

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**  
**Leandro Kluppel Villas Bôas**

**Influência do uso local de alendronato de sódio ou  
sinvastatina na densidade radiográfica após a  
realização de defeitos ósseos em maxila de ratos**

**Taubaté – SP**  
**2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**  
**Leandro Kluppel Villas Bôas**

**Influência do uso local de alendronato de sódio ou  
sinvastatina na densidade radiográfica após a  
realização de defeitos ósseos em maxila de ratos**

Dissertação apresentada para obtenção  
do Título de Mestre pelo Programa de  
Pós-graduação do Departamento de  
Odontologia da Universidade de Taubaté.

Área de Concentração: Periodontia

Orientadora: Profa. Dra. Lucilene  
Hernandes Ricardo

**Taubaté – SP**  
**2006**

Villas-Bôas, Leandro Kluppel

Influência do uso local de alendronato de sódio ou sinvastatina na densidade óssea após cirurgia em maxila de ratos / Leandro Kluppel Villas Bôas. – 2006.

49f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2006.

Orientação: Profa. Dra. Lucilene Hernandez Ricardo, Departamento de Odontologia.

1. Alendronato de Sódio. 2. Sinvastatina. 3. Reabsorção Óssea.  
I. Título.

Dedico este trabalho aos meus pais Luiz Fernando Villas Bôas e Gilcar Kluppel Villas Bôas, meus maiores incentivadores.

Aos meus irmãos André Luiz, Fernando e Lia, que sempre souberam compreender minha ausência neste período.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade de Taubaté, UNITAU – SP.

Ao Prof. Dr. Nivaldo Zollner, Magnífico reitor da UNITAU.

Ao Prof. Dr. Antônio Olavo Cardoso Jorge, Coordenador do Curso de Pós-Graduação da UNITAU.

Ao Prof. Dr. José Roberto Cortelli, Coordenador do curso de Pós-graduação (Nível Mestrado), área de concentração Periodontia da UNITAU.

À CAPES, pela bolsa PROSUP/CAPES concedida por toda a extensão do curso.

À Profa. Dra. Lucilene Hernandes Ricardo, pela incansável dedicação e paciência, pela disponibilidade de tempo sempre que solicitado e por estar sempre presente e atenta a todos os detalhes na orientação deste trabalho.

À Profa. Marina Buselli pela eficiência na correção das normas.

A todos os professores do mestrado pela transmissão de conhecimento, respeito e colaboração quando solicitados.

Ao Prof. Dr. Luiz César de Moraes, responsável pela Disciplina de Radiologia da Faculdade de Odontologia da UNESP – São José dos Campos-SP.

À Jefferson Luis Oshiro Tanaka, aluno do programa de doutorado da disciplina de Biopatologia Bucal, Área de Concentração Radiologia Odontológica da Faculdade de Odontologia da UNESP – São José dos Campos – SP, pelo auxílio na obtenção das imagens radiográficas.

À Fernanda Lenzi de Lemos e Caroline de Carlo G Santos, alunas de graduação da UNITAU – Taubaté – SP, pela colaboração na etapa laboratorial do biotério para que este trabalho pudesse ser realizado.

## RESUMO

O alendronato de sódio um medicamento utilizado atualmente para conter a evolução de doenças como a osteoporose, interferindo no metabolismo ósseo e que tem sido estudada como possível inibidor de reabsorção óssea. A Sinvastatina é outro medicamento de uso médico, para controle do nível colesterol sanguíneo e que atualmente tem sido estudado como uma droga com potencial indutor para formação de tecido ósseo. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do uso local de alendronato de sódio ou sinvastatina na densidade radiográfica após a realização de defeitos ósseos em maxila de ratos. Foram utilizados 42 ratos (Wistar) nos quais foi realizada uma cavidade óssea de 1mm de diâmetro em maxila, através de um retalho mucoperiosteal, na região da raiz palatina do 2º MS. Os animais foram divididos de acordo com o tratamento em: Grupo AL, com aplicação local de alendronato 20% (N=12), grupo SIN, com aplicação local de sinvastatina 20% (N=12), grupo C (controle), sem tratamento e com cavidade cirúrgica (N=12) e grupo CN (controle negativo), sem tratamento e sem cavidade cirúrgica (N=06). Após a confecção dos defeitos ósseos, os animais foram sacrificados no sétimo e 14º dia. As hemimaxilas direitas foram radiografadas e as imagens avaliadas pela densidade óptica, expressa em tons de cinza, na região do defeito, pelo programa *Image Tool for Windows*. Os dados obtidos foram comparados usando análise de variância (ANOVA, Tukey) ao nível de significância 0,05. Os resultados demonstraram que os grupos C14, SIN7 e SIN14 foram equivalentes entre si e diferentes de CN ( $p=0,003$ ). Os resultados foram equivalentes considerando-se apenas os animais com cavidade cirúrgica. Também não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais considerando tanto o tratamento realizado como os prazos de sacrifício. Baseado nestes resultados pôde-se concluir que a utilização local de alendronato de sódio ou sinvastatina não influenciou a densidade óssea radiográfica após a realização dos defeitos ósseos em maxila de ratos.

Palavras-chave: Alendronato de sódio. Sinvastatina. Reabsorção óssea.



## ABSTRACT

The alendronate and simvastatin's action in the bone reabsorption caused by surgical interventions and by the natural evolution of the periodontitis. The objective of this study was to evaluate the influence of the local usage of the alendronate or simvastatin in the bone density after maxilla surgery in rats. A standardized bone cavity in the maxilla was performed in forty two Wistar rats. The procedure was done in the region of the palatine root of the 2<sup>nd</sup> MS through a mucoperiosteal flaps. The animals were split according to the treatment in: Group AL, with local application of alendronate 20% (N=12); Group SIN, with local application of simvastatin 20% (N=12); Group C (control), without treatment but with surgical cavity (N=12); and Group CN (negative control), without treatment and without surgical cavity (N=06). After the fabrication of the bone defects were killed in the seventh and fourteenth days. The right hemi-maxillas were radiographed and the images were evaluated by their optical density by the program Image Tools for Windows. The defect region was expressed in grey levels. The data obtained were compared using variance analysis (ANOVA, Tukey) at the significance level 0,05. The results showed that the groups C14, SIN7, and SIN14 were equivalent among them but different from group CN ( $p=0,003$ ). But taking in consideration the execution of the surgical cavity, the results were equivalent. Also, taking in consideration the treatment performed and the death periods, no differences were observed among the experimental groups. Based on these results it was possible to conclude that the local usage of alendronate and of simvastatin did not influence the radiographic bone density after maxilla surgery in rats.

