


ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE RECEPTOR DE VITAMINA D COM REABSORÇÃO RADICULAR APICAL EXTERNA EM PACIENTES TRATADOS ORTODONTICAMENTE

 <https://doi.org/10.56238/arev6n3-204>

Data de submissão: 15/10/2024

Data de publicação: 15/11/2024

Gabriela Paschoalini Romagni

Discente do PPG em Odontologia
UNIDERP

E-mail: gabriela-odontologia@hotmail.com

ORCID: 0000-0002-4207-0037

Mayara Delfino Sentone Rossato

Discente do PPG em Odontologia
UNIDERP

E-mail: mayara_sentone@hotmail.com

ORCID: 0000-0003-1566-7716

Regina Célia Poli

Docente do PPG em Odontologia
UNIDERP

E-mail: regina.frederico@unopar.br

ORCID: 0000-0003-4631-4606

RESUMO

O receptor de vitamina D influencia as respostas imunológicas do hospedeiro e aspectos do desenvolvimento ósseo, crescimento, e homeostase. O objetivo deste estudo foi investigar a associação do polimorfismo do gene do receptor de vitamina D TaqI com Reabsorção radicular apical externa durante o tratamento ortodôntico. Métodos: Nossa amostra foi constituída por 50 pacientes com idade entre 12 e 40 anos, que receberam tratamento ortodôntico total fixo durante os anos de 1999 e 2000. Reabsorção radicular apical externa (RRAE) dos incisivos superiores foi avaliada em radiografias periapicais tiradas antes e após 6 meses de tratamento. Após a coleta e purificação do DNA, a análise do polimorfismo TaqI do receptor de vitamina D foi realizada por reação em cadeia da polimerase seguida de polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição. Análises univariadas e multivariadas foram realizados para verificar a associação de variáveis clínicas e genéticas com a reabsorção radicular apical externa ($P < 0,05$). Houve correlação entre as variáveis VDR e RRAE ($r = 0,306$ e $p = 0,030$). O genótipo resultante da clivagem da TaqI e as frequências alélicas diferiram entre os grupos com e sem RRAE. Indivíduos contendo o alelo T apresentaram uma maior probabilidade de desenvolver a RRAE quando comparados com indivíduos portando o genótipo tt (OR = 7.5; 95% IC = 1,8 – 31,4; $p = 0,0094$). O polimorfismo TaqI do gene receptor de vitamina D foi associado à reabsorção radicular apical externa em pacientes tratados ortodonticamente.

Palavras-chave: Reabsorção Radicular Apical Externa. Polimorfismo Genético. VDR. Ortodontia.

1 INTRODUÇÃO

A ortodontia é a especialidade da odontologia que se caracteriza pela movimentação dos dentes para uma correta posição nos arcos dentários. Ao aplicar uma força no dente cria-se no lado de pressão um estreitamento do ligamento periodontal e ação compressiva idêntica sobre os seus limites, isto é, a superfície radicular e óssea. Como o cemento é mais resistente à reabsorção quando comparado ao osso mais vulnerável, as forças aplicadas geralmente induzem reabsorção óssea, o dente movimenta e a membrana periodontal volta a sua dimensão original. Entretanto, a reabsorção de cemento e dentina também podem ocorrer (BREZNIAK e WASSERSTEIN, 1993; CAPELOZZA FILHO e SILVA FILHO, 1998). A RRAE (reabsorção radicular periapical externa) acomete principalmente os incisivos centrais superiores, e pode ocorrer em 2 a 5% da população (TAITHONGCHAI et al., 1996; KILLIANY, 1999; HARTSFIELD JR et al., 2004).

A RRAE é uma condição associada tanto a processos fisiológicos quanto patológicos, resultando em uma perda de dentina, cemento ou osso (NE et al., 1999). É considerado um processo normal, essencial e fisiológico quando ocorre nos dentes decíduos para permitir a esfoliação dos mesmos e facilitar o irrompimento do sucessor permanente (BREZNIAK e WASSERSTEIN, 1993).

Fatores genéticos, fisiológicos e anatômicos podem estar envolvidos na etiopatogenia da RRAE (CAPELOZZA FILHO & SILVA FILHO, 1998). Segundo GRABER & VANARSDALL (1996), a etiologia da reabsorção radicular durante o tratamento ortodôntico é complexa e alguns fatores isolados ou em associação podem contribuir para o desenvolvimento, tais como idade do paciente, tipo de aparelho ortodôntico, duração de força, direção do movimento dentário e vulnerabilidade dentária.

