



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

DAYLA THYEME HIGASHI

**AVALIAÇÃO DA SINVASTATINA SOBRE A REABSORÇÃO  
DENTÁRIA INFLAMATÓRIA INDUZIDA EM RATOS**

---

Londrina  
2012

Dayla thyeme Higashi

**AVALIAÇÃO DA SINVASTATINA SOBRE A REABSORÇÃO  
DENTÁRIA INFLAMATÓRIA INDUZIDA EM RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Colegiado de Odontologia  
da Universidade Estadual de Londrina

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Solange de Paula  
Ramos

Londrina  
2012

DAYLA THYEME HIGASHI

**AVALIAÇÃO DA SINVASTATINA SOBRE A REABSORÇÃO  
DENTÁRIA INFLAMATÓRIA INDUZIDA EM RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Colegiado de Odontologia  
da Universidade Estadual de Londrina

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Solange de Paula Ramos  
Universidade Estadual de Londrina

---

Prof. Emerson José Venancio  
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_.

Dedico este trabalho a meus pais,  
Maria Salete Gasparotto Higashi e  
Oswaldo Toshiyuki Higashi, que deram  
todo o apoio necessário para que esta  
obra se realizasse.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus provedor de todas das coisas e senhor misericordioso.

A minha família que me deu a base para a execução de todos os estudos necessários.

Agradeço a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Solange de Paula Ramos por toda a atenção em todos esses anos de orientação, pelo conhecimento a mim passado e todo o tempo a mim dedicado, sobretudo agradeço sua amizade, carinho e paciência.

Ao professor Osny Ferrari que contribuiu para meu ingresso no estágio no laboratório de Histologia da Universidade Estadual de Londrina, e todos os professores que compõe a grade curricular do curso de Oodontologia da UEL.

Aos colegas de minha turma 67 de odontologia por todos os anos de convivência e aprendizado.

Gostaria de agradecer também todos os funcionários do Departamento de Histologia da UEL e Clínica Odontológica Universitária da UEL e todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para minha formação.

HIGASHI, Dayla Thyeme. **Avaliação da sinvastatina sobre a reabsorção dentária inflamatória induzida em ratos**. 2012. Número total de folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

## RESUMO

Foram investigados os efeitos da sinvastatina na reabsorção radicular inflamatória e reparação periodontal. Ratos Wistar machos foram tratados com PBS (grupo RR) ou sinvastatina em concentrações de 0,1 mg / kg (RR 0,1), 0,5 mg / kg (RR 0,5) e 1,0 mg / kg (RR 1,0) nos dias 2, 3 e 4, após o aplicação de força ortodôntica (40g). Os animais do grupo controle (Co) não receberam nenhum tratamento. No 7º dia, os animais foram sacrificados e os maxilares foram submetidos a análise histológica para determinar o número de lacunas de reabsorção radicular, osteoclastos sobre a superfície da raiz e da densidade de fibroblastos, fibras de colagênio, capilares e células inflamatórias nos tecidos periodontais. Foi coletado sangue para hemograma. Os grupos RR 0,1 ( $P < 0,05$ ) e RR 0,5 ( $P < 0,05$ ) não apresentaram lacunas de reabsorção radicular e apresentaram menos osteoclastos do que o grupo RR. O grupo RR 0,1 também apresentou mais fibroblastos do que o grupo Co ( $P < 0,005$ ). O grupo RR ( $P < 0,005$ ) e grupos RR 1,0 ( $P < 0,05$ ) apresentaram menor densidade de fibras colágenas e capilares nos tecidos periodontais. A menor concentração de sinvastatina (0,1 mg) inibiu a migração de células inflamatórias no grupo RR 0,1. Não houve alteração significativa na contagem da circulação de leucócitos. Os nossos resultados sugerem que uma dose baixa de sinvastatina é eficaz na prevenção da reabsorção radicular inflamatória, diminuindo a inflamação local e melhorara da cicatrização periodontal.

**Palavras-chave:** estatinas, reabsorção dentária, inflamação.

HIGASHI, Dayla Thyeme. **Evaluation of simvastatin on induced inflammatory root resorption in rats**. 2012. Número total de folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

### ABSTRACT

The effects of Simvastatin on inflammatory root resorption and periodontal repair were investigated. Male Wistar rats were treated with PBS (RR group) or simvastatin at 0.1 mg/kg (RR 0.1), 0.5 mg/kg (RR 0.5) and 1.0 mg/kg (RR 1.0) concentrations on days 2, 3 and 4 after the application of orthodontic force (40g). Control animals received no treatment. After 7 days, the animals were killed and the maxillas were submitted to histological analysis to determine the number of root resorption craters, clast cells on the root surface, and the density of fibroblasts, collagen fibers, capillaries and inflammatory cells in periodontal tissues. Blood was collected for hematological analysis. The RR 0.1 ( $P < 0.05$ ) and RR 0.5 ( $P < 0.05$ ) groups presented no root resorption lacunae and fewer osteoclasts than the RR group. The RR 0.1 group also presented more fibroblasts than the Co group ( $P < 0.005$ ). The RR ( $P < 0.005$ ) and RR 1.0 groups ( $P < 0.05$ ) presented a lower density of collagen fibers and capillaries in periodontal tissues. The lowest concentration of simvastatin (0.1 mg) inhibited inflammatory cell migration in the RR 0.1 group. No significant alteration in circulating leukocyte counts was observed. Our results suggest that a low dose of simvastatin is efficient in preventing inflammatory root resorption, decreasing local inflammation and improving periodontal healing.

**Key words:** statin, root resorption, inflammation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – RR lacunae.....	22
<b>Figura 2</b> – Osteoclasts.....	23
<b>Figura 3</b> – Fibroblasts.....	24
<b>Figura 4</b> – Collagen fibers .....	25
<b>Figura 5</b> – Blood vessels and capillaries .....	26
<b>Figura 6</b> – Inflammatory cell infiltration .....	27



**LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1** – Contagem de leucócitos.....28

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RRI – Reabsorção Radicular Inflamatória

RANKL – Receptor activator of Nuclear factor kappa B ligant

MAPK – Mitogen Activated Protein kinase

JNK – Janus kinase

ERK – Extracelular related kinase

BMP2 – Bone Molecular Protein 2

VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor

NFkB – Fator Nuclear kappa B

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2 REFERÊNCIAS(INTRODUÇÃO) .....</b>	<b>12</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
<b>4 ARTIGO .....</b>	<b>15</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>32</b>
<b>6 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A reabsorção de dentes permanentes é um processo patológico que provoca a destruição dos tecidos dentários mineralizados (CONSOLARO, 2005). A reabsorção radicular inflamatória (RRI) é consequência de agressões mecânicas ou químicas que provocam um processo inflamatório sobre os tecidos não-mineralizados que recobrem a superfície radicular interna ou externa, expondo os tecidos mineralizados à atividade de clastos (CONSOLARO, 2005; FUSS et al, 2003).