Keywords: Alendronate. Simvastatin. Bone Reabsorption.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Valores das densidades ósseas radiográficas das áreas operadas expressas em valores obtidos pela diferença de tons de cinza 38
- Tabela 2 - Resultados da análise de variância considerando a variável tratamento 40
- Tabela 3 - Médias e desvio padrão encontrados com o Teste ANOVA para cada tempo experimental 41

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Realização do retalho total na região palatina do segundo molar superior	32
Figura 2 - Osteotomia realizada com broca em baixa rotação na região palatina do segundo molar superior	33
Figura 3 - Esquema cronológico referente ao sacrifício dos animais	34
Figura 4 – Aparelho de Rx Gendex 765 DC (tempo de exposição 0,063)	35
Figura 5 - Peça sobre o sensor com inclinação oclusal de 30º em relação ao plano oclusal	35
Figura 6 - Obtenção dos valores através de tons de cinza da área delimitada, pelo programa <i>Image Tool for Windows 2.0</i>	36
Figura 7 - Comparação da densidade óssea definida por tons de cinza pelos grupos experimentais	39
Figura 8 – Comparação da densidade por tons de cinza pelo tratamento farmacológico aplicado em cada grupo experimental	40
Figura 9 - Comparação da densidade óssea radiográfica por tons de cinza pelo tempo de sacrifício dos animais (tempos experimentais)	41

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	11
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	13
2.1	ALENDRONATO DE SÓDIO	13
2.1.1	<b>Características Gerais</b>	13
2.1.2	<b>Estudos em Animais</b>	14
2.1.3	<b>Estudos em Humanos</b>	21
2.2	SINVASTATINA	22
2.2.1	<b>Características Gerais</b>	22
<b>3</b>	<b>PROPOSIÇÃO</b>	29
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	30
4.1	ANIMAIS	30
4.2	GRUPOS	30
4.3	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	31
4.4	TEMPOS EXPERIMENTAIS	33
4.5	ANÁLISE RADIOGRÁFICA	34
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	38
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	42
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	47
	<b>REFERÊNCIAS</b>	48

Villas-Bôas, Leandro Kluppel

Influência do uso local de alendronato de sódio ou sinvastatina na densidade óssea após cirurgia em maxila de ratos / Leandro Kluppel Villas Bôas. – 2006.

49f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2006.

Orientação: Profa. Dra. Lucilene Hernandez Ricardo, Departamento de Odontologia.

1. Alendronato de Sódio. 2. Sinvastatina. 3. Reabsorção Óssea.  
I. Título.

## 1 INTRODUÇÃO

Na odontologia, os procedimentos terapêuticos envolvendo tecido ósseo são muito comuns em periodontia, implantodontia e cirurgia bucal. Mais especificamente na periodontia, os retalhos mucoperiostais são muito utilizados para acessar a superfície das raízes dentárias, principalmente quando encontramos dificuldades de acesso para instrumentação ou dificuldades causadas pela anatomia radicular, possibilitando a remoção do tecido necrótico e cálculo dental, no tratamento da periodontite.

Durante o processo de descolamento do retalho de espessura total (mucoperiostal), o periósteo é separado do osso alveolar juntamente com a mucosa, deixando uma camada de células na superfície óssea e o restante fica retido no próprio retalho (BINDERMAN; ADUT; YAFFE, 2000).

Nos casos de cirurgia periodontal ou em qualquer procedimento que envolva um retalho mucoperiostal, ocorre um estímulo dos osteoclastos que atuam na região gerando uma reabsorção óssea, como parte integrante dos eventos histopatológicos do reparo tecidual.

O alendronato de sódio é um bisfosfonato de segunda geração, denominado aminobisfosfonato. Este composto se liga, sob a forma de ácido alendrônico, preferencialmente aos cristais de hidroxiapatita que estão sendo metabolizados pelas células responsáveis pela reabsorção óssea, os osteoclastos. Quando ocorre o fenômeno de acidificação da superfície óssea, realizada pelos osteoclastos, o alendronato é liberado. Então, é absorvido por estas células inibindo a sua capacidade de metabolizar o tecido ósseo. Este medicamento tem sido usado

efetivamente para controlar diversas patologias como a perda óssea na doença de Paget, doença óssea metastática, osteogênese imperfeita, hipercalcemia maligna e osteoporose (AKESSON, 2003; DONANGELO; COELHO; FARIAS, 2001).

A sinvastatina é uma estatina com grande uso na redução dos níveis de colesterol da corrente sanguínea, prevenindo assim doenças cardiovasculares importantes, assim como as outras estatinas. Atualmente estudos relatam ação deste medicamento no metabolismo ósseo, como uma droga indutora de nova formação óssea e também inibidora de reabsorção óssea, através de indução de maior expressão celular para produção de proteínas ósseas, estimulação na diferenciação dos osteoblastos e interferência na atividade osteoclástica de maneira semelhante ao alendronato de sódio (WONG; RABIE, 2003, 2005).

A ação do alendronato ou sinvastatina na modulação da reabsorção óssea decorrente de intervenções cirúrgicas ou patologias como periodontite pode ser um aspecto importante a ser estudado para a aplicação clínica destes medicamentos como prevenção desta reabsorção óssea, através da aplicação direta nos sítios cirúrgicos ou sítios afetados.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 ALENDRONATO DE SÓDIO**

#### **2.1.1 Características Gerais**

O alendronato de sódio é um bisfosfonato de segunda geração, denominado de aminobiofosfonato. Liga-se preferencialmente aos cristais de hidroxiapatita, sendo liberado pela acidificação da superfície óssea efetuada pelos osteoclastos. O alendronato é absorvido pelos osteoclastos inibindo sua capacidade de reabsorver o tecido ósseo. O bisfosfonato possui uma estrutura similar ao pirofosfato, um composto produzido normalmente pelo metabolismo humano. Esta estrutura confere a este medicamento uma alta afinidade pelo osso e que permanece neste tecido por muitos anos. Os bisfosfonatos inibem a reabsorção óssea por serem seletivamente transportados e ligados às superfícies minerais do tecido ósseo, onde interferem com a ação do osteoclastos e interferem com os processos específicos bioquímicos, podendo resultar em apoptose celular (ROGERS, 1999; SALVI; LANG, 2005). Estes mecanismos bioquímicos ainda estão sendo esclarecidos. Os bisfosfonatos podem ser divididos em dois grupos com diferentes modos de ação, os que se assemelham ao pirofosfato (clodronato e etidronato) que podem ser metabolicamente incorporados a compostos análogos de adenosina tri-fosfato (ATP) não hidrolisáveis, inibindo assim enzimas intracelulares



ATP-dependentes, e o outro grupo que possui nitrogênio no composto (pamidronato, alendronato, residronato e ibandronato), que podem inibir enzimas importantes para o caminho do mevalonato, prevenindo assim a biossíntese de compostos isoprenóides essenciais para a modificação de pequenas proteínas GTP (guanosinas tri-fosfatases), inibindo a prenilação de proteínas, que resulta na inatividade do osteoclasto e indução de apoptose celular (ROGERS, 1999).