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

Consolaro (2005) estabeleceu critérios para a classificação das reabsorções dentárias patológicas como: superfície dentária afetada (interna, externa e interna-externa), fase de evolução do processo (ativa, paralisada e reparada), região dentária afetada (coronária, cervical, radicular lateral e apical) e extensão do comprometimento da raiz (simples e múltiplas), dimensão da causa do processo (local, sistêmica e idiopática) e mecanismo de ocorrência do processo (inflamatória e por substituição). MALMGREN et al. (1982) classificaram as reabsorções radiculares apicais associadas ao movimento dentário ortodôntico em quatro graus.

Enquanto alguns graus de reabsorção radicular ocorrem em quase todos os pacientes (DESHIELDS, 1969), 93% dos adolescentes tratados demonstraram alguma forma de reabsorção radicular (KUROL, OWMAN-MOLL, LUDGREN, 1996). Aproximadamente 15% (12-17% dos pacientes tratados ortodônticamente) mostraram reabsorção radicular apical moderada à severa (LINGE e LINGE, 1991) e 10-20% dos casos relataram reabsorção severa de >3 mm (LEVANDER e MALMGREN, 1988; LEVANDER et al., 1994). Contudo na maioria dos pacientes, a reabsorção radicular é menor e insignificante (LEVANDER e MALMGREN, 1988).

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

NEWMAN (1975) foi o primeiro pesquisador a relacionar características de hereditariedade com a reabsorção radicular. Foram investigados os seguintes fatores: as influências genéticas em familiares, as causas sistêmicas, o tipo de má oclusão, historia pregressa médica e dentária e foram relacionados com a reabsorção radicular. Este autor considerou como causa de maior reabsorção de dentes com raízes curtas, após tratamento ortodôntico, um potencial genético, embora o padrão de herança não estivesse claro.

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

O receptor de vitamina D é uma proteína pertencente à superfamília de fatores reguladores transcricionais de ação trans, composta pelos receptores de esteróides e de hormônio da tireóide (BAKER et al., 1988; HANNAH & NORMAN., 1994). Para exercer seus efeitos, a vitamina D é convertida em sua forma ativa, a 1,25 dihidroxivitamina D3 [1,25 (OH)₂D₃] ou calcitriol. A ação do calcitriol, por sua vez, se dá por meio de um receptor nuclear específico, o VDR (HAUSSLER et al., 1998; ERBEN, 2001), o qual regula a transcrição gênica pela ligação aos elementos responsivos de

vitamina D na região promotora dos genes alvos (HANNAH & NORMAN., 1994; HAUSSLER et al., 1998; JONES et al., 1998; OZISIK et al., 2001; ERBEN, 2001).

2 METODOLOGIA

A amostra foi submetida à apreciação pelo Comitê de Ética da UNOPAR, obtendo-se parecer favorável a realização do mesmo. Foi desenvolvido um estudo transversal, com 50 participantes do estudo entre 12 e 40 anos de idade, que receberam tratamento ortodôntico total fixo durante os anos de 1999 e 2000.

O DNA foi obtido de células epiteliais da mucosa bucal por meio de um bochecho com glicose a 3% por um minuto. Esta solução foi centrifugada por 2 min. a 2000 rpm, o sobrenadante descartado e as células foram ressuspensas em 500 µl da solução de extração TNE (AIDAR E LINE, 2007).

A extração do DNA foi feita utilizando-se o kit de extração de DNA seguindo orientações dos fabricantes. Os DNA's extraídos foram armazenados adequadamente para posterior análise do polimorfismo.

Para a amplificação pela reação em cadeia da polimerase (PCR) do gene do VDR foram utilizados os seguintes iniciadores descritos por HENNING et al. (1999):

- a) Forward 5'- CAG AGC ATG GAC AGG GAG CAA G-3'
- b) Reverse 5'- GGA TGT ACG TCT GCA GTG TG-3'

A mistura da PCR constituiu em um volume total de 50µl, contendo aproximadamente 500ng de DNA genômico, 1µM de cada primer, 200µM de dNTPs e duas unidades de Taq DNA polimerase. As soluções foram incubadas em um termociclador Multi-Gene. As condições de amplificação foram de um ciclo a 95oC por dois minutos de desnaturação inicial, 35 ciclos de amplificação consistindo em cada ciclo por 45s a 95°C (desnaturação), um minuto a 63°C (pareamento dos iniciadores) e um minuto a 72°C (polimerização), e um ciclo a 72°C por sete minutos para a extensão final. O fragmento amplificado tem 340pb.