Nos locais de compressão, pode ocorrer necrose isquêmica, com a morte de cementoblastos e células do ligamento periodontal, a liberação de mediadores inflamatórios tornando a superfície radicular exposta à ação de células fagocíticas e clastos (BREZNIAK et al, 2002; CASA et al, 2006) e a formação de uma região de necrose hialina, que futuramente será invadida por células inflamatórias que removem o tecido necrótico e iniciam a reabsorção radicular (BRUDVIK et al, 1993; HELLSING et al, 1996.). As RDs podem afetar apenas a superfície do cimento e/ou formar lacunas de reabsorção na dentina, o que pode resultar em afinamento e arredondamento de ápices radiculares e em casos mais extremos encurtamento e destruição das raízes, (JIMENEZ-PELLEGRIN et al, 2004; MAVRAGANI et al, 2004; LINDSKOG et al, 1987).

A sinvastatina é uma droga do grupo das estatinas ou inibidores da 3-hidroxi -3-metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA) que cataliza a produção do melavonato, um intermediário da síntese do colesterol (ULIVIERI et al., 2008). A droga é utilizada no tratamento da hipercolesterolemia, mas apresenta efeitos anti-inflamatórios, imunomoduladores e anti-oxidantes, reduzindo os níveis de proteína C-reativa (CRP) e matriz metaloproteinase-9 (MMP-9) e seus produtos intermediários, como o TNF- $\alpha$ . (CUNHA-CRUZ et.al. 2006).

Pesquisas com animais relatam os efeitos positivos das estatinas no tecido ósseo como aumento da formação óssea e redução dos efeitos da osteoporose, aumento da densidade do osso (MUNDY et al.,1999; FUNKHOUSER et.al., 2002).

## 2. REFERÊNCIAS (INTRODUÇÃO)

- Brezniak, N.; Wassrtein, A. **Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part I: The basic science aspects.** Angle Orthod. V.72, n.2, p.175-9. Apr. 2002.
- Brudvik P, Rygh P 1993a **The initial phase of orthodontic root resorption incident to local compression of the periodontal ligament.** European Journal of Orthodontics 15: 249-263
- Brudvik P, Rygh P 1993b **Non-clast cells start orthodontic root resorption in the periphery of hyalinized zones.** European Journal of Orthodontics 15: 467-480
- Casa MA, Faltin RM, Faltin K, Arana-Chavez VE (2006). **Root resorption on torqued human premolars shown by tartrate-resistant acid phosphatase histochemistry and transmission electron microscopy.** Angle Orthod. 76:1015-1021.
- Consolaro, A. **Reabsorções dentárias.** Dentalpress: Maringá, 2005.
- Cunha-Cruz J, Saver B, Maupome G, Hujjoel PP. **Statin use and tooth loss in chronic periodontitis patients.** J Periodontol. 2006; 77: 1061-6
- Funkhouser, H.L., Adera, T. & Adler, R.A. (2002). **Effect of HMG-CoA reductase inhibitors (statins) on bone mineral density.** Journal of Clinical Densitometry 5: 151–158
- Fuss, Z.; Tsesis, I;Lin, S. **Root resorption--diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors.** Dent Traumatol. V.19, n.4, p.175-82. Aug. 2003.
- Hellsing E, Hammarstrom L 1996 **The hyaline zone and associated root surface changes in experimental orthodontics in rats: a light and scanning electron microscope study.** European Journal of Orthodontics 18: 11-18
- Jimenez-Pellegrin C, Arana-Chavez VE (2004). **Root resorption in human mandibular first premolars after rotation as detected by scanning electron microscopy.** Am J Orthod Dentofacial Orthop. 126:178-185.

Lindskog, S.; Blomlof, L.; Hammarstrom, L. **Cellular colonization of denuded root surfaces in vivo: cell morphology in dentin resorption and cementum repair.** J Clin Periodontol. V.14, n.7, p.390-5. Aug. 1987.

Mavragani M, Amundsen OC, Selliseth NJ, Brudvik P, Selvig KA 2004 **Early root alterations after orthodontic force application studied by light and scanning electron microscopy.** European Journal of Orthodontics 26: 119-128

Mundy G, Garret R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G et al. **Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins.** Science. 1999; 286(5446):1946-9

Ulivieri C, Fanigliulo D, Benati D, Pasini FL, Baldari CT. **Simvastatin impairs humoral and cell-mediated immunity in mice by inhibiting lymphocyte homing, T-cell activation and antigen cross-presentation.** Eur J Immunol. 2008 Oct;38(10):2832-44.

## 2 OBJETIVOS

A reabsorção radicular inflamatória (RRI) é a principal sequela de tratamentos ortodônticos. A lesão se desenvolve em resposta a agressão ao tecido periodontal e a ativação de células da resposta inflamatória. Evidências clínicas indicam que a resposta imune também contribui para o desenvolvimento das lesões. Ainda não existe um tratamento eficaz para evitar o surgimento das lesões de reabsorção. O objetivo deste estudo é avaliar o uso da droga sinvastatina, após dois dias de movimentação dentária, no período de início do desenvolvimento das lesões de reabsorção dentária. A sinvastatina possui propriedades imunomoduladoras que potencialmente diminuem o processo inflamatório, respostas auto-ímmunes e a ativação de clastos, além de haver vários estudos confirmando sua ação na regeneração/reparação óssea, por meio da ativação do BMP-2 e VEGF.

### **3 ARTIGO CIENTÍFICO**

#### **Low dose of simvastatin inhibits orthodontic root resorption and improves periodontal repair in Wistar rats**

Dayla Thyeme Higashi, Department of Histology, Universidade Estadual de Londrina.

Leonardo Mazureck, Department of Histology, Universidade Estadual de Londrina.

Karina Keller Marques da Costa Flaiban, Department of Preventive Veterinary, Universidade Estadual de Londrina

Solange de Paula Ramos, Department of Histology, Universidade Estadual de Londrina

#### **Simvastatin prevents root resorption**

Corresponding author:

Prof. Dr. Solange de Paula Ramos

Departamento de Histologia, Universidade Estadual de Londrina.

Rodovia Celso Garcia Cid PR 445 Km 380.

CEP 86051-990 – Londrina, PR.

email: [ramossolange@yahoo.com](mailto:ramossolange@yahoo.com)

Phone: +55(43) 3371-4327



## RESUMO

Foram investigados os efeitos da sinvastatina na reabsorção radicular inflamatória e reparação periodontal. Ratos Wistar machos foram tratados com PBS (grupo RR) ou sinvastatina em concentrações de 0,1 mg / kg (RR 0,1), 0,5 mg / kg (RR 0,5) e 1,0 mg / kg (RR 1,0) nos dias 2, 3 e 4, após o aplicação de força ortodôntica (40g). Os animais do grupo controle (Co) não receberam nenhum tratamento. No 7º dia de experimentação, os animais foram sacrificados e os maxilares foram submetidos a análise histológica para determinar o número de lacunas de reabsorção radicular, osteoclastos sobre a superfície da raiz e da densidade de fibroblastos, fibras de colagénio, capilares e células inflamatórias nos tecidos periodontais. Foi coletado sangue para hemograma. Os grupos RR 0,1 ( $P < 0,005$ ) e RR 0,5 ( $P < 0,005$ ) não apresentaram lacunas de reabsorção radicular e apresentaram menos osteoclastos do que o grupo RR. O grupo RR 0,1 também apresentou mais fibroblastos do que o grupo Co ( $P < 0,005$ ). O grupo RR ( $P < 0,005$ ) e grupos RR 1,0 ( $P < 0,05$ ) apresentaram menor densidade de fibras colágenas e capilares nos tecidos periodontais. A menor concentração de sinvastatina (0,1 mg) inibiu a migração de células inflamatórias no grupo RR 0,1. Não houve alteração significativa na contagem da circulação de leucócitos. Os nossos resultados sugerem que uma dose baixa de sinvastatina é eficaz na prevenção da reabsorção radicular inflamatória, diminuindo a inflamação local e melhorar a cicatrização periodontal.