Alguns estudos têm avaliado a ação do alendronato como inibidor de reabsorção óssea alveolar nos leitos cirúrgicos após cirurgias periodontais (KAYNAK et al., 2000; WEINREB et al., 1994; YAFFE et al., 1995, 1997, 1999). Para verificação do potencial deste medicamento, os autores citados estão utilizando exames para análises radiográficas, histológicas e histomorfométricas.

### **2.1.2 Estudos em Animais**

Weinreb et al. (1994) estudaram a eficácia do alendronato administrado por via intravenosa, na redução da perda óssea alveolar causada por periodontite experimental em macacos. A periodontite foi iniciada por ligadura nos molares inferiores direitos e inoculação de *Porphyromonas gengivalis*. Os dentes contralaterais não receberam a inoculação e nem ligadura, e formaram o grupo controle. Os animais receberam por via de administração intravenosa soro fisiológico (placebo) ou alendronato a 0,05 ou 0,25 mg/Kg a cada duas semanas durante 16 semanas. Os animais foram sacrificados e as peças submetidas à análise histomorfométrica realizadas em cortes coronais (sentido vestibulo-lingual na área

de furca) digitalizados. Os animais tratados com placebo, ligadura ou inoculação resultaram em significativa perda óssea. Doses de 0,05 mg/Kg de alendronato reduziram significativamente a perda óssea associada com periodontite experimental em ambas as regiões analisadas (junção amelo-cementaria e furca), em contraste, a dose de 0,25 mg/Kg de alendronato não foi efetiva na área de furca, caracterizando uma resposta bifásica. Os resultados da análise histomorfométrica estavam de acordo com os resultados da análise radiográfica do mesmo experimento. Estes dados indicaram que o alendronato poderia reduzir a perda óssea do suporte alveolar associado com periodontite e sugeriu que os bisfosfonatos podem ser uma modalidade de tratamento no combate uma nova destruição do osso alveolar durante a periodontite.

Shoji, Horiuchi e Shinoda (1995) avaliaram a influência da administração sistêmica de bisfosfonato (risedronato) sobre a reabsorção óssea em ratos com periodontite experimental. Foram utilizados 27 ratos divididos em quatro grupos. Um elástico foi posicionado em volta do primeiro molar inferior direito para induzir doença periodontal no primeiro dia. Doses de 0.9% de NaCl no grupo controle com nove ratos e de 0.8, 1.6 ou 3.2 moles/ Kg de risedronato aplicadas subcutaneamente no grupo teste com seis ratos cada, diariamente por sete dias. Os animais foram sacrificados no oitavo dia. A análise histológica e a determinação da densidade óssea mineral interdental entre primeiro e segundo molar revelaram que houve perda de inserção no grupo controle. No grupo teste a reabsorção óssea e a perda de conteúdo mineral foi menor e esta influência foi mais evidente nas doses de 1.6 e 3.2 moles/Kg. No grupo teste, embora o número de osteoclastos fosse similar ao grupo controle, estes osteoclastos apresentavam aparência alterada, com

formato arredondado e perda de polaridade. Os autores sugerem que o risedronato é efetivo na prevenção da reabsorção óssea em periodontite experimental em ratos.

Yaffe et al. (1995) analisaram o efeito do alendronato com aplicação tópica e sistêmica na reabsorção do osso alveolar após cirurgia com retalho mucoperiosteal na mandíbula de ratos e relataram um fenômeno cicatricial regional acelerado, começando com uma atividade acelerada de reabsorção (menos tempo de duração) seguida por um processo lento de regeneração do osso. Os autores observaram que os bisfosfonatos reduzem a atividade osteoclástica de reabsorção óssea, através de um mecanismo ainda não compreendido totalmente. Foram realizadas análises radiográfica e histológica com cortes vestibulo-linguais. Seus resultados mostraram que três aplicações tópicas com doses de 0.15, 0.75, 1.5 mg/mL não inibiam a reabsorção óssea após cirurgia, enquanto três administrações intravenosas de 0.5 mg/Kg do peso corporal reduziram significativamente a reabsorção óssea. Os autores concluíram que o alendronato pode ser empregado em periodontia e implantodontia, reduzindo a reabsorção óssea pós-cirúrgica com administração sistêmica.

Reddy et al. (1995) avaliaram o efeito do alendronato em cães *beagle* com doença periodontal. Dezesesseis cães *beagle* de sete à nove anos de idade com periodontite de moderada a severa foram estudados por seis meses. Os cães foram divididos em dois grupos baseados na severidade da periodontite inicial. Um grupo recebeu 3 mg/Kg por via oral de alendronato e o outro grupo recebeu lactose. Ligaduras foram colocadas no pré-molar inferior nos primeiros três meses para exacerbar a doença periodontal em ambos os grupos. Os parâmetros clínicos avaliados foram: o nível de inserção, índice gengival, índice de placa e mobilidade no início do estudo e a cada mês. Os animais foram sacrificados e as mandíbulas

foram processadas para análise histológica no sexto mês. As radiografias foram avaliadas através de subtração de imagens de forma digital. Uma diferença estatisticamente significativa na massa óssea foi observada entre os grupos. O grupo alendronato não apresentou melhoras nos níveis clínicos como índice de placa e índice de sangramento, porém houve uma diminuição da perda de inserção e mobilidade neste grupo. Os autores concluíram que o alendronato de sódio pode ter um forte efeito juntamente com o tratamento de manutenção em pacientes com periodontite do adulto.

Yaffe et al. (1997) avaliaram os efeitos da administração local de alendronato a 20% na reabsorção óssea associada ao retalho mucoperiosteal. Após elevação do retalho na região de molares na mandíbula do rato, uma esponja gelatinosa embebida com o medicamento foi aplicada localmente na superfície exposta do osso no lado direito, e do lado esquerdo o mesmo procedimento foi realizado com aplicação de soro fisiológico. Os espécimes foram submetidos à análise radiográfica digital por tons de cinza e histológica com cortes vestibulo-linguais. Os resultados mostraram que a aplicação local de alendronato reduziu significativamente a atividade de reabsorção do osso alveolar, comparando com o grupo controle, sugerindo que os aminobisfosfonatos podem ser usados como uma terapia adjunta para a redução da reabsorção óssea após cirurgias.

