – Inserção do fio de amarrilho pelo espaço interproximal entre o primeiro e o segundo molar superior direito (A), fixando uma extremidade da mola após circundar a coroa do molar (B), união da outra extremidade ao incisivo superior do mesmo lado (C). Aplicação de resina composta para fixação da mola (D) e pequeno corte dos incisivos inferiores para evitar a queda do dispositivo (E). Dispositivo instalado (F).

A morte dos animais foi obtida por meio de dose excessiva de solução anestésica (Quetamina/ 5,4ml/kg), via intraperitoneal. A partir disso, a maxila de cada animal foi removida, dissecada e seccionada na sua linha mediana. As peças foram então introduzidas em solução de formaldeído à 10% durante 24 horas para a adequada fixação. Ao término, as peças foram condicionadas em solução desmineralizadora de etilenodiaminotetracetatodissodico (EDTA) à 10% até que fossem completamente descalcificadas. Obtida a completa desmineralização, os espécimes foram processados histologicamente e incluídos em parafina. Secções transversais foram realizadas em cada peça na região cervical com espessura de 5µm e corados utilizando hematoxilina – eosina (HE).

Ao término dos procedimentos laboratoriais, as lâminas foram analisadas sob microscopia de luz com aumento original de 400X e avaliados qualitativamente e quantitativamente. Para análise qualitativa observou-se a disposição das fibras colágenas assim como a forma dos fibroblastos, tanto no lado de compressão como no lado tracionado e verificou-se também a presença de reabsorção solapante, na raiz intermediária vestibular. As áreas hialinizadas foram observadas em todas as raízes do 1º molar. Na análise quantitativa, quantificou-se os osteoclastos, as lacunas de howship e os vasos

sanguíneos em todo o ligamento periodontal da raiz intermediária vestibular. O critério histológico para identificação de células osteoclásticas foi a presença de células multinucleadas e eosinofílicas adjacentes à superfície óssea (ARIAS e MÁRQUEZ-OROSCO, 2006), e as lacunas de Howship contadas foram aquelas próximas às células osteoclásticas, consideradas ativas.

Para comparar os grupos experimentais no tempo 0, para as três variáveis contínuas (osteoclastos, lacunas de Howship, vasos sanguíneos), utilizou-se o teste não paramétrico U de Mann-Whitney, uma vez que o tamanho da amostra foi $n=5$. Da mesma forma, para as variáveis categóricas, foi utilizado o teste Qui-Quadrado para identificar se existia dependência entre cada uma das variáveis.

Na comparação entre todos os tempos para cada grupo experimental (DE e DU) utilizou-se o teste Qui-Quadrado para as variáveis categóricas, enquanto para as variáveis contínuas utilizou-se o teste ANOVA a um critério de classificação. Essa escolha baseou-se no princípio de que apesar de cada tempo apresentar $n=5$, foram observados valores de média e mediana próximos indicando distribuição simétrica dos dados. Quando o teste ANOVA indicou existir diferença entre tempos, tanto dentro do grupo DE quanto do DU, utilizou-se o teste não paramétrico de comparações múltiplas de Games-Howell para variâncias heterogêneas, visando identificar quais tempos diferiram entre si.

Para comparar se existia dependência para as variáveis categóricas entre os 3 grupos independente de tempo, entre tempo independente de grupo e considerando simultaneamente grupo x tempo, utilizou-se o teste Qui-Quadrado. Para as variáveis contínuas utilizou-se ANOVA a dois critérios de classificação, modelo fatorial completo, onde foi possível testar se existia diferença entre grupo, tempo e a interação entre grupo x tempo.

ANEXO IV – ANÁLISE ESTATÍSTICA

TABELA 1 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA PARA O TEMPO O ENTRE DE E DU, PUCPR - 2010

VARIÁVEL	TEMPO	GRUPO DE			GRUPO DU			p
		Média	Mediana	D.P.	Média	Mediana	D.P.	
osteoclasto	0	2	1	1,7	1,2	1	1,3	0,447
vasos sanguíneos	0	13,6	14	2,51	11,8	12	1,48	0,201
lacunas de howship	0	6,8	4	7,4	3	3	3,32	0,333

FONTE: Dados da pesquisa

LEGENDA: D.P.- Desvio Padrão

NOTA: *Valor estatisticamente significativo quando $p < 0,05$.