**Palavras-chave:** estatinas, reabsorção dentária, inflamação.

## 2.1 INTRODUÇÃO

Reabsorção radicular inflamatória (RRI) é o principal efeito colateral do tratamento ortodôntico e afeta aproximadamente 90% dos pacientes ortodônticos (Apajalahti e Peltola, 2007; Lund et al 2012). RRI é uma doença multifatorial associada a fatores mecânicos e biológicos (Artun et al, 2009;. Motokawa et al, 2012;. Sameshima e Sinclair, 2001a; Sameshima e Sinclair, 2001b). Os fatores mecânicos incluem duração do tratamento, tipo de aplicação, plano de tratamento e força ortodôntica excessiva (Cheng et al, 2009;. Linge e Linge, 1991; Mohandesan et al, 2007;. Motokawa et al, 2012;. Ramanathan e Hofman, 2009). Os fatores de risco incluem forma de raiz, o grau de má oclusão e a susceptibilidade individual (Hartsfield et al, 2004;. Linge e Linge, 1991; Ramos et al, 2011;. Sameshima e Sinclair, 2001a; Sameshima e Sinclair, 2001b). Apesar da sua elevada prevalência, não existe um tratamento eficaz para a prevenção de RRI.

Força ortodôntica pode danificar os tecidos periodontais, levando à formação de áreas de necrose hialina na superfície da raiz (Brudvik e Rygh, 1993b; Faltin et al, 2001; Hellsing e Hammarstrom, 1996, Mavragani et al, 2004). Mediadores inflamatórios liberados pelo tecido periodontal ferido pode recrutar e ativar as células fagocitárias e osteoclastos e a superfície da raiz se torna exposta ao ataque dos mesmos durante a remoção da necrose hialina (Asano et al 2011; Baba et al 2011; Bletsa et al, 2006). Apesar de uma reação inflamatória ser necessária para a remodelação óssea, o aumento ou a prolongação da inflamação periodontal pode levar à destruição extensiva de cemento e da dentina (Asano et al, 2011; Baba et al, 2011; Bletsa et al, 2006).

Vários autores propuseram a utilização de meios físicos e farmacológicos para inibir a inflamação local e activação dos osteoclastos, a fim de evitar a RRI (Choi et al, 2010; Fonseca et al, 2012; Gameiro et al, 2008, Jager et al, 2005, Liu et al, 2012; Sirisoontorn et al, 2012; Talic et al, 2006). A inibição da ativação e adesão de osteoclastos, indução da apoptose de osteoclastos com bifosfonatos e diminuição da reação inflamatória periodontal têm sido mostrado para diminuir RRI em estudos com animais (Choi et al, 2010; Fonseca et al, 2012; Fujimura et al, 2009; Gameiro et al ., 2008; Jager et al, 2005; Kitaura et al, 2009; Talic et al, 2006).

Simvastatina é uma droga usada comercialmente para controle da hipercolesterolemia que atua como um inibidor da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A e tem efeitos pleiotrópicos, incluindo efeitos anti-inflamatórios, imunomoduladores, e anticlastogênicos (Ayukawa et al, 2009; Han et al, 2010; Yamashita et al, 2010). Simvastatina atua sobre as principais vias reguladoras da clastogênese e inflamação, tais como o ativador do receptor nuclear kappa B expressão do fator ligante (RANKL), a activação do factor nuclear kappa B (NFkB) e a via da proteína quinase ativada por mitose (MAPK) (Moon et al, 2011; Yamashita et al, 2010). Os efeitos terapêuticos da simvastatina na inibição dos osteoclastos e a inibição da sinalização inflamatória podem ajudar a prevenir a RRI.

O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da administração de simvastatina em ratos Wistar machos com RRI induzidas pela força mecânica ortodôntica.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos aqui descritos estão em conformidade com os Princípios Éticos da Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) [resolução 592 26/06/1992 do Conselho Federal de Medicina Veterinária e lei n. 9605 (regulamentada pelo Decreto 3179, 21/12/1999)] e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação animal da Universidade Estadual de Londrina (protocolo CEEA 5/2010 37359). Vinte e cinco ratos Wistar machos pesando aproximadamente 300 g cada, foram fornecidos pelo Centro de Recursos Animal da Universidade Estadual de Londrina. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, cinco por gaiola, num ambiente com controle de temperatura (~ 22 ° C) e um ciclo de 12 h de luz-escuridão. Os animais foram alimentados com ração normocalórica de roedores (Nuvilab CR1, Nuvital Nutrientes S / A, Colombo, Brasil) e recipientes com água à vontade. O experimento foi realizado no Laboratório de Histologia da Universidade Estadual de Londrina.

Os animais foram divididos em cinco grupos: grupo controle (Co, n = 05); grupo movimentação ortodôntica RR (RR, n = 05), movimentação ortodôntica tratado com sinvastatina 0,1 mg / kg (RR 0,1, n = 05), movimentação ortodôntica tratado com sinvastatina 0,5 mg / kg (RR 0,5, n = 5) e movimentação ortodôntica tratado com sinvastatina 1,0 mg / kg e (RR 1,0, n = 05). Os animais foram anestesiados com uma solução aquosa de cloridrato de xilazina (0,02 g / kg, Virbaxyl ® 2%, Virbac do Brasil, São Paulo, Brasil), e cloridrato de cetamina (1 g / kg, Francotar ® 10%, Virbac do Brasil, São Paulo, Brasil), e os grupos RR foram submetidos à movimentação dentária experimental com um aparelho ortodôntico retangular inserido no palato (Kobayashi et al., 1999). O aparelho forneceu uma força constante de 40 g e provocou o deslocamento induzido bucal dos primeiros e segundos molares superiores. O aparelho foi mantido em posição durante 7 dias.

A sinvastatina foi diluída em PBS estéril e administrada por injeção via intraperitoneal nos dias 2, 3 e 4, de modo a atingir elevados níveis séricos durante o período ativo da RRI. (Brudvik e Rygh, 1993a; Brudvik e Rygh, 1993b; Brudvik e Rygh, 1994; Mavragani et al, 2004. ). O grupo RR

recebeu um volume igual de PBS. Todos os animais foram sacrificados no 7º dia de experimentação.