Yaffe et al. (1999) estudaram o uso da aplicação local de alendronato sobre a superfície óssea após cirurgias, para prevenir reabsorções ósseas regionais nos sítios cirúrgicos. Os autores investigaram a eficácia da absorção de alendronato marcado radioativamente e aplicado topicamente sobre o sítio cirúrgico na região de molares em mandíbula de rato. Foi realizada uma aplicação tópica de dez ou sessenta minutos apenas no sítio cirúrgico do lado direito com alendronato a 20%.

Os espécimes cirúrgicos foram submetidos à análise de radioatividade para quantificação de alendronato absorvido no sítio cirúrgico, no sítio contra lateral a cirurgia e no osso da tíbia. Os resultados com aplicação de dez minutos mostraram que 10% do alendronato aplicado foi absorvido pelo osso no sítio cirúrgico, 2% no sítio contra lateral e 0,2% no osso da tíbia, no grupo de aplicação de sessenta minutos, os resultados na absorção no sítio cirúrgico foi bem menor (3%). Este estudo demonstrou a absorção de alendronato no sítio cirúrgico e em outros locais distantes da aplicação tópica durante procedimentos odontológicos em ratos.

Binderman, Adut e Yaffe (2000) estudaram a efetividade de diferentes concentrações de alendronato administrado localmente e a distância, na redução de perda óssea alveolar após cirurgia a retalho mucoperiosteal na região de molar em mandíbula de ratos. Neste modelo experimental foi colocado uma esponja gelatinosa embebida em diferentes concentrações de alendronato (0; 1; 5; 20 ou 40 mg/mL) no osso exposto do sítio cirúrgico experimental (lado direito). No segundo grupo a solução de alendronato em diferentes concentrações (0, 50, 200, ou 400 µg/mL) foi aplicada e mantida na submucosa da bochecha do lado esquerdo, distante do sítio cirúrgico. O sacrifício dos animais ocorreu após 21 dias do experimento. A análise foi feita pela avaliação radiográfica realizada com a utilização de cortes feitos no sentido méso-distal, de acordo com a geometria e altura óssea alveolar. Os resultados mostraram que a aplicação tópica de alendronato, tanto no local da cirurgia como a distância, reduzia a perda óssea e que a concentração mais efetiva em relação a inibição da reabsorção óssea na utilização tópica foi a de 200 µg/mL.

Kaynak et al. (2000) verificaram histopatologicamente se a administração de residronato poderia ser efetiva na redução da reabsorção do osso alveolar associada a retalhos mucoperiostais em ratos. Após a elevação de um

retalho na região de molar (vestibular e lingual) da mandíbula de ratos, uma esponja embebida em aminobisfosfonato foi aplicado no osso exposto. Os parâmetros utilizados para avaliação histológica em microscópio de luz foram os seguintes: existência de infiltrado de células inflamatórias, componentes fibróticos e fibras colágenas, número e morfologia dos osteoclastos no septo interdental e existência de lacunas de reabsorção. O sacrifício dos animais ocorreu após 21 dias do experimento, os cortes histológicos foram realizados no sentido méso-distal e corados com hematoxilina e eosina. Os resultados sugeriram que a aplicação local de aminobisfosfonatos pode ser usado como terapia adjunta para reduzir a reabsorção de osso após cirurgia.

Llavaneras et al. (2001) avaliaram uma associação de uma combinação de uma doxiciclina quimicamente modificada (CMT-8) e um bisfosfonato (clodronato) como inibidores sinérgicos da reabsorção óssea que ocorre na periodontite de ratos. Para isso eles utilizaram trinta ratos divididos em cinco grupos. No grupo um (controle) foi injetado apenas uma solução salina na gengiva de cada rato e carboximetilcelulose (CMC) via oral; no grupo dois foi injetado endotoxina bacteriana (LPS) na gengiva com CMC via oral; no grupo três foi injetado o LPS na gengiva e o CMC por via oral com CMT-8; no grupo quatro foi injetado o LPS na gengiva e uma solução salina com clodronato administrada subcutaneamente e finalmente no grupo cinco foi injetada LPS na gengiva, CMC com o CMT-8 e clodronato com solução salina. Ao término do sétimo dia todos os ratos foram sacrificados e foram analisadas medidas morfométricas, mobilidade dos dentes e perda óssea alveolar. Os resultados mostraram que a aplicação de LPS aumentou significativamente a perda óssea e aumentou a atividade de colagenases. Ficou demonstrado também a ação isolada, do CMT-8 e do clodronato, como inibidores da

reabsorção óssea em periodontite experimental, porém quando utilizados em associação, mostraram uma eficácia ainda maior, atuando em sinergismo. Os autores concluíram que a combinação de CMT-8 e clodronato pode ser útil para reduzir a destruição periodontal.

Buduneli et al. (2004) avaliaram os efeitos da administração sistêmica de alendronato combinado com sub-doses de doxiciclina nos níveis de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>), leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) e fator de ativação plaquetária (PAF) em periodontite induzida em ratos. Também foi realizada avaliação histomorfométrica de cortes da mandíbula da altura da crista óssea alveolar. A periodontite foi induzida através de repetidas aplicações locais de LPS na gengiva. Os animais foram divididos em cinco grupos: LPS, LPS e doxiciclina, LPS e alendronato, LPS com alendronato e doxiciclina e grupo controle utilizando soro fisiológico, durante sete dias. Todos os grupos que tiveram administração de LPS apresentaram valores significativos na análise de perda óssea em comparação ao grupo controle, e o grupo que teve administração combinada de doxiciclina e alendronato foi o que obteve as maiores reduções nos níveis de prostaglandinas (PGE<sub>2</sub> e PGF<sub>2α</sub>), assim como também apresentou uma significativa redução de PAF e LTB<sub>4</sub>, porém, o grupo que recebeu apenas doxiciclina como tratamento uma redução ainda maior destes últimos dois mediadores inflamatórios citados. Contudo, os autores concluíram que o alendronato e a doxiciclina associados ou não, podem promover inibição dos mediadores inflamatórios responsáveis pela destruição dos tecidos periodontais, e que quando administrados podem ter um efeito benéfico no tratamento periodontal em ratos.