TABELA 2 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA COMPARAÇÃO DA VARIÁVEL
OSTEOCLASTO SEGUNDO GRUPO X TEMPO

VARIÁVEL	GRUPO X TEMPO	MÉDIA	MEDIANA	D.P.	p
Osteoclastos	C X 1	3,4	3	1,81	0,0367*
	C X 2	5,6	5	3,13	
	C x 3	8	8	2,12	
	C x 5	9	8	1,73	
	C x 7	3	3	3,08	
	C x 14	0,4	0	0,54	
	DE x 1	2,4	3	1,51	
	DE x 2	4,8	4	2,38	
	DE x 3	15,2	17	4,2	
	DE x 5	8	8	1	
	DE x 7	2,4	2	1,51	
	DE x 14	0,6	0	0,89	
	DU x 1	2,4	2	0,54	
	DU x 2	6	5	4	
	DU x 3	12	12	6,16	
	DU x 5	10,4	10	2,6	
	DU x 7	2	1	2	
	DU x 14	0,8	1	0,44	

FONTE: Dados da pesquisa

LEGENDA: D.P. – Desvio Padrão

NOTA: *Valor estatisticamente significativo quando $p < 0,05$.

TABELA 3 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA COMPARAÇÃO DA VARIÁVEL VASOS SANGUÍNEOS SEGUNDO GRUPO X TEMPO

VARIÁVEL	GRUPO X TEMPO	MÉDIA	MEDIANA	D.P.	p
Vasos sanguíneos	C X 1	7,8	7	1,09	0,0019*
	C X 2	7,4	6	3,13	
	C x 3	8,6	8	3,71	
	C x 5	9,8	10	2,04	
	C x 7	8,6	8	2,5	
	C x 14	8,4	9	2,5	
	DE x 1	6,4	7	0,89	
	DE x 2	6,4	7	1,34	
	DE x 3	15	15	3,39	
	DE x 5	9,8	10	3,89	
	DE x 7	9,6	10	3,5	
	DE x 14	8,2	8	0,83	
	DU x 1	6,8	7	1,48	
	DU x 2	7	7	2,54	
	DU x 3	14,8	14	2,9	
	DU x 5	11,4	12	2,4	
	DU x 7	9,8	9	2,48	
	DU x 14	8,4	9	1,51	

FONTE: Dados da pesquisa

LEGENDA: D.P.- Desvio Padrão

NOTA: *Valor estatisticamente significativo quando $p < 0,05$.

TABELA 4- CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE OSTEOCLASTOS E LACUNAS DE HOWSHIP

		Osteoclastos	Lacunas
Osteoclastos	Pearson Correlation	1	0,91935
	Sig. (2-tailed)		,000000
	N	90	90
Lacunas	Pearson Correlation	0,91935	1
	Sig. (2-tailed)	,000000	
	N	90	90

FONTE: Dados de pesquisa

NOTA: *Valor estatisticamente significativo quando $p < 0,05$.

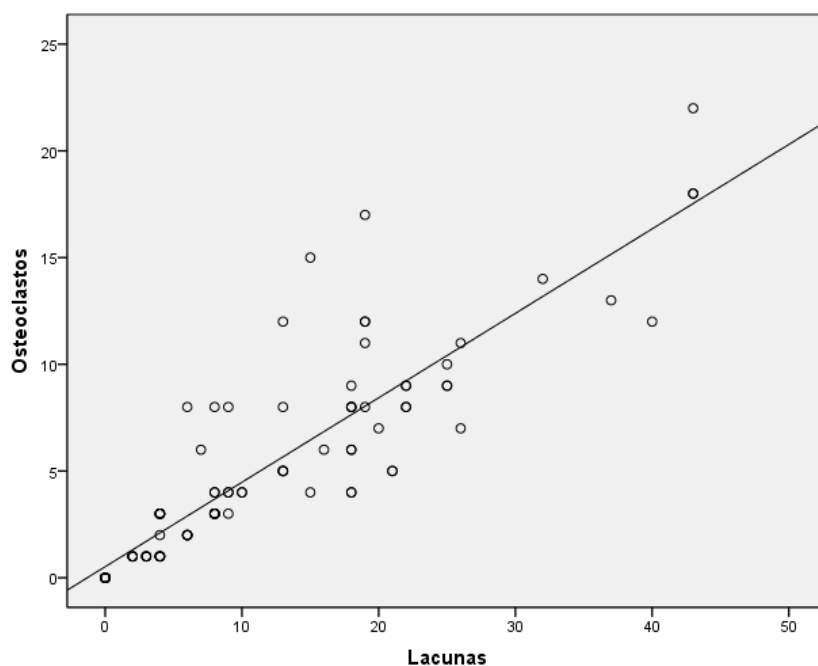


Gráfico 1- Correlação entre as variáveis osteoclastos e lacunas de howship.