Antes do sacrifício, os animais foram anestesiados e amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca para hemograma. Em seguida, foi dada uma dose fatal de solução anestésica, as maxilas foram removidas e imediatamente fixadas em 10% de solução tamponada de formalina durante 24 h. As maxilas foram descalcificadas em 10% de solução de EDTA (pH 7,0) durante 28 dias, e embebido em parafina histológica. As secções histológicas (7 mm) foram corados com hematoxilina e eosina (H & E), coloração Azan-Mallory e coloração resistente ao tartarato da fosfatase ácida (TRAP)(Sigma Aldrich, St. Louis, EUA). As lâminas foram analisadas com um microscópio óptico de acordo com Mavragami et al. 2004 e Winter et al. 2009. Dez lâminas adjacentes de cada animal foram feitas, cobrindo uma distância de 100.7 mm no sentido mesio-distal da raiz mesial-bucal dos primeiros molares superiores. Slides mostram o maior comprimento de raízes foram selecionadas para a análise histológica. Uma imagem de cada slide em uma ampliação de 40x foi usada para analisar o comprimento da superfície radicular e detectar lacunas reabsorção radicular. O perímetro da superfície da raiz no lado de compressão (a partir da junção cimento ao ápice) foi medido e o número médio de reabsorção radicular lacunas foram registados (n/10.4 uM de superfície da raiz). O número de osteoclastos à superfície da raiz ou de reabsorção lacunas (cells/10.4 uM de superfície da raiz) foi também registado em lâminas coradas TRAP.

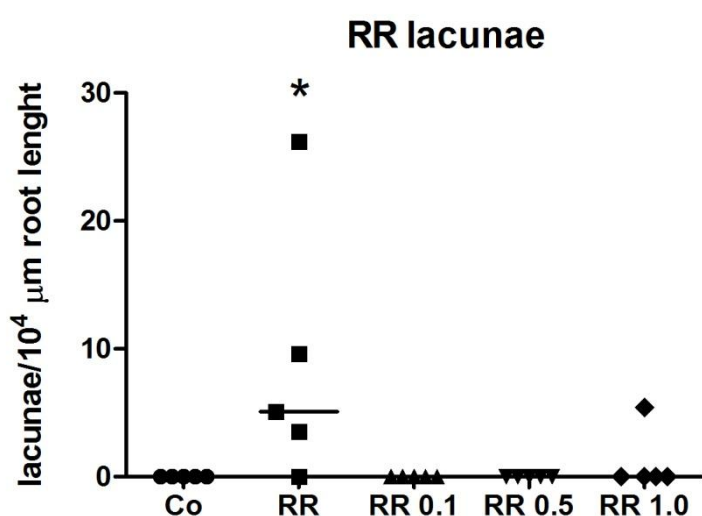
De cada lâmina, dez imagens de ampliação 400x do ligamento periodontal foram capturadas para determinar o número de células inflamatórias e de fibroblastos (cells/10<sup>2</sup> um<sup>2</sup>) e capilares sanguíneos (v/10<sup>3</sup> um<sup>2</sup>). Infiltrado inflamatório inclui principalmente as células polimorfonucleares (neutrófilos e eosinófilos) e células mononucleares (macrófagos e linfócitos), como no Fonseca et al. (2012). As imagens foram feitas com uma câmera Moticam acoplado a um microscópio de luz (Motic, Xiamen, China) e analisados com Motic Image Plus software 2.0 (Motic, Xiamen, China).

Análise hematológica foi realizada em um analisador de hematologia automático (BC 2800 veterinária, Mindray Medical, Nanshan, China).

A normalidade de distribuição dos dados foi analisada com o teste de Kolmogorov-Smirnov. A comparação entre os grupos foi realizada com ANOVA seguida pelo teste de Tukey (dados paramétricos) ou teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn (não paramétrico dados). As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

### 2.3 RESULTADOS

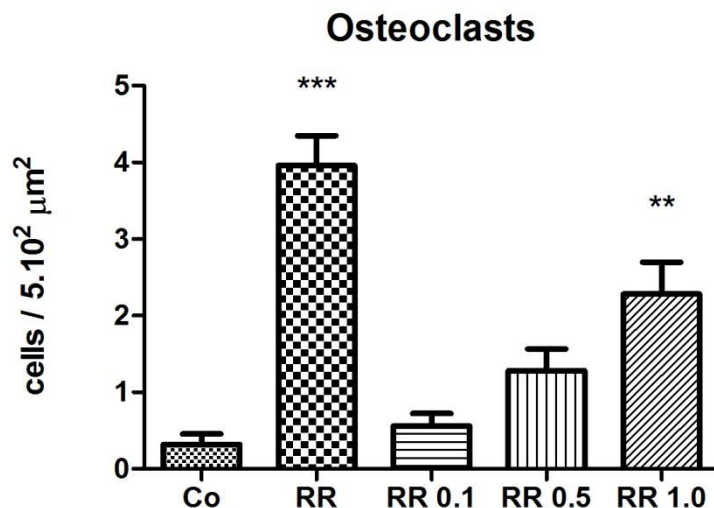
A análise morfométrica das superfícies radiculares mostrou que o grupo RR apresentou mais lacunas de reabsorção do que o grupo controle (Figura 1). No entanto, o tratamento com sinvastatina diminuiu o número de lacunas de reabsorção em todas as doses usadas. Nenhuma lacuna de reabsorção foi observada nos grupos Co, RR 0,1 ou RR 0,5, apenas um rato do grupo RR 1,0 apresentou lacunas de reabsorção (Figura 1).



Fonte: Higashi D.T. (2012)

**Figura1** - O número de lacunas de reabsorção radicular observadas em ratos Wistar submetidos à força mecânica ortodôntica. Animais do grupo Co não receberam força ortodôntica; RR animais foram submetidos a tratamento ortodôntico de força e PBS; RR 0,1, 0,5 e RR RR 1,0 grupos foram tratados com sinvastatina 0,1, 0,5 e 1,0 mg / kg nos dias 2, 3 e 4. \* P <0,01 em relação a outros grupos, teste de Dunn.

O número de osteoclastos apresentou aumento significativamente maior nos grupos RR e RR 1,0, em relação ao grupo controle (Figura 2). O tratamento com sinvastatina a 0,1 e 0,5 mg pareceu inibir os ataques de osteoclastos na superfície da raiz, não observamos lacunas de reabsorção nestes grupos.

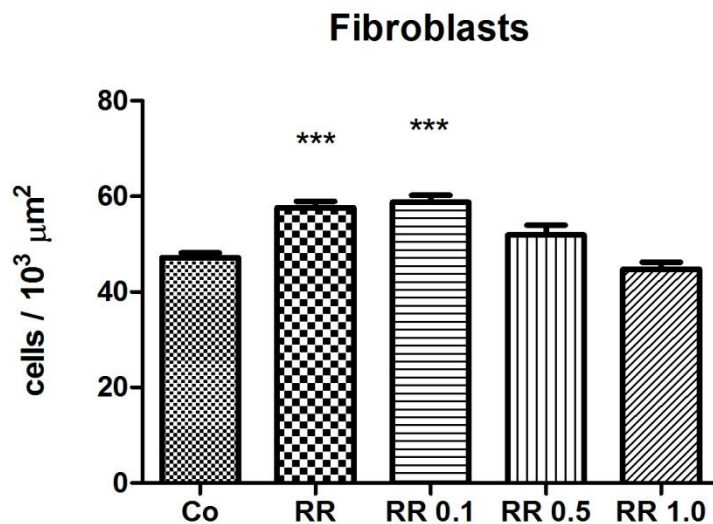


Fonte: Higashi D.T. (2012)

**Figura 2** - Número de osteoclastos na superfície radicular de ratos Wistar submetidos à força mecânica ortodôntica. Animais do grupo Co não foram submetidos a movimentação ortodôntica; RR animais foram submetidos a movimentação ortodôntica e tratamento com PBS; Grupos RR 0,1, RR 0,5 e RR 1,0 foram tratados com sinvastatina à 0,1, 0,5 e 1,0 mg / kg nos dias 2, 3 e 4 de experimentação. Os dados foram expressos com média e erro padrão. \*\* P <0,01 em relação ao grupo de controle, \*\*\* P <0,005 em relação ao grupo de controle, teste de Tukey.