Dias et al. (2006), avaliaram a influência do alendronato de sódio sobre a reabsorção óssea após a realização de defeitos ósseos criados cirurgicamente em

maxila de ratos, quando aplicado localmente. Foram utilizados trinta ratos machos e com sacrifícios realizados aos sete ou 14 dias nos grupos experimentais. As hemimaxilas foram dissecadas e radiografadas para obtenção da densidade radiográfica na região dos defeitos por tons de cinza, por uma análise digital. O grupo experimentou alendronato com sacrifício aos sete dias apresentou uma média superior aos demais grupos experimentais, ficando equivalente ao grupo controle, ou seja, equivalente ao grupo que não tinha sofrido reabsorção óssea. Com estes resultados, os autores concluíram que o alendronato de sódio pode ser eficaz, quando aplicado localmente, contra a reabsorção óssea após a realização de defeitos ósseos criados cirurgicamente.

### **2.1.3 Estudos em Humanos**

Rocha et al. (2001) estudaram o efeito do alendronato na prevenção da perda óssea em pacientes com diabetes tipo dois com doença periodontal. O estudo incluiu quarenta indivíduos sendo vinte homens e vinte mulheres, com idade entre cinquenta e sessenta anos e com mais de cinco anos de diabetes e doença periodontal estabelecida diagnosticada. Todos os indivíduos passaram por tratamento convencional da periodontite. Estes indivíduos foram aleatoriamente divididos em dois grupos. Um grupo recebeu alendronato 10 mg/dia e o outro grupo placebo, durante seis meses. O parâmetro radiográfico avaliado foi à distância entre a crista do osso alveolar e a junção cimento-esmalte. Os resultados demonstraram que houve um aumento na distância no grupo tratado com placebo enquanto o



grupo tratado com alendronato houve uma diminuição da distância entre o tecido ósseo e a junção cimento-esmalte.

Takaishi et al. (2001) avaliaram o efeito clínico do etidronato através de um relato de quatro casos de indivíduos do sexo feminino com periodontite crônica. Após tratamento convencional da periodontite crônica, foram administradas 200 mg diariamente por um período de duas semanas seguido por um período de dez semanas ou mais sem a medicação, num período total de tratamento que variou entre dois e três anos. Parâmetros clínicos como mobilidade dentária, profundidade de bolsa, perda de inserção e achados radiográficos foram avaliados durante este período. Todos os quatro casos apresentaram uma diminuição na mobilidade dos dentes afetados assim como uma diminuição na profundidade de sondagem, e estes resultados foram mais evidenciados num período de seis a 18 meses após a terapia com etidronato. Os autores concluíram que o etidronato pode ser uma droga promissora efetiva no tratamento da doença periodontal crônica.

## 2.2 SINVASTATINA

### 2.21 Características Gerais

As estatinas, como a sinvastatina, possuem uma grande importância na área médica, principalmente atuando na redução dos níveis de colesterol da corrente sanguínea, prevenindo assim doenças cardiovasculares importantes.

Atualmente estudos relatam ação deste medicamento no metabolismo do tecido ósseo, como uma droga com grande potencial indutor de novo tecido, através da estimulação da diferenciação e no metabolismo dos osteoblastos, podendo também atuar como uma droga inibidora da reabsorção óssea (MUNDY et al., 1999; GARRET; MUNDY, 2002).

A sinvastatina, como inibidora da reabsorção óssea, possui um mecanismo de ação muito parecido com o mecanismo dos bisfosfonatos nitrogenados (alendronato), inibindo a atividade da 3-hidroxi-3glutaril-coenzima A redutase (HMG-CoA), diminuindo a síntese hepática de colesterol, bloqueando assim o caminho (metabolismo) do mevalonato. Estudos recentes demonstram que medicamentos bisfosfonados contendo nitrogênio também inibem o caminho do mevalonato, impedindo a formação de isoprenóides, resultando na inibição da função osteoclástica, justificando assim a hipótese de que as estatinas poderiam afetar o metabolismo ósseo (HORIUCHI; MAEDA, 2006; THUNYAKITPISAL, 2004). Alguns estudos relatam que células expostas a sinvastatina têm uma maior expressão de RNAm para osteocalcina, osteopontina e proteína morfogenética óssea (BMP-2), proteínas básicas para a formação do novo tecido, e a BMP-2 tendo ação também como estimuladora da diferenciação osteoblástica (SONG et al., 2003). Além das células expostas a sinvastatina apresentarem maior expressão destas proteínas em quantidade, outros trabalhos mostram que ocorre uma aceleração no processo de reparação óssea, pela formação pré-matura destas proteínas (osteocalcina, osteopontina e BMP-2) (GARRET et al., 1999; MUNDY et al., 1999; WONG; RABIE, 2003).

Mundy et al. (1999) avaliaram os efeitos *in vivo* e *in vitro* de estatinas sobre o tecido ósseo, principalmente sobre maior formação de BMP-2, em roedores.

Cerca de trinta mil compostos foram adicionados em culturas de células ósseas murinas. Foi visto *in vitro* que uma estatina, a lovastatina, teve um efeito positivo sobre a cultura. Investigando os efeitos das estatinas sobre as células ósseas, verificou-se que a sinvastatina, mevastatina e a fluvastatina também estimular células a produzirem BMP-2. Através de aplicações subcutâneas em ratos foi constatado *in vivo* que na região da aplicação o osso se apresentava cerca de 50% mais espesso do que o grupo controle. Com administração via oral, ratas ovariectomizadas apresentaram aumento significativo no volume ósseo, aumento esse que variou de 39 a 94%. Todos estes resultados levaram os autores a concluir que as estatinas têm ação sobre o metabolismo ósseo e que também poderiam interferir no processo de reabsorção óssea, mas vez que foi observado uma diferença significativa na quantidade de osteoclastos nas regiões estudadas.

Maeda et al. (2001) avaliaram os efeitos da sinvastatina sobre a diferenciação osteoblástica e a mineralização em células pré-osteoblásticas da calvária de ratos recém nascidos (MC3T3-E1) e células da medula óssea de ratos. Foi realizada a medição da atividade de fosfatase alcalina e mineralização pela quantificação de produção de RNA mensageiro para BMP-2 e colágeno tipo-I em meio de cultura. Foram utilizadas diferentes doses de sinvastatina e foi obtido o resultado para diferentes tempos de tratamento. A sinvastatina, numa concentração de  $10^{-7}$ M, aumentou levemente a expressão de RNA mensageiro para colágeno tipo I durante todo o período de cultura e inibindo a formação de collagenase-1 entre o 14º. e 22º. dia de cultura, além de também aumentar as concentrações de fosfatase alcalina e BMP-2. Estes resultados indicaram que a sinvastatina tem efeito anabólico no osso, por meio da promoção da diferenciação osteoblástica, sugerindo que poderia ser usada no tratamento de doenças metabólicas ósseas comuns.