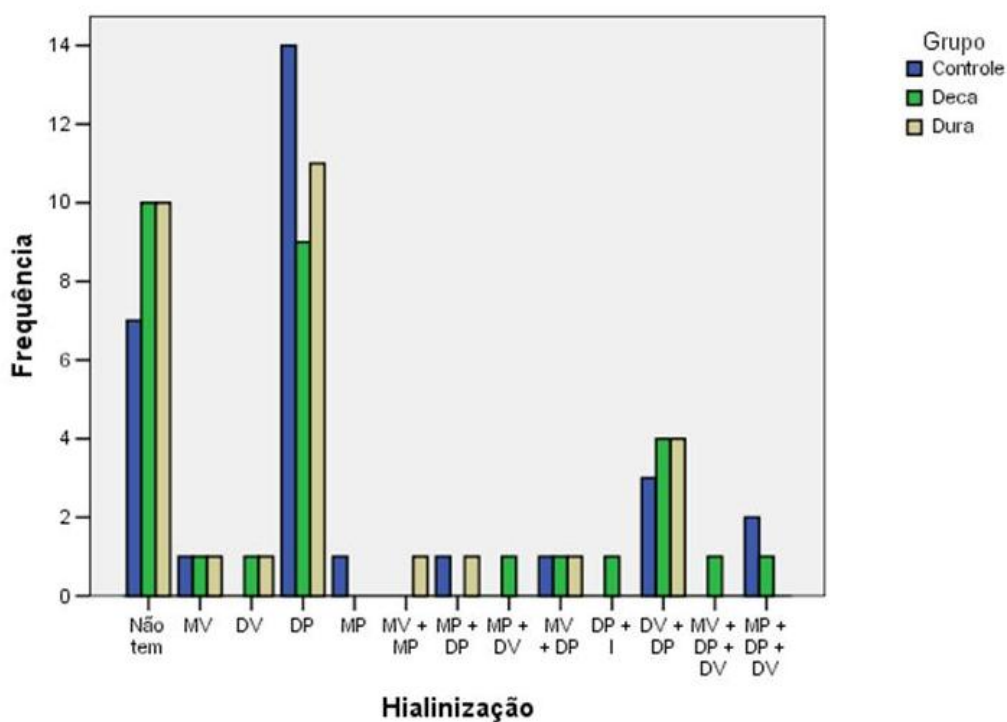


Gráfico 2 - Disposição das áreas hialinas de acordo com grupo. Legenda: MV- raiz méso-vestibular, DV- raiz disto-vestibular, DP- raiz disto-palatina, MV+MP- associação da raiz méso-vestibular com a méso-palatina, MP+DP- associação da raiz méso-palatina com a disto-palatina, MP+DV- associação da raiz méso-palatina com a disto-vestibular, MV+DP- associação da raiz méso-vestibular com a disto-palatina, DP+I- associação da raiz disto-palatina com a intermediária, DV+DP- associação da raiz disto-vestibular com a disto-palatina, MV+DP+DV- associação das raízes méso-vestibular, disto-palatina e disto-vestibular, MP+DP+DV- associação das raízes méso-vestibular, disto-palatina e disto-vestibular.