Foi feita análise da cicatrização periodontal em relação ao número de fibroblastos, a densidade das fibras de colágeno e pequenos vasos sanguíneos e capilares também foi analisada. O número de fibroblastos foi significativamente maior nos grupos RR e RR 0,1 em relação aos grupos Co e RR 1,0 (Figura 3).

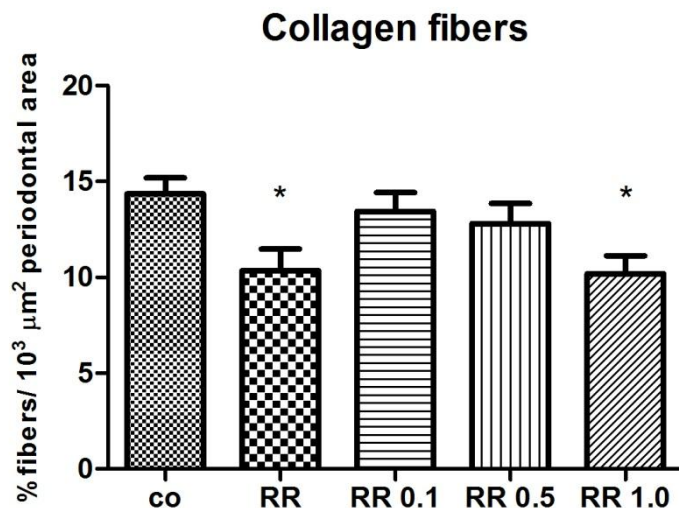




Fonte: Higashi D.T. (2012)

**Figura 3** - Número de fibroblastos por área do ligamento periodontal de ratos Wistar submetidos à movimentação ortodôntica. Co animais não receberam movimentação ortodôntica; RR animais foram submetidos a movimentação ortodôntica e PBS; Grupos RR 0,1, RR 0,5 e RR 1,0 foram tratados com sinvastatina 0,1, 0,5 e 1,0 mg / kg nos dias 2, 3 e 4. Os dados foram expressos como média e erro padrão. \*\*\* P <0,005 em relação ao grupo controle e grupo RR 1,0, teste de Tukey.

O percentual da área ocupada pelas fibras colágenas do tecido periodontal em cada campo (10<sup>3</sup> μm<sup>2</sup>) foi estudado como um parâmetro de densidade de colágeno. A análise mostrou que a densidade do colágeno se apresentou reduzida nos grupos RR e RR 1,0 em comparação com o grupo de controle. Nenhuma significância foi observada nos grupos RR 0,1 e RR 0,5 com relação ao grupo Co, grupos RR 0,1 ou RR 1,0 (Figura 4).

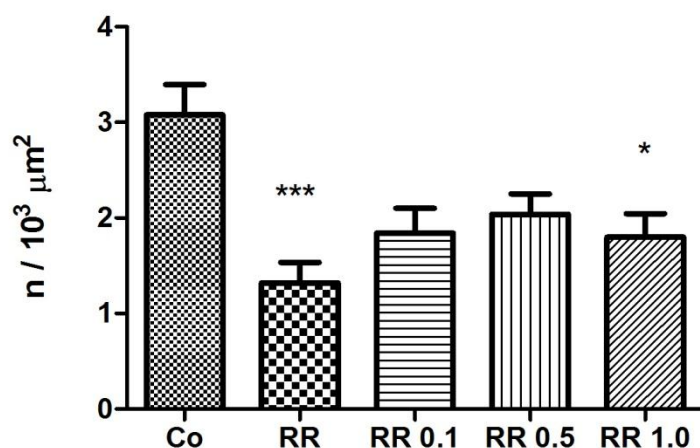


Fonte: Higashi D.T. (2012)

**Figura 4** - Porcentagem de área ocupada por fibras colágenas no ligamento periodontal de ratos Wistar submetidos a movimentação ortodôntica induzida. Grupo Co animais não receberam movimentação ortodôntica; RR animais foram submetidos a movimentação ortodôntica e PBS; Grupos RR 0,1, RR 0,5 e RR 1,0 foram tratados com sinvastatina 0,1, 0,5 e 1,0 mg / kg nos dias 2, 3 e 4. Os dados foram expressos como média e erro padrão. \* P <0,05 em relação ao grupo controle, teste de Tukey.

O número de vasos sanguíneos e capilares teve diminuição significativa em relação aos grupos RR e RR 1,0, ao passo que RR 0,5 e RR 0,1 apresentaram uma leve redução (não significativa) em comparação com o grupo controle (Figura 5).

### Blood vessels and capillaries

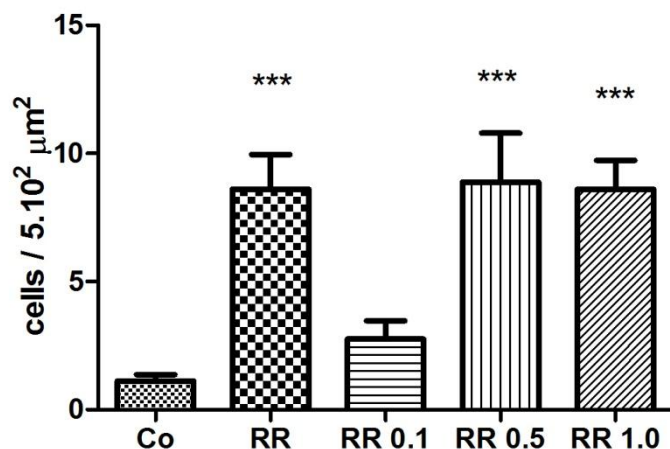


Fonte: Higashi D.T. (2012)

**Figura 5** - Número de vasos sanguíneos e capilares por área do ligamento periodontal de ratos Wistar submetidos à movimentação ortodôntica induzida. Grupo Co animais não sofreram movimentação ortodôntica induzida; Grupo RR animais foram submetidos a movimentação ortodôntica induzida e PBS; Grupos RR 0,1, RR 0,5 e RR 1,0 sofreram movimentação ortodôntica induzida e foram tratados com sinvastatina 0,1, 0,5 e 1,0 mg / kg nos dias 2, 3 e 4. Os dados foram expressos como média e erro padrão. \* P <0,05 e \*\*\* P <0,005 em relação ao grupo controle, teste de Tukey.