Junqueira et al. (2002) avaliaram regeneração óssea e níveis sanguíneos de colesterol em ratas ovariectomizadas (OVX) tratadas com sinvastatina. Foram utilizadas setenta ratas divididas em dois grupos (experimental e controle). Em ambos os grupos foram incluídos animais normais e animais OVX. Os defeitos ósseos foram realizados nas mandíbulas, e recobertos com membrana de politetrafluoretileno. O grupo de tratamento recebeu sinvastatina oral por 15 ou trinta dias após a cirurgia, e o sacrifício ocorrerem nos dias 15, trinta e sessenta, assim também como no grupo controle, e amostras de sangue foram coletadas. Foram realizadas análises densitométrica, histológica e morfológica, e verificou-se um aumento na formação óssea em todas as análises nos animais OVX que receberam tratamento com sinvastatina, mas sem nenhuma diferença significativa entre os períodos de tratamento. O nível de colesterol se mostrou maior nos animais OVX do que nos normais, concluindo que a deficiência estrogênica aumentou os níveis sanguíneos de colesterol e que a sinvastatina influenciou a formação óssea nestes animais.

Staal et al. (2003) avaliaram a capacidade das estatinas na inibição da reabsorção óssea está diretamente relacionada com seu efeito inibidor da atividade da HMG-CoA redutase. Estatinas que são inibidoras da atividade da HMG-CoA redutase, diminuem a biossíntese hepática do colesterol, bloqueando o caminho do mevalonato. Principalmente a cerivastatina, *in vitro*, realmente inibiu a reabsorção estimulada pelo hormônio da paratireóide (PTH). Foi também observado, utilizando 40 análogos de estatinas, que as drogas com capacidade de atuar sobre a reabsorção óssea tinham realmente direta relação com atividade sobre a HMG-CoA redutase. No entanto, num modelo de experimento animal com ratos que passaram por paratiroidectomia com reabsorção óssea induzida, a cerivastatina não impediu o

aumento no nível desta reabsorção, e este efeito não está relacionado com a penetração limitada no tecido alvo (medula óssea), pois foi encontrado um efeito significativo sobre a HMG-CoA redutase num extraído de células desta medula óssea.

Wong e Rabie (2003) compararam a formação óssea conseguida com enxertos de colágeno com e sem sinvastatina associada, em defeitos ósseos criados no osso parietal de coelhos. No grupo experimental com seis coelhos, foi utilizado enxerto de esponja de colágeno reabsorvível com sinvastatina dissolvida em água. Nos grupos controle (ativo e passivo) foi utilizado enxerto colágeno (ativo) e nenhum enxerto (passivo) respectivamente. Os coelhos foram sacrificados no 14º. dia e as peças foram preparadas para análise histológica. Foi realizada uma análise quantitativa através das imagens obtidas. Foi verificado um total de 308% a mais de formação óssea nos defeitos tratados com enxerto de colágeno associado a sinvastatina, e sem formação no grupo controle passivo, concluindo assim que os enxertos de colágeno com sinvastatina foram osteoindutores e podem ser usados como material para enxertos ósseos.

Song et al. (2003) estudaram as estatinas, principalmente a sinvastatina, como estimuladoras da formação óssea. O mecanismo de diferenciação osteoblástica e adipocídica em células do estroma da medula óssea de ratos em cultura foi a ferramenta de estudo deste experimento. As culturas expostas à sinvastatina, tiveram maior nível de expressão de RNAm para osteopontina e osteocalcina, por outro lado uma menor expressão do RNAm para lipoproteínas ficou demonstrado. Por fim, foi observado que a sinvastatina induz uma expressão elevada de (BMP-2), sugerindo que a sinvastatina age aumentando

a diferenciação osteoblástica e diminuindo a expressão adipocítica, e estes efeitos são mediados por indução da expressão da BMP-2.

Oxlund e Andreassen (2004) estudaram os efeitos da sinvastatina na tíbia, fêmur, cortical vertebral e trabeculado ósseo em ratos OVX. Foram utilizados sessenta ratos com aproximadamente quatro meses de idade, e foram divididos em quatro grupos, sendo estes o grupo controle, o grupo placebo, o grupo OVX com placebo e o grupo OVX com sinvastatina. A sinvastatina, 20 mg/Kg, e o placebo foram administrados oralmente duas vezes ao dia durante noventa dias. Foi feita análise histomorfométrica, biodinâmica óssea, de formação óssea cortical, formação óssea trabecular e de marcadores ósseos no soro sanguíneo. No que se refere ao osso cortical, a resistência a flexão da diáfise tibial aumentou em 8%, e a taxa de formação óssea no meio da diáfise dobrou no grupo OVX + sinvastatina, quando comparada ao grupo OVX + placebo, o que acompanhou o aumento do nível de osteocalcina no soro sanguíneo. Os volumes de osso trabecular na região proximal da tíbia e no corpo vertebral foram reduzidos nos dois grupos OVX, mas a redução foi menor no grupo OVX + sinvastatina, concluindo que as estatinas podem induzir um aumento moderado na formação óssea cortical na superfície óssea e aparentemente respeitando o padrão regional da formação e reabsorção óssea e a sinvastatina reduz a perda óssea induzida pela ovariectomia.

Wong e Rabie (2005) avaliaram o padrão de cicatrização com e sem o uso de estatina (sinvastatina) em osso parietal de coelhos. Foram realizados trinta defeitos ósseos em 15 animais. Nove coelhos no grupo com sinvastatina e matriz de colágeno e seis coelhos tratados com água destilada misturada a matriz de colágeno. O sacrifício foi realizado do primeiro ao sexto dia de pós-operatório em ambos os grupos. Os resultados mostraram que a expressão de fatores de

crescimento como o fator de crescimento endotelial vascular (FCEV) e a proteína morfogenética óssea (BMP-2), ocorreu prematuramente no grupo sinvastatina, com aproximadamente um dia de diferença entre os grupos. Também foi observada nova formação óssea no quinto dia no grupo sinvastatina e no sexto dia no grupo controle. Estes achados indicam que a sinvastatina tem potencial de desencadear uma expressão precoce de fatores de crescimento ósseo.