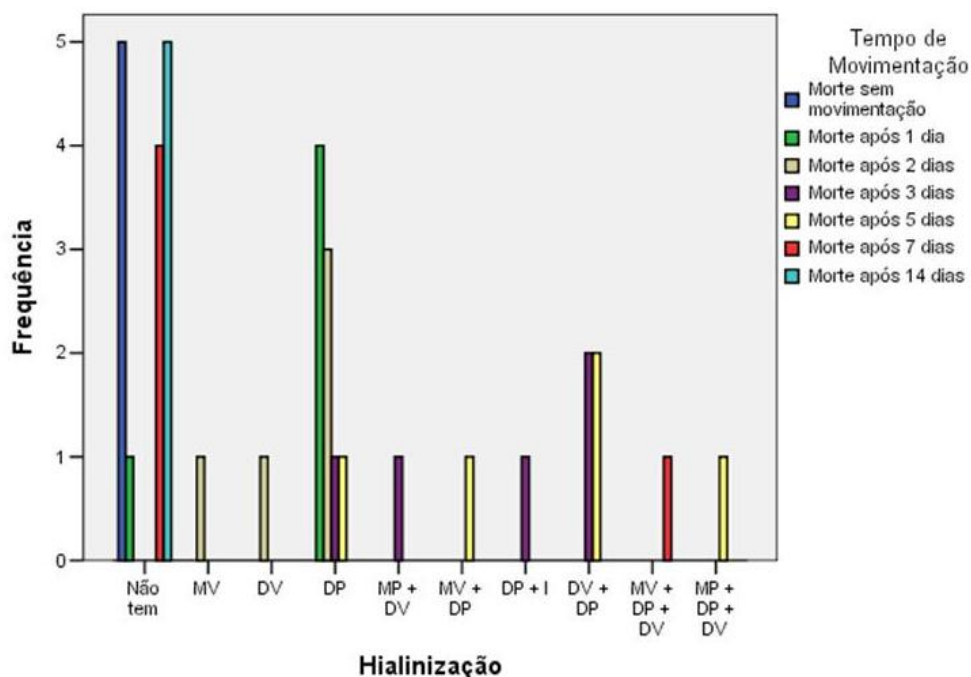


Gráfico 2 - Disposição das áreas hialinas do grupo DE, de acordo com tempo. Legenda: MV- raiz méso-vestibular, DV- raiz disto-vestibular, DP- raiz disto-palatina, MP+DV- associação da raiz méso-palatina com a disto-vestibular, MV+DP- associação da raiz méso-vestibular com a disto-palatina, DP+I- associação da raiz disto-palatina com a intermediária, DV+DP- associação da raiz disto-vestibular com a disto-palatina, MV+DP+DV- associação das raízes méso-vestibular, disto-palatina e disto-vestibular, MP+DP+DV- associação das raízes méso-vestibular, disto-palatina e disto-vestibular.

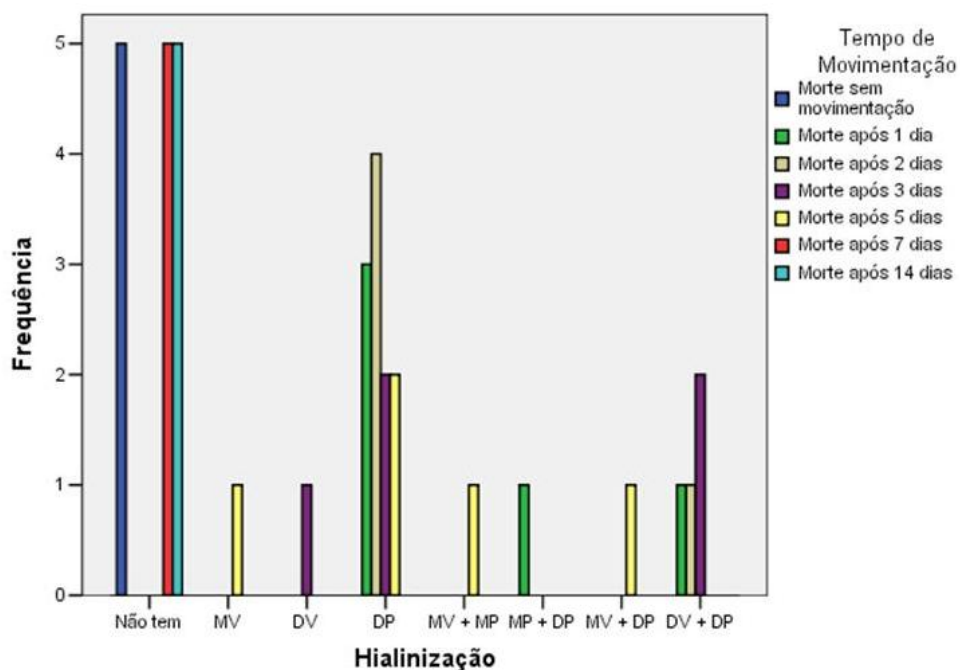


Gráfico 3 - Disposição das áreas hialinas do grupo DU, de acordo com tempo. Legenda: MV- raiz méso-vestibular, DV- raiz disto-vestibular, DP- raiz disto-palatina, MV+MP- associação da raiz méso-vestibular com a méso-palatina, MP+DP- associação da raiz méso-palatina com a disto-palatina, MV+DP- associação da raiz méso-vestibular com a disto-palatina, DV+DP- associação da raiz disto-vestibular com a disto-palatina.