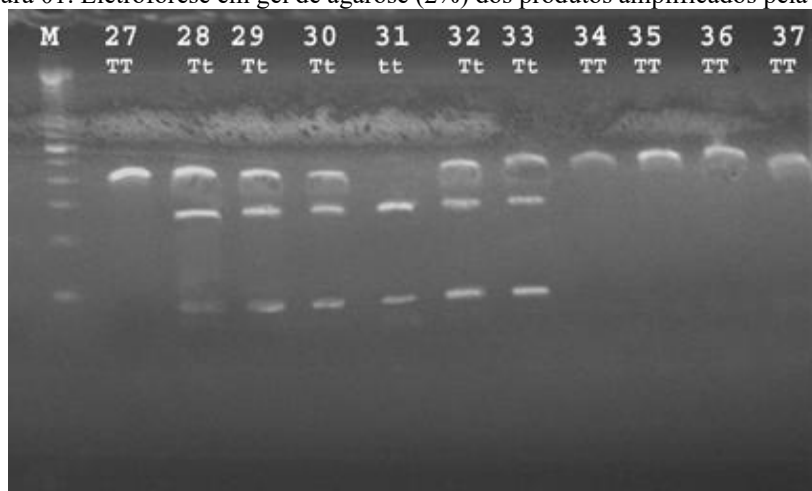
Após a amplificação, 5 µl do produto da PCR foi analisado pela eletroforese em gel de agarose (1,0%). Posteriormente o gel foi corado por brometo de etídio e os fragmentos recém-sintetizados foram visualizados sob luz ultravioleta. O tamanho do produto amplificado pela PCR foi estimado a partir da migração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

Para a técnica de RFLP (Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição), 12µl do produto amplificado pela PCR foram adicionados a 13µl de solução, contendo 2,5µl de Tampão NE 10x, 0,4µl de TaqI (10.000U/ml) e 10,1 µl de água deionizada esterilizada. A solução foi incubada a 65°C overnight.

O RFLP foi criado pela transição de uma única base (T/C) no códon 352 do exon 9 do gene da VDR quando da exposição à enzima de restrição Taq1. Os alelos foram designados “t” (presença do sítio para Taq1, formando um fragmento de 260 pb e outro com 80 pb) e “T” (ausência de sítio para Taq1, mantendo o fragmento de 340 pb).

Os produtos da digestão foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,0% , corados por brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta. Figura 01.

Figura 01. Eletroforese em gel de agarose (2%) dos produtos amplificados pela PCR



3 RESULTADOS

No presente estudo foram avaliados 50 indivíduos entre 12 e 40 anos tratados ortodonticamente no período de 1999 a 2000 em que 60% da amostra corresponde ao gênero feminino e 40% ao gênero masculino. Quanto à idade, 54% tinham entre 12 e 18 anos, 22% entre 19 e 22 anos e 24% de 23 a 40 anos (Tabela 01)

Foram encontradas proporções similares (32%) de homozigotos dominantes (TT) e homozigotos recessivos (tt) (Figura 02). A frequência de indivíduos heterozigotos (Tt) foi de 36% (Tabela 02)

Vale ressaltar que houve correlação entre as variáveis VDR e RRAE ($r= 0,306$ e $p= 0,030$).

O genótipo resultante da clivagem da Taq1 e as frequências alélicas diferiram entre os grupos com e sem RRAE. Indivíduos contendo o alelo T apresentaram uma maior probabilidade de desenvolver a RRAE quando comparados com indivíduos portando o genótipo tt (OR= 7.5; 95% IC= 1,8 – 31,4; $p= 0,0094$).

Tabela 01. Características dos indivíduos tratados ortodonticamente quanto ao gênero e a idade (N=50).

VARIÁVEIS	N	%
GÊNERO		
Masculino	20	40
Feminino	30	60
IDADE		
12-18	27	54
19-22	11	22
23-40	12	24

Tabela 02. Frequência genotípica do polimorfismo no gene VDR em indivíduos tratados ortodonticamente (N=50).

Frequência Genotípica	N	%
Homozigoto Dominante TT	16	32
Homozigoto Recessivo tt	16	32
Heterozigoto Tt	18	36

4 DISCUSSÃO

O gene VDR é expresso em um grande número de tecidos, mas as maiores concentrações estão no intestino, onde a vitamina D exerce sua principal função: aumentar a absorção de cálcio e fósforo (HAUSSLER et al., 1998; JONES et al., 1998; ERBEN, 2001). Apesar de osteoblastos (NARBAITZ et al., 1983) e células precursoras de osteoclastos (ROODMAN, 1996) também expressarem o gene VDR, a atuação direta da vitamina D no metabolismo ósseo ainda não pode ser confirmada.