Muitos estudos apontam a capacidade da sinvastatina poder inibir a migração de leucócitos, avaliamos também a infiltração de células inflamatórias locais e parâmetros hematológicos. Foram observadas mais células inflamatórias nos grupos RR, RR 0,5 e RR 1,0 do que no grupo de controle. Apenas a dose de 0,1 mg / kg reduziu significativamente a infiltração de leucócitos nos tecidos periodontais (Figura 6).

### Inflammatory cell infiltration



Fonte: Higashi D.T. (2012)

**Figura 6** - Infiltração de células inflamatórias no ligamento periodontal de ratos Wistar submetidos à movimentação ortodôntica induzida. Grupo Co animais não sofreram movimentação ortodôntica induzida; Grupo RR animais foram submetidos a movimentação ortodôntica induzida e PBS; Grupos RR 0,1, RR 0,5 e RR 1,0 sofreram movimentação ortodôntica induzida e foram tratados com sinvastatina 0,1, 0,5 e 1,0 mg / kg nos dias 2, 3 e 4. Os dados foram expressos como média e erro padrão. \*\*\* P <0,005 em relação ao grupo controle e grupo RR 0,1, teste de Tukey.

A análise hematológica não revelou diferenças significativas nas contagens de leucócitos (Tabela 1).

**Tabela 1** - Contagem de leucócitos (cell/ $\mu\text{l}^3$ ) no grupo controle (Co) e grupos submetidos à movimentação dentária (RR) e movimento dentário tratado com sinvastatina 0.1mg/Kg (RR 0,1), 0,5 mg / kg (RR 0,5) e 1,0 mg / kg (RR 1,0).

	Co	RR	RR 0.1	RR 0.5	RR 1.0
Leucócitos	6662 $\pm$ 1532	12460 $\pm$ 7767	8710 $\pm$ 4858	11440 $\pm$ 1439	10700 $\pm$ 6578
Neutrófilos	3179 $\pm$ 1527	4525 $\pm$ 4018	2084 $\pm$ 1726	3398 $\pm$ 1036	5170 $\pm$ 3720
Linfócitos	3335 $\pm$ 559.6	7516 $\pm$ 3790	6299 $\pm$ 3551	7602 $\pm$ 1666	5257 $\pm$ 2350
Monocitos	-	158.2 $\pm$ 136.4	179.3 $\pm$ 105.8	290.2 $\pm$ 278.5	250.8 $\pm$ 233.4

Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

## 2.3 DISCUSSÃO

RRI é um efeito indesejável altamente prevalente do tratamento ortodôntico, e é muito difícil de prevenir a doença, uma vez que pode estar associada com a susceptibilidade individual (Apajalahti e Peltola, 2007, Hartsfield et al, 2004, Ramos et al, 2011; Sameshima e Sinclair, 2001a; Sameshima e Sinclair, 2001b). É necessário investigar novas abordagens terapêuticas para a prevenção da destruição da raiz. O presente estudo mostrou que uma dose baixa de sinvastatina diminui a atividade de reabsorção por osteoclastos sobre a superfície da raiz e melhora a regeneração periodontal. Além disso, a sinvastatina em doses baixas não alterou o número de leucócitos circulantes, que também foi observado por outros autores (Xavier et al., 2012). Curiosamente, a sinvastatina em 1,0 mg / kg parecia não ter efeitos benéficos sobre a RRI ou reparação periodontal.

A sinvastatina tem efeitos potentes na remodelação óssea, promovendo a proliferação dos osteoblastos e inibindo a diferenciação e ativação de osteoclastos (Ahn et al, 2008;. Ayukawa et al, 2009; Han et al, 2010). O medicamento é um inibidor de RANKL e um agente antioxidante em cultura de células, prevenindo a diferenciação dos osteoclastos, (Ahn et al, 2008, Ayukawa et al, 2009, Moon et al, 2011). A sinvastatina atua sobre a via MAPK a cascata RANKL, sinalizando moléculas de p38 MAPK, JNK e ERK (Moon et al., 2011). Estas vias de sinalização são reguladores chave de ambas diferenciação de osteoclastos e ativação de células inflamatórias (Ahn et al, 2008; Kirkwood e Rossa, 2009). Este efeito terapêutico da sinvastatina pode ajudar a prevenir RRI e modular a reação inflamatória provocada pela movimentação ortodôntica. Embora a reação inflamatória inicial e a clastogênese sejam necessárias para permitir o deslocamento dentário, a exacerbação e progressão da inflamação local é a responsável pela reabsorção final do dente. Segmentação de vias inflamatórias com imunomoduladores deve ocorrer em pontos específicos com tempo determinado, a fim de não interromper o deslocamento do dente e com uma dosagem apropriada para evitar efeitos secundários indesejáveis.

Baixas concentrações de sinvastatina foram estudadas para estimular a diferenciação de células mesênquimais em osteoblastos

periodontais (Yazawa et al., 2005). Os efeitos sobre a diferenciação dos osteoblastos são dose dependentes, em doses baixas de simvastatina (0,1 mg) houve significativa melhora na reparação óssea, enquanto que doses elevadas (2,5 e 5,0 mg) aumentam significativamente a inflamação do tecido macio em torno dos enxertos ósseos (Nyan et al., 2009) . No presente estudo, a dose mais baixa (0,1 mg) eficientemente impediu a RRI, diminuiu a infiltração inflamatória e não alterou a reparação periodontal.

Sinvastatina tem um efeito antiproliferativo dose dependente que inibe a síntese de colágeno do tipo I (Schaafsma et al., 2011). In vitro, as doses elevadas de sinvastatina inibiram a expressão de colágeno do tipo I e fibronectina por fibroblastos das paredes das vias aéreas (Schaafsma et al., 2011). Os resultados também mostraram que a síntese de colágeno foi prejudicada quando os animais foram tratados com a dose mais elevada de sinvastatina (1.0mg/kg), uma vez que a densidade reduzida de fibras de colágeno foi encontrada no ligamento periodontal. Outros estudos têm mostrado experimentalmente a inibição dose dependente da sinvastatina sobre fibrose devido à apoptose em vivo de fibroblastos (Abe et al, 2012;. Copaja et al, 2012; Copaja et al, 2011). Fibroblastos gengivais apresentaram diminuição da migração de células quando cultivadas na presença de sinvastatina, o que sugere que o fármaco pode prejudicar a cicatrização periodontal (Caceres et al., 2011). Esses resultados concordam com os achados de redução do número de fibras de colágeno e fibroblastos periodontais nos grupos RR 0,5 e RR 1,0 grupos.

Quanto aos capilares no ligamento periodontal, encontramos significativamente menos vasos sanguíneos no grupo de alta dose. De fato, a sinvastatina tem tanto efeitos pró ou anti-angiogênicos de acordo com a condição do tecido (isto é, o ambiente inflamatório, hipóxia ou normalidade) e a concentração de fármaco (Massaro et al, 2010, Zhu et al, 2008). Angiogênese é um fenômeno importante durante a transição a partir do processo de reparação periodontal da RRI após força ortodôntica aplicada (Brudvik e Rygh, 1995a; Brudvik e Rygh, 1995b; Faltin et al, 2001,Fonseca et al, 2012). No nosso estudo, o tratamento com sinvastatina não mostrou efeitos benéficos sobre a indução da angiogênese.