### **3 PROPOSIÇÃO**

O propósito deste estudo foi avaliar a influência do uso local de alendronato de sódio ou de sinvastatina sobre a densidade radiográfica do reparo tecidual após criação de um defeito ósseo em maxilas de ratos, por meio de uma análise radiográfica.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 ANIMAIS

Neste estudo foram utilizados 42 ratos adultos machos (*Rattus norvegicus*) possuindo uma massa corporal de aproximadamente 250 mg e com idade próxima a noventa dias. Foram mantidos em gaiolas em temperatura ambiente e alimentados com água e ração à vontade. Os ratos foram fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Biologia de Taubaté-UNITAU. O número do protocolo de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal é (CEEA) 011/05.

### 4.2 GRUPOS

Os animais foram divididos em grupos segundo ao tratamento realizado, ou seja, quanto a medicação aplicada e quanto ao período de sacrifício.

O grupo AL foi formado por 12 ratos tratados com alendronato de sódio na concentração de 200µg/10µL (20%) (BINDERMAN; ADUT; YAFFE, 2000) aplicado com uma esponja (Gelfoam<sup>®</sup>), que tem as mesmas dimensões do defeito ósseo, diretamente no sítio cirúrgico, constituindo então um grupo experimental.

O grupo SIN foi formado também por 12 ratos tratados com sinvastatina, foi aplicado da mesma, constituindo então o outro grupo experimental.

O grupo C foi formado também por 12 ratos, que foram submetidos ao procedimento cirúrgico, porém não foram tratados com nenhuma medicação e nem esponja colágena, constituindo o grupo controle. E por último o grupo CN (controle negativo), composto por seis animais sacrificados no dia zero, sem tratamento e sem procedimento cirúrgico.

#### 4.3 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Os animais foram previamente pesados, então sedados e anestesiados com uma mistura de Anasedan (xilazina) com Dopalen (cetamina base) na proporção 2:1, foi administrado 0,1 mL da solução para cada 100 mg do peso do animal por via intramuscular.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em sala do próprio biotério da Faculdade de Biologia de Taubaté-UNITAU. Foram utilizados para estes procedimentos os seguintes materiais; uma lâmina montada de bisturi nº. 12, um descolador de tecido, broca esférica tipo *carbide* nº. 0,5 em baixa rotação, solução salina de NaCl 0,9% para irrigação, seringa descartável estéril para anestesia e irrigação e cânula de aspiração endodôntica acoplada a uma bomba de sucção a vácuo.

Após realização de incisão intra-sulcular na região palatina do segundo molar superior, foi criado um acesso ao tecido ósseo através do descolamento de um retalho mucoperiosteal (Figura 1). A confecção do defeito ósseo foi realizada sob abundante irrigação de solução de NaCl 0,9%, com a utilização de broca cirúrgica

(carbide n° 0,5) em baixa rotação. Este procedimento cirúrgico foi realizado em maxila direita em todos os animais deste experimento. O tamanho do defeito ósseo foi padronizado, medindo 1mm de diâmetro conforme a dimensão da broca utilizada. Estas medidas também foram reproduzidas para a confecção das esponjas de colágeno (Gelfoam<sup>®</sup>, The Upjohn Company, Kalamazoo, MI.) que serviram de carreadoras para a absorção e aplicação da solução de alendronato de sódio 20% (Vivência Farmácia de Manipulação) e de solução de sinvastatina 20% (Vivência Farmácia de Manipulação). As esponjas foram umedecidas por cinco segundos e foram introduzidas e permaneceram juntamente com os medicamentos na cavidade cirúrgica após a coaptação do retalho total.

Após a aplicação de alendronato ou sinvastatina, o retalho foi reposicionado sobre o defeito ósseo, que se encontrava preenchido com a esponja de colágeno, e mantido em posição pela aplicação de cianoacrilato de etila.

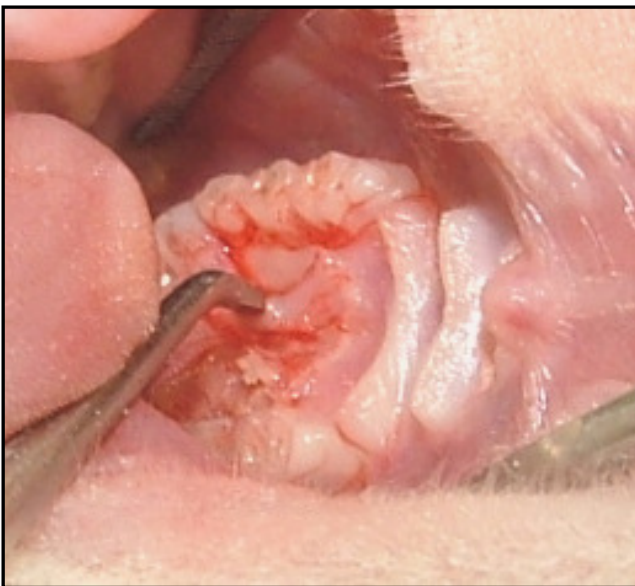


Figura 1 - Realização do retalho total na região palatina do segundo molar superior

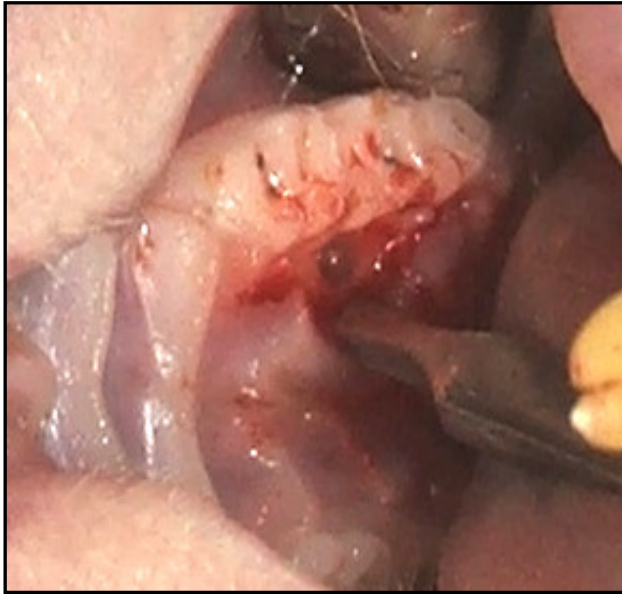


Figura 2 - Osteotomia realizada com broca em baixa rotação na região palatina do segundo molar superior

#### 4.4 TEMPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram previamente anestesiados e em seguida decaptados com guilhotina. A maxila foi separada em hemimaxila esquerda e direita, os tecidos moles adjacentes não foram removidos e em seguida as hemimaxilas foram fixadas em solução de formol a 10%.