Os achados do presente estudo são consistentes com a interpretação da RRAE como uma condição complexa influenciada por muitos fatores, e o polimorfismo no gene VDR predispõe o indivíduo a este problema. Assim, os resultados deste estudo são consistentes com a literatura mostrando que dentes sem forças têm menos reabsorção do que dentes que foram submetidos a tratamento ortodôntico (Mohandesan et al., 2007).

Foi demonstrado que EARR dos incisivos superiores, observado durante a fase inicial meses de tratamento, pode ser um preditor de maior risco de reabsorção contínua durante o tratamento. (Wierzbicki et al., 2009; Levander et al., 1998). Consequentemente, foi recomendado que radiografias periapicais devem ser obtidas após os primeiros 6 meses de tratamento (Levander et al., 2000).

Outros autores avaliaram a associação entre os polimorfismos no genes de IL-1 β e a RRAE decorrente do tratamento ortodôntico (AL-QAWASMI et al.; 2003a). Tais genes foram investigados,

pois codificam citocinas conhecidas por estarem envolvidas na reabsorção óssea acompanhada de movimento dentário ortodôntico. Trinta e cinco famílias americanas foram examinadas. Células da mucosa bucal foram coletadas para isolar e analisar o DNA. As RRAE nos incisivos centrais superiores, nos incisivos centrais inferiores e nas raízes mesial e distal dos primeiros molares inferiores foram analisadas separadamente e em conjunto. Houve alta evidencia (estatisticamente significativa) de associação do polimorfismo IL-1 β com a manifestação RRAE. Além disso, segundo estes autores, esses achados são consistentes com a interpretação da RRAE como uma complexa condição influenciada por muitos fatores, com o gene IL-1 β contribuindo com importante predisposição para este problema.

Nossos achados de uma associação clinicamente significativa entre a RRAE e o tratamento ortodôntico sugerem que pacientes suscetíveis à EARR podem ser identificados de maneira precoce já no início do tratamento, entretanto poucos estudos investigando a relação do polimorfismo de genes com a RRAE têm sido descritos na literatura evidenciando a necessidade de estudos adicionais.

5 CONCLUSÃO

Foi possível concluir com o presente estudo que os indivíduos TT apresentam 7.5 vezes mais chances de desenvolver RRAE em relação aos indivíduos homozigotos recessivos (tt) e heterozigotos (Tt).

AGRADECIMENTOS

Aos pacientes tratados ortodonticamente.

REFERÊNCIAS

- Aidar M, Line SRP. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J* 2007, 18(2):148-152.
- Al-Qawasmi RA, Hartsfield JK Jr, Everett ET, Flury L, Liu L, Foroud TM *et al.* Genetic predisposition to external apical root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;123:242-52. (a)
- Al-Qawasmi RA, Hartsfield JK Jr, Everett ET, Flury L, Liu L, Foroud TM *et al.* Genetic predisposition to external apical root resorption in orthodontic patients: linkage of chromosome-18 marker. *J Dent Res* 2003;82:356-60. (b)
- Al-Qawasmi RA, Hartsfield JK Jr, Everett ET, Weaver MR, Foroud TM, Faust DM, Roberts WE. Root resorption associated with orthodontic force in inbred mice: genetic contributions. *Eur J Orthod.* 2006 Feb; 28(1): 13-9.
- Baker, A.R., McDonnell, D.P., Hughes, M., Crisp, T.M., Mangelsdorf, D.J., Haussler, M.R., Pike, J.W., Shine, J., O'Malley, B.W. Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of U.S.A.* 1988 25(10).3294-3498.
- Bender IB, Byers MR, Mori K. Periapical replacement resorption of permanent, vital, endodontically treated incisors after orthodontic movement: report of two cases. *J Endod.* 1997 Dec;23(12):768-73.
- Brezniak N, Wasserstein A Root resorption after orthodontic treatment. Part 2. Literature review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1993, 103:138-146.
- Capelozza Filho L, Silva Filho O. Reabsorção radicular na clínica ortodôntica: atitudes para uma conduta preventiva, *R Dental Press Ortodon Ortop Facial* 1998, vol.3. no.1.
- Consolaro, A. Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas. 2. ed. Maringá: Dental Press International, 2005.
- DeShields RW. A study of root resorption in treated Class II, Division I malocclusions. *Angle Orthod.* 1969 Oct;39(4):231-45.
- Erben, R.G. Vitamin D analogs and bone. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interaction.* 2001. 2(1).59-69.
- Graber TM, Vanarsdall Junior RL, Barbosa JA. *Ortodontia, princípios e técnicas atuais.* 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p.897.
- Gomez Alonso, C., Naves Diaz, M.L., Díaz-Corte, C., Fernandez Martin, J.L., Cannata Andia, J.B. Vitamin d receptor (VDR) gene polymorphisms: effect on bone mass, bone loss and parathyroid regulation. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 1998. 13(3). 73-77.
- Hannah, S.S., Norman, A.W. 1,25 (OH)₂ vitamin D₃ regulated expression of eukaryotic genome. *Nutrition Reviews.* 1994. 52(11). 376-382.