Por fim, a sinvastatina tem efeitos imunomoduladores que permanecem até 21 dias após o tratamento crônico (Xavier et al., 2012). A droga pode inibir a adesão de leucócitos e a migração para sítios inflamatórios, resultando em aumento da leucocitose (Maher et al, 2009;. Pozo et al, 2006, Xavier et al, 2012). No nosso estudo, não foi observado alteração significativa nos leucócitos circulantes, embora algumas células inflamatórias terem sido observadas no ligamento periodontal do grupo RR 0,1. Estes resultados sugerem que doses baixas de sinvastatina diminuem a inflamação local, sem promover efeitos sistêmicos significativos sobre a migração de leucócitos. Um recente estudo experimental demonstrou potentes efeitos anti-inflamatórios da aplicação tópica de doses baixas de sinvastatina (Bracht et al., 2011). Estes achados realçam a aplicabilidade das estatinas como agentes locais anti-inflamatórios que não têm de ser administrados sistemicamente.



#### **4 CONCLUSÃO**

Em conclusão, nossos resultados sugerem que baixas doses de sinvastatina pode ser útil para se evitar RRI causada por movimentação ortodôntica. Além disso seus efeitos sobre o controle da inflamação local podem ser usados para testes em outros experimentos relacionados como controle da inflamação periodontal causada periodontite crônica. A aplicabilidade clínica deverá ser realizada somente após testes que comprovem sua segurança para uso em seres humanos.

## 5 REFERÊNCIAS

Abe Y, Murano M, Murano N, Morita E, Inoue T, Kawakami K, Ishida K, Kuramoto T, Kakimoto K, Okada T, *et al.* 2012 **Simvastatin attenuates intestinal fibrosis independent of the anti-inflammatory effect by promoting fibroblast/myofibroblast apoptosis in the regeneration/healing process from TNBS-induced colitis.** Digestive Diseases Sciences 57: 335-344

Ahn KS, Sethi G, Chaturvedi MM, Aggarwal BB 2008 **Simvastatin, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, suppresses osteoclastogenesis induced by receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand through modulation of NF-kappaB pathway.** International Journal of Cancer 123: 1733-1740

Apajalahti S, Peltola JS 2007 **Apical root resorption after orthodontic treatment -- a retrospective study.** European Journal of Orthodontics 29: 408-412

Artun J, Van 't Hullenaar R, Doppel D, Kuijpers-Jagtman AM 2009 **Identification of orthodontic patients at risk of severe apical root resorption.** American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics 135: 448-455

Asano M, Yamaguchi M, Nakajima R, Fujita S, Utsunomiya T, Yamamoto H, Kasai K 2011 **IL-8 and MCP-1 induced by excessive orthodontic force mediates odontoclastogenesis in periodontal tissues.** Oral Diseases 17: 489-498

Ayukawa Y, Yasukawa E, Moriyama Y, Ogino Y, Wada H, Atsuta I, Koyano K 2009 **Local application of statin promotes bone repair through the suppression of osteoclasts and the enhancement of osteoblasts at bone-healing sites in rats.** Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics 107: 336-342

Baba S, Kuroda N, Arai C, Nakamura Y, Sato T 2011 **Immunocompetent cells and cytokine expression in the rat periodontal ligament at the initial stage of orthodontic tooth movement.** Archives of Oral Biology 56: 466-473

Bletsa A, Berggreen E, Brudvik P 2006 **Interleukin-1alpha and tumor necrosis factor-alpha expression during the early phases of orthodontic tooth movement in rats**. *European Journal of Oral Sciences* 114: 423-429

Bracht L, Caparroz-Assef SM, Magon TF, Ritter AM, Cuman RK, Bersani-Amado CA 2011 **Topical anti-inflammatory effect of hypocholesterolaemic drugs**. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 63: 971-975

Brudvik P, Rygh P 1993a **The initial phase of orthodontic root resorption incident to local compression of the periodontal ligament**. *European Journal of Orthodontics* 15: 249-263

Brudvik P, Rygh P 1993b **Non-clast cells start orthodontic root resorption in the periphery of hyalinized zones**. *European Journal of Orthodontics* 15: 467-480

Brudvik P, Rygh P 1994 **Multi-nucleated cells remove the main hyalinized tissue and start resorption of adjacent root surfaces**. *European Journal of Orthodontics* 16: 265-273

Brudvik P, Rygh P 1995a **The repair of orthodontic root resorption: an ultrastructural study**. *European Journal of Orthodontics* 17: 189-198

Brudvik P, Rygh P 1995b **Transition and determinants of orthodontic root resorption-repair sequence**. *European Journal of Orthodontics* 17: 177-188

Caceres M, Romero A, Copaja M, Diaz-Araya G, Martinez J, Smith PC 2011 **Simvastatin alters fibroblastic cell responses involved in tissue repair**. *Journal of Periodontal Research* 46: 456-463

Cheng LL, Turk T, Elekdag-Turk S, Jones AS, Petocz P, Darendeliler MA 2009 **Physical properties of root cementum: Part 13. Repair of root resorption 4 and 8 weeks after the application of continuous light and heavy forces for 4 weeks: a microcomputed-tomography study**. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 136: 320 e321-310; discussion 320-321

Choi J, Baek SH, Lee JI, Chang YI 2010 **Effects of clodronate on early alveolar bone remodeling and root resorption related to orthodontic forces: a histomorphometric analysis.** American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics 138: 548-549; discussion 548-549

Copaja M, Venegas D, Aranguiz P, Canales J, Vivar R, Avalos Y, Garcia L, Chiong M, Olmedo I, Catalan M, *et al.* 2012 **Simvastatin disrupts cytoskeleton and decreases cardiac fibroblast adhesion, migration and viability.** Toxicology 294: 42-49

Copaja M, Venegas D, Aranguiz P, Canales J, Vivar R, Catalan M, Olmedo I, Rodriguez AE, Chiong M, Leyton L, *et al.* 2011 **Simvastatin induces apoptosis by a Rho-dependent mechanism in cultured cardiac fibroblasts and myofibroblasts.** Toxicology and Applied Pharmacology 255: 57-64

Faltin RM, Faltin K, Sander FG, Arana-Chavez VE 2001 **Ultrastructure of cementum and periodontal ligament after continuous intrusion in humans: a transmission electron microscopy study.** European Journal of Orthodontics 23: 35-49

Fonseca PD, de Lima FM, Higashi DT, Koyama DF, de Oliveira Togninho Filho D, Dias IF, de Paula Ramos S 2012 **Effects of light emitting diode (LED) therapy at 940 nm on inflammatory root resorption in rats.** Lasers in Medical Sciences. In press.