ANEXO V – ILUSTRAÇÕES

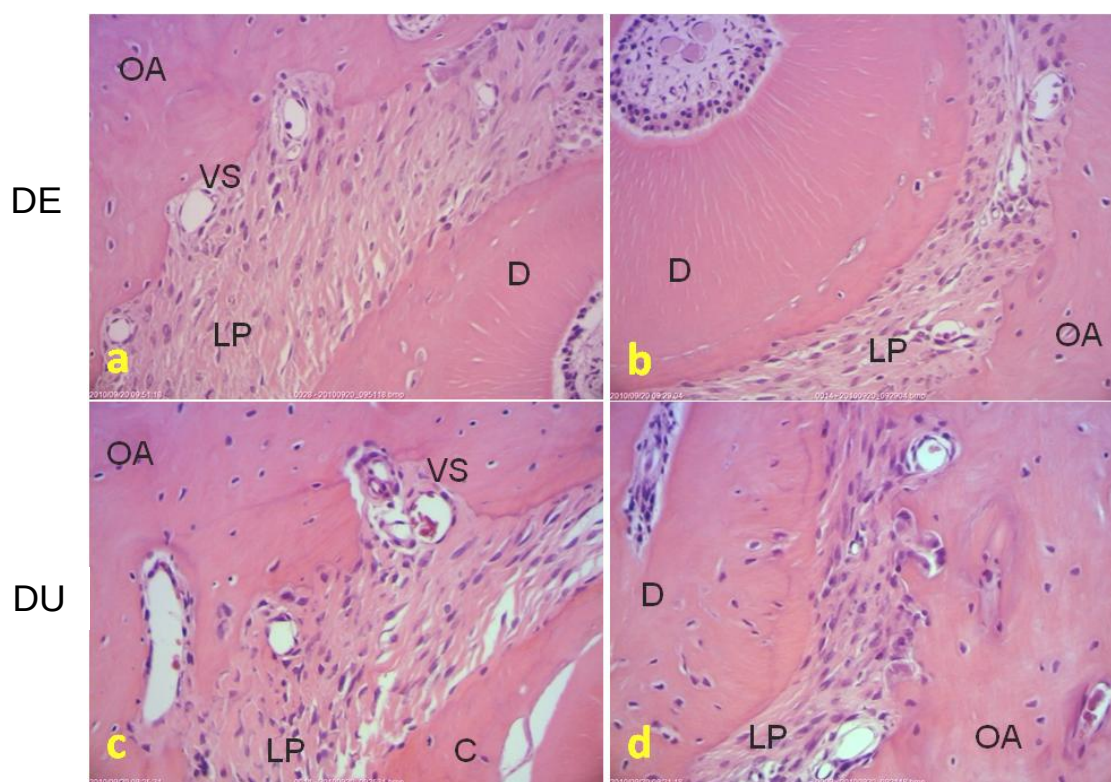


Figura 1 – Comparação entre DE e DU no lado de compressão (a,c) e lado de tração (b, d) no tempo 0. C- cimento, D- dentina, LP- ligamento periodontal, OA- osso alveolar, VS- vaso sanguíneo.