Hartsfield J K, Everett E T, Al-Qawasmi R A Genetic factors in external apical root resorption and orthodontic treatment. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 2004.15:115 – 122

Haussler, M.R., Whitfield, G.K., Haussler, C.A. Hsieh, J.C., Thompson, P.D., Selznick, S.H., Encians Dominguez, C., Jurutka, P.W. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1998. 13(3). 325-349.

Henning, BJW; Parkhill, JM; Chapple, ILC; Heasman, PA; Taylor, JJ. Association of a vitamin D receptor gene polymorphism with localized early-onset periodontal diseases. *J Periodontol*, v.70, p.1032 -1038, 1999.

Jones, G., Strugnell, S.A., Deluca, H.F. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiological Reviews*. 1998. 78(4). 1193-1291.

Killiany DM. Root resorption caused by orthodontic treatment: an evidence-based review of literature. *Semin Orthod*. 1999 Jun;5(2):128-33.

Kurol J, Owman-Moll P, Lundgren D. Time-related root resorption after application of a controlled continuous orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1996 Sep;110(3):303-10.

Levander E, Malmgren O. Evaluation of the risk of root resorption during orthodontic treatment: a study of upper incisors. *Eur J Orthod*. 1988;10:30-38.

Levander E, Malmgren O, Eliasson S. Evaluation of root resorption in relation to two orthodontic treatment regimes. A clinical experimental study. *Eur J Orthod*. 1994 Jun;16(3):223-8

Levander E, Bajka R, Malmgren O. Early radiographic diagnosis of apical root resorption during orthodontic treatment: a study of maxillary incisors. *Eur J Orthod* 1998;20:57-63.

Levander E, Malmgren O. Long-term follow-up of maxillary incisors with severe apical root resorption. *Eur J Orthod* 2000;22:85-92.

Linge L, Linge BO. Patient characteristics and treatment variables associated with apical root resorption during orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991, 99:35-43.

Malmgren O, Goldson L, Hill C, Orwin A, Petrini L, Lundberg M. Root resorption after orthodontic treatment of traumatized teeth. *Am J Orthod*. 1982 Dec;82(6):487-91

Mohandesan H, Ravanmehr H, Valaei N. A radiographic analysis of external apical root resorption of maxillary incisors during active orthodontic treatment. *Eur J Orthod* 2007;29:134-9.

Narbaitz, R., Stumpf, W.E., Sar, M., Huang, S., Deluca, H.F. Autoradiographic localization of target cells for 1,25 dihydroxyvitamin D₃ in bones from fetal rats. *Calcified Tissue International*. 1983. 35(2). 177-182.

Ne RF, Witherspoon DE, Gutmann JL (1999). Tooth resorption. *Quintessence Int* 30:9-25.

Newman WG Possible etiologic factors in external root resorption. *Am J Orthod* 1975, 67:522-539.

Ozisk, G., Mergen, H., Ozata, M., uyanik, C., Caglayan, S., Turan, M., Bolu, E, Ilgin, S., Oner, R., Ozdemir, I.C., Oner, C. Vitamin d- receptor gene polymorphisms and vertebral bone density in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Medical Science Monitor*. 2001. 7(2):233-237.

Roodman, G.D. Advances in bone biology: the osteoclast. *Endocrine Reviews*. 1989. 17(4): 308-332.

Taithongchai R, Sookkorn K, Killiany DM. Facial and dentoalveolar structure and the prediction of apical root shortening. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996,110:296-302.

Shafer WG, Hine MK, Levy BM. *Tratado de Patologia Bucal*. Rio de Janeiro: Interamericana; 1987.

Wierzbicki T, El-Bialy T, Aldaghreer S, Li G, Doschak M. Analysis of orthodontically induced root resorption using micro-computed tomography (micro-CT). *Angle Orthod* 2009;79:91-6.