Fujimura Y, Kitaura H, Yoshimatsu M, Eguchi T, Kohara H, Morita Y, Yoshida N 2009 **Influence of bisphosphonates on orthodontic tooth movement in mice.** European Journal of Orthodontics 31: 572-577

Gameiro GH, Nouer DF, Pereira-Neto JS, de Araujo Magnani MB, de Andrade ED, Novaes PD, de Arruda Veiga MC 2008 **Histological analysis of orthodontic root resorption in rats treated with the cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor celecoxib.** Orthodontics and Craniofacial Research 11: 156-161

Han G, Chen Y, Hou J, Liu C, Chen C, Zhuang J, Meng W 2010 **Effects of simvastatin on relapse and remodeling of periodontal tissues after tooth movement in rats.**

American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics 138: 550 e551-557;  
discussion 550-551

Hartsfield JK, Jr., Everett ET, Al-Qawasmi RA 2004 **Genetic Factors in External Apical Root Resorption and Orthodontic Treatment**. Critical Reviews in Oral Biology and Medicine 15: 115-122

Hellsing E, Hammarstrom L 1996 **The hyaline zone and associated root surface changes in experimental orthodontics in rats: a light and scanning electron microscope study**. European Journal of Orthodontics 18: 11-18

Jager A, Zhang D, Kawarizadeh A, Tolba R, Braumann B, Lossdorfer S, Gotz W 2005 **Soluble cytokine receptor treatment in experimental orthodontic tooth movement in the rat**. European Journal of Orthodontics 27: 1-11

Kirkwood KL, Rossa C, Jr. 2009 **The potential of p38 MAPK inhibitors to modulate periodontal infections**. Current Drug Metabolism 10: 55-67

Kitaura H, Fujimura Y, Yoshimatsu M, Eguchi T, Kohara H, Jang I, Morita Y, Yoshida N 2009 **An M-CSF receptor c-Fms antibody inhibits mechanical stress-induced root resorption during orthodontic tooth movement in mice**. Angle Orthodontist 79: 835-841

Kobayashi ET, Hashimoto F, Kobayashi Y, Sakai E, Miyazaki Y, Kamiya T, Kobayashi K, Kato Y, Sakai H 1999 **Force-induced rapid changes in cell fate at midpalatal suture cartilage of growing rats**. Journal of Dental Research 78: 1495-1504

Linge L, Linge BO 1991 **Patient characteristics and treatment variables associated with apical root resorption during orthodontic treatment**. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics 99: 35-43

Liu Z, Xu J, E L, Wang D 2012 **Ultrasound enhances the healing of orthodontically induced root resorption in rats**. Angle Orthodontist 82: 48-55

Lund H, Grondahl K, Hansen K, Grondahl HG 2012 **Apical root resorption during orthodontic treatment. A prospective study using cone beam CT.** Angle Orthodontist 82: 480-487

Maher BM, Dhonnchu TN, Burke JP, Soo A, Wood AE, Watson RW 2009 **Statins alter neutrophil migration by modulating cellular Rho activity--a potential mechanism for statins-mediated pleotropic effects?** Journal of Leukocyte Biology 85: 186-193

Massaro M, Zampolli A, Scoditti E, Carluccio MA, Storelli C, Distante A, De Caterina R 2010 **Statins inhibit cyclooxygenase-2 and matrix metalloproteinase-9 in human endothelial cells: anti-angiogenic actions possibly contributing to plaque stability.** Cardiovascular Research 86: 311-320

Mavragani M, Amundsen OC, Selliseth NJ, Brudvik P, Selvig KA 2004 **Early root alterations after orthodontic force application studied by light and scanning electron microscopy.** European Journal of Orthodontics 26: 119-128

Mohandesan H, Ravanmehr H, Valaei N 2007 **A radiographic analysis of external apical root resorption of maxillary incisors during active orthodontic treatment.** European Journal of Orthodontics 29: 134-139

Moon HJ, Kim SE, Yun YP, Hwang YS, Bang JB, Park JH, Kwon IK 2011 **Simvastatin inhibits osteoclast differentiation by scavenging reactive oxygen species.** Experimental and Molecular Medicine 43: 605-612

Motokawa M, Sasamoto T, Kaku M, Kawata T, Matsuda Y, Terao A, Tanne K 2012 **Association between root resorption incident to orthodontic treatment and treatment factors.** European Journal of Orthodontics 34: 350-356

Nyan M, Sato D, Kihara H, Machida T, Ohya K, Kasugai S 2009 **Effects of the combination with alpha-tricalcium phosphate and simvastatin on bone regeneration.** Clinical Oral Implants Res 20: 280-287

Pozo M, de Nicolas R, Egido J, Gonzalez-Cabrero J 2006 **Simvastatin inhibits the migration and adhesion of monocytic cells and disorganizes the cytoskeleton of activated endothelial cells.** European Journal of Pharmacology 548: 53-63

Ramanathan C, Hofman Z 2009 **Root resorption during orthodontic tooth movements.** European Journal of Orthodontics 31: 578-583

Ramos SdP, Ortolan GO, Dos Santos LM, Tobouti PL, Hidalgo MM, Consolaro A, Itano EN 2011 **Anti-dentine antibodies with root resorption during orthodontic treatment.** European Journal of Orthodontics 33: 584-591

Sameshima GT, Sinclair PM 2001a **Predicting and preventing root resorption: Part I. Diagnostic factors.** American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics 119: 505-510

Sameshima GT, Sinclair PM 2001b **Predicting and preventing root resorption: Part II. Treatment factors.** American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics 119: 511-515

Schaafsma D, McNeill KD, Mutawe MM, Ghavami S, Unruh H, Jacques E, Laviolette M, Chakir J, Halayko AJ 2011 **Simvastatin inhibits TGFbeta1-induced fibronectin in human airway fibroblasts.** Respiratory Research 12: 113

Sirisoontorn I, Hotokezaka H, Hashimoto M, Gonzales C, Luppapanornlarp S, Darendeliler MA, Yoshida N 2012 **Orthodontic tooth movement and root resorption in ovariectomized rats treated by systemic administration of zoledronic acid.** American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics 141: 563-573

Talic NF, Evans C, Zaki AM 2006 **Inhibition of orthodontically induced root resorption with echistatin, an RGD-containing peptide.** American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics 129: 252-260

Xavier AM, Serafim KG, Higashi DT, Vanat N, Flaiban KK, Siqueira CP, Venancio EJ, Ramos Sde P 2012 **Simvastatin improves morphological and functional recovery of sciatic nerve injury in Wistar rats.** *Injury* 43: 284-289

Yamashita M, Otsuka F, Mukai T, Yamanaka R, Otani H, Matsumoto Y, Nakamura E, Takano M, Sada KE, Makino H 2010 **Simvastatin inhibits osteoclast differentiation induced by bone morphogenetic protein-2 and RANKL through regulating MAPK, AKT and Src signaling.** *Regulatory Peptides* 162: 99-108

Yazawa H, Zimmermann B, Asami Y, Bernimoulin JP 2005 **Simvastatin promotes cell metabolism, proliferation, and osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells.** *Journal of Periodontology* 76: 295-302

Zhu XY, Daghini E, Chade AR, Lavi R, Napoli C, Lerman A, Lerman LO 2008 **Disparate effects of simvastatin on angiogenesis during hypoxia and inflammation.** *Life Sciences* 83: 801-809