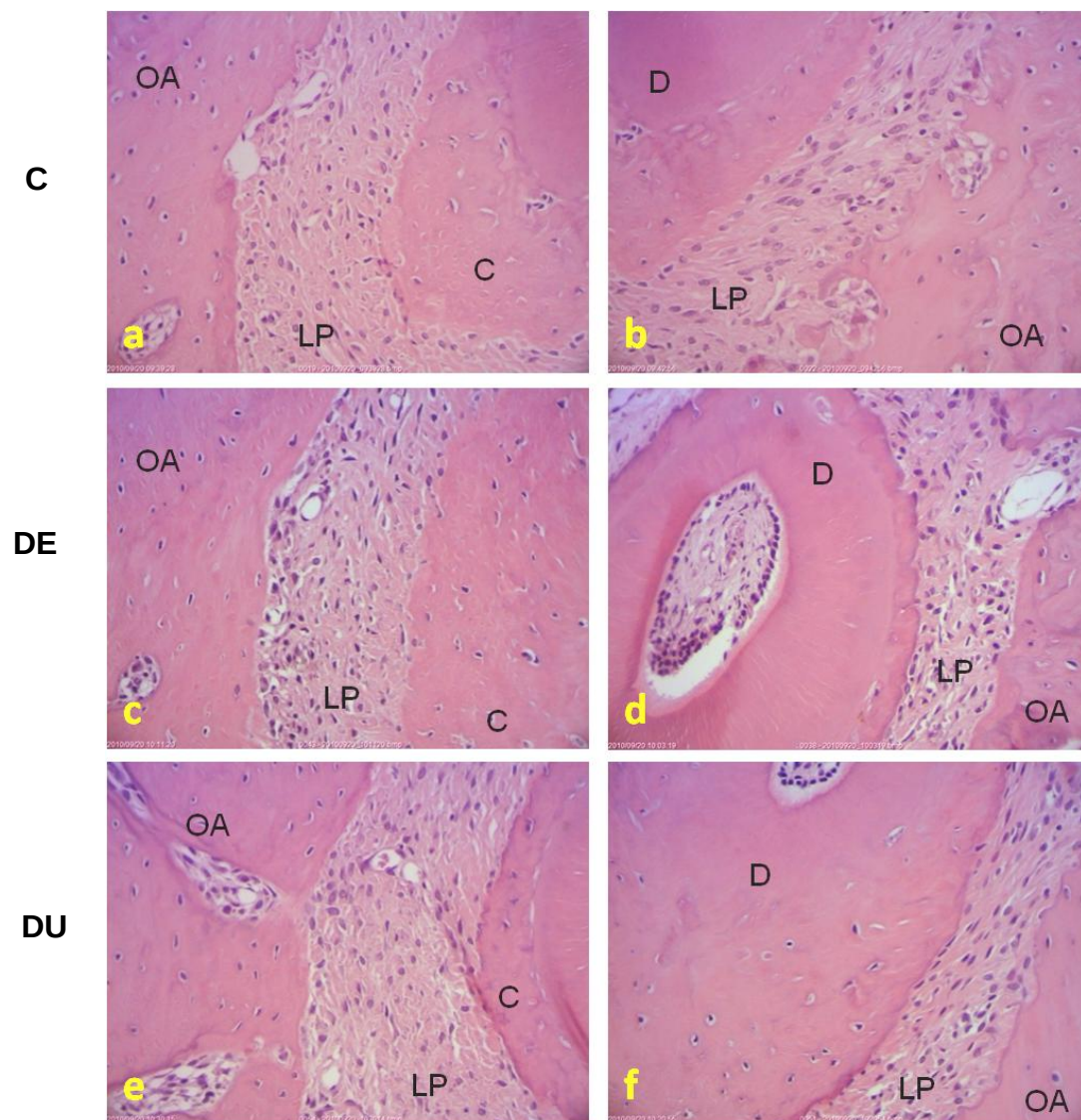


Figura 2 – Comparação entre grupos no lado de compressão (a,c,e) e lado de tração (b,d,f) no 1º dia. C- cimento, D- dentina, LP- ligamento periodontal, OA- osso alveolar.

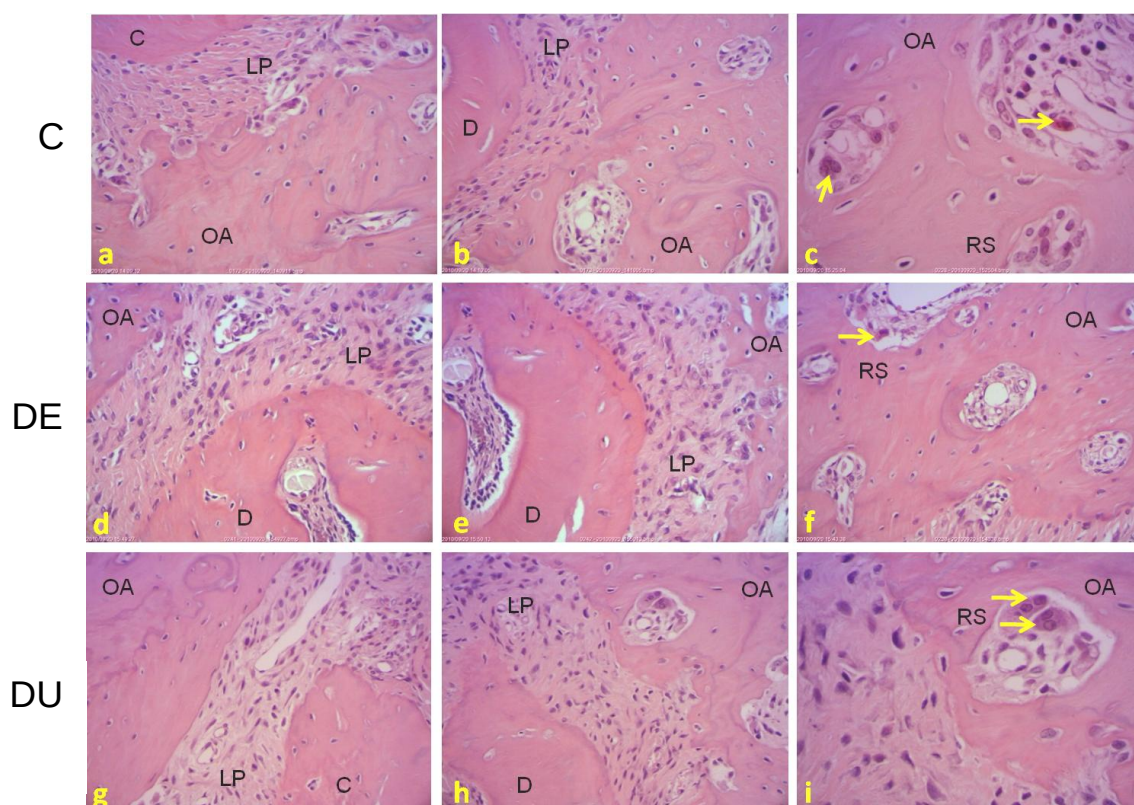


Figura 3 – Comparação entre grupos no lado de compressão (a,d,g), lado de tração (b,e,h) e reabsorção solapante (c,f,i) no 7º dia. C- cimento, D- dentina, LP- ligamento periodontal, OA- osso alveolar, RS- reabsorção solapante, → setas indicando osteoclastos na reabsorção solapante.

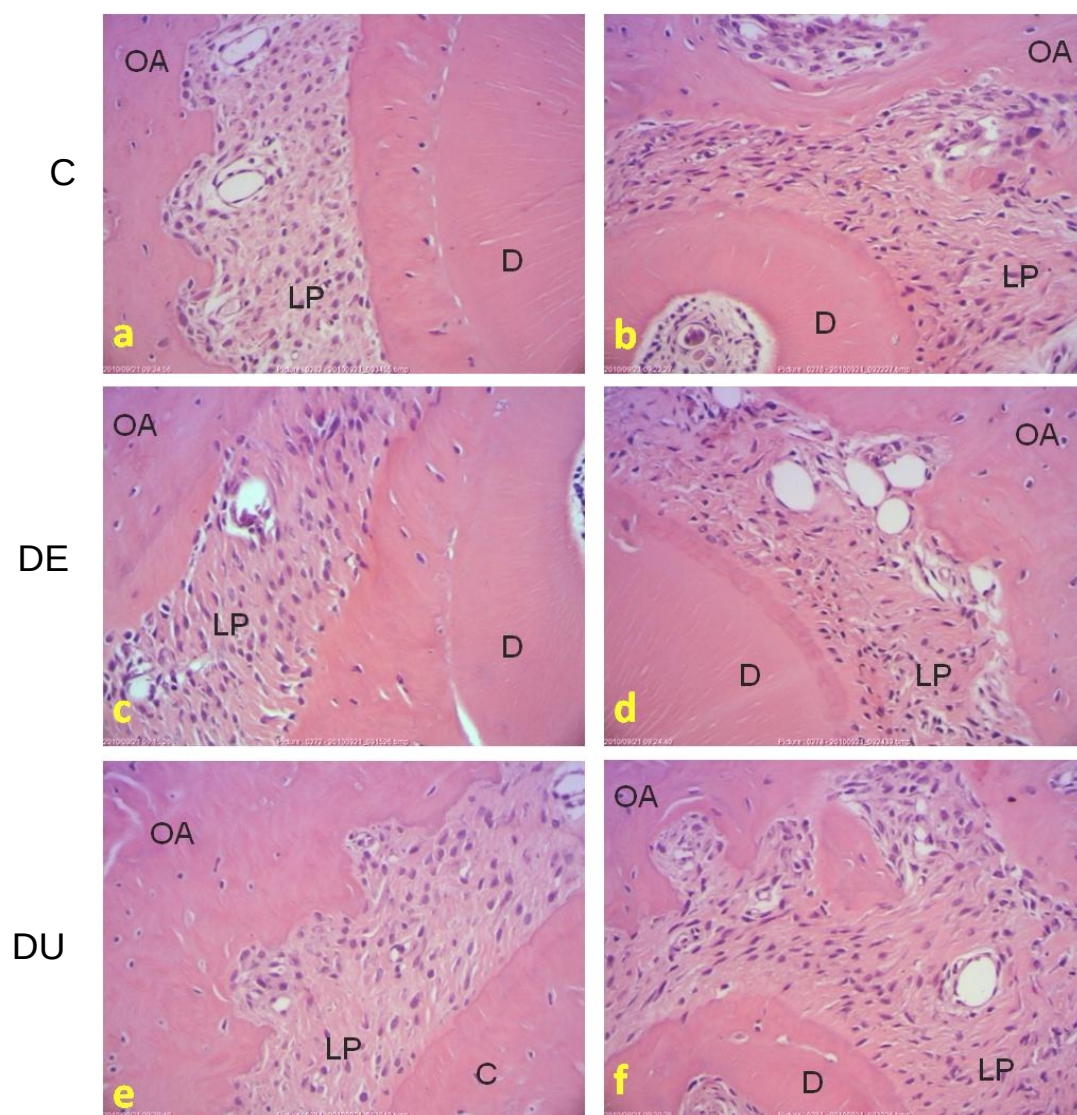


Figura 4 – Comparação entre grupos no lado de compressão (a,c,e) e no lado de tração (b,d,f) no 14º dia. C- cimento, D- dentina, LP- ligamento periodontal, OA- osso alveolar.

ANEXO VI – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NO 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** Editorial Manager website: ees.elsevier.com/ajodo.

Guidelines for Original Articles

Submit Original Articles via the online Editorial Manager: ees.elsevier.com/ajodo. Organize your submission as follows.

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 the Editorial Manager, or submit it via fax or mail.

8. Conflict of interest statement. Report any commercial association that might pose a conflict of interest, such as ownership, stock holdings, equity interests and consultant activities, or patent-licensing situations. 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.

Other Articles

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

Case Reports will be evaluated for completeness and quality of records, quality of treatment, uniqueness of the case, and quality of the manuscript. A highquality manuscript will include the following sections: introduction; diagnosis; etiology; treatment objectives, alternatives, progress, and results; and discussion. The submitted figures should include extraoral and intraoral photographs and dental models, panoramic radiographs and tracings from both pretreatment and posttreatment, and progress or retention figures as appropriate.

Short Communications should not exceed 2000 words, including the bibliography, and should include a minimal number of figures or tables. Priority will be given to communications relating to primary research data, preferably clinical but also basic. This section permits time-sensitive material to be published within 6 months of submission. Techno Bytes items report on emerging technological developments and products for use by orthodontists.

Litigation, Legislation, and Ethics items report legal and ethical issues of interest to orthodontists.

Miscellaneous Submissions

Letters to the Editor and Ask Us questions and answers appear in the Readers' Forum section and are encouraged to stimulate healthy discourse concerning the profession. Send letters or questions directly to the editor, via e-mail: dlturpin@aol.com. Submit a signed copyright release with the letter, or fax or mail separately.

Brief, substantiated commentary on subjects of interest to the orthodontic profession is occasionally published as a Guest Editorial or Special Article. Send Guest Editorials or Special Articles directly to the editor, via e-mail: dlturpin@aol.com. Submit a signed copyright release with the editorial, or fax or mail separately.

Books and monographs (domestic and foreign) will be reviewed, depending on their interest and value to subscribers. Send books to the Editor of Reviews and Abstracts, Dr Alex Jacobson, University of Alabama School of Dentistry, 1919 7th Ave S, Box 23, Birmingham, AL 35294. 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)

____ Conflict of interest statement

____ Permissions to reproduce previously published material