No dia zero, apenas os seis animais do grupo controle negativo (CN) foram sacrificados. Sete dias após os procedimentos cirúrgicos, seis animais do grupo AL, seis animais do grupo SIN e seis animais do grupo C (controle) foram sacrificados e o restante dos animais, seis de cada grupo (AL, SIN e C), foram sacrificados 14 dias após os procedimentos cirúrgicos (Figura 3).

<b>Dia 0</b>	<b>07 dias</b>	<b>14 dias</b>
▲ Eutanásia 6 ratos do grupo CN  Procedimento cirúrgico e tratamento dos ratos	▲ Eutanásia 6 ratos do grupo AL 6 ratos do grupo SIN 6 ratos do grupo C	▲ Eutanásia 6 ratos do grupo AL 6 ratos do grupo SIN 6 ratos do grupo C

Figura 3 - Esquema cronológico referente ao sacrifício dos animais

#### 4.5 ANÁLISE RADIOGRÁFICA

O tecido mole não foi separado mecanicamente das hemimaxilas esquerda e direita.

Foi utilizado um sistema de radiografia digital controlado pelo *software Trophy Windows 5.0*. O aparelho utilizado para realização das radiografias foi o Gendex 765 DC (Figura 4). As hemimaxilas do lado direito foram posicionadas uma a uma sobre o sensor, utilizando um tempo de exposição de 0,063 segundos e uma distância focal de 40cm. Para evitar a sobreposição das raízes do 2º molar sobre a imagem do defeito ósseo, utilizamos uma inclinação oclusal aproximada de 30º em relação ao plano horizontal (Figura 5). Na avaliação das imagens foi realizado um estudo cego e em duplicata de cada imagem, onde obtivemos um média por imagem e uma média por grupo da densidade radiográfica na região do defeito criado. A obtenção das imagens foi realizado no Departamento de Radiologia da UNESP-São José dos Campos.

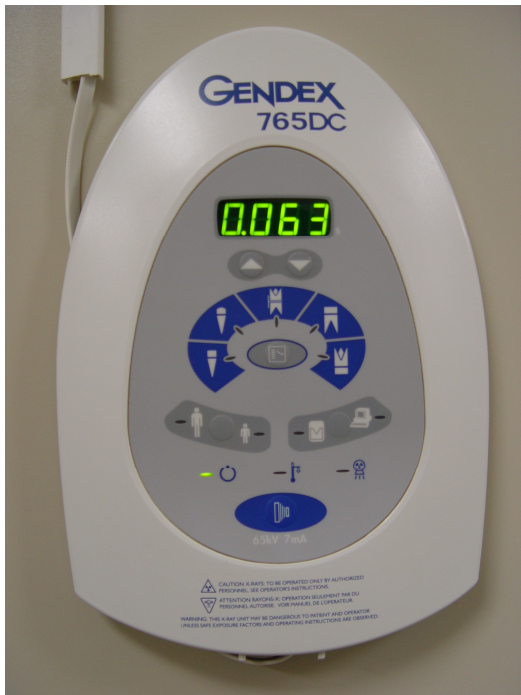


Figura 4 – Aparelho de Rx Gendex 765 DC (tempo de exposição 0,063 s)

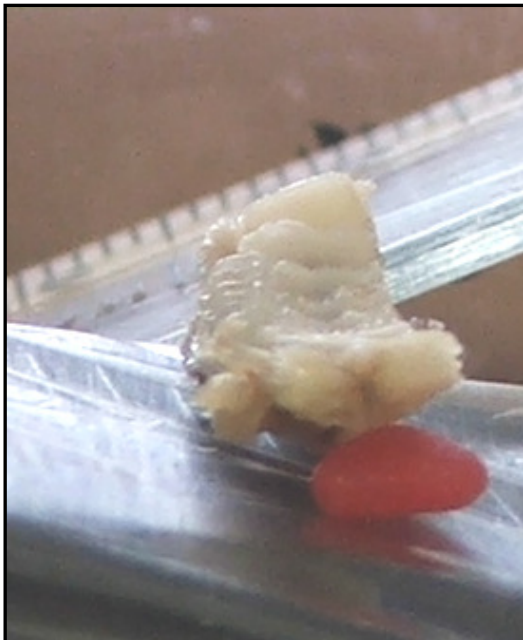


Figura 5 - Peça sobre o sensor com inclinação oclusal de 30° em relação ao plano oclusal

Estas imagens foram submetidas a uma análise de densidade radiográfica da área correspondente ao defeito ósseo criado cirurgicamente através do programa *Image Tool for Windows 2.0*, por tons de cinza obtidos das imagens.

A área de análise foi delimitada em todas as imagens radiográficas obtidas e só foi levada em consideração para análise esta área selecionada (Figura 6).



Figura 6 - Obtenção dos valores através de tons de cinza da área delimitada, pelo programa *Image Tool for Windows 2.0*

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A avaliação foi realizada duas vezes por imagem para obtenção de uma média. Os dados foram submetidos á análise de variância (ANOVA) sob dois critérios, sendo estes, o tratamento realizado e o tempo de intervalo de sacrifício. Quando observadas diferenças estatísticas significativas, estes dados foram submetidos ao teste de comparação múltipla de *Tukey* para a verificação da influência das variáveis nos resultados observados. Foi adotado o nível de significância de 5% ( $p=0,05$ ).



## 5 RESULTADOS

Através da avaliação da densidade óssea radiográfica das peças, foram obtidos valores individuais e as médias por grupos experimentais. Os valores expressos em tons de cinza da área radiográfica correspondente a região do defeito criado cirurgicamente, e estão dispostos na Tabela 1. Os resultados da análise de variância para os valores médios de densidade radiográfica (tons de cinza) entre os grupos apresentou um  $p=0,003$ .

**Tabela 1** - Valores das densidades ósseas radiográficas das áreas operadas expressas em valores obtidos pela diferença de tons de cinza

<b>Grupos</b>	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
<b>C7</b>	6	119,00	166,33	138,7217	17,90945
<b>C14</b>	6	103,33	161,00	129,9820	18,86986
<b>AL7</b>	6	126,67	149,67	136,0583	7,86415
<b>AL14</b>	6	137,67	161,67	146,9750	8,67378
<b>SIN7</b>	6	116,00	143,67	128,6117	10,12839
<b>SIN14</b>	6	113,67	142,33	128,8333	13,29309
<b>CN</b>	6	124,00	191,67	164,2217	25,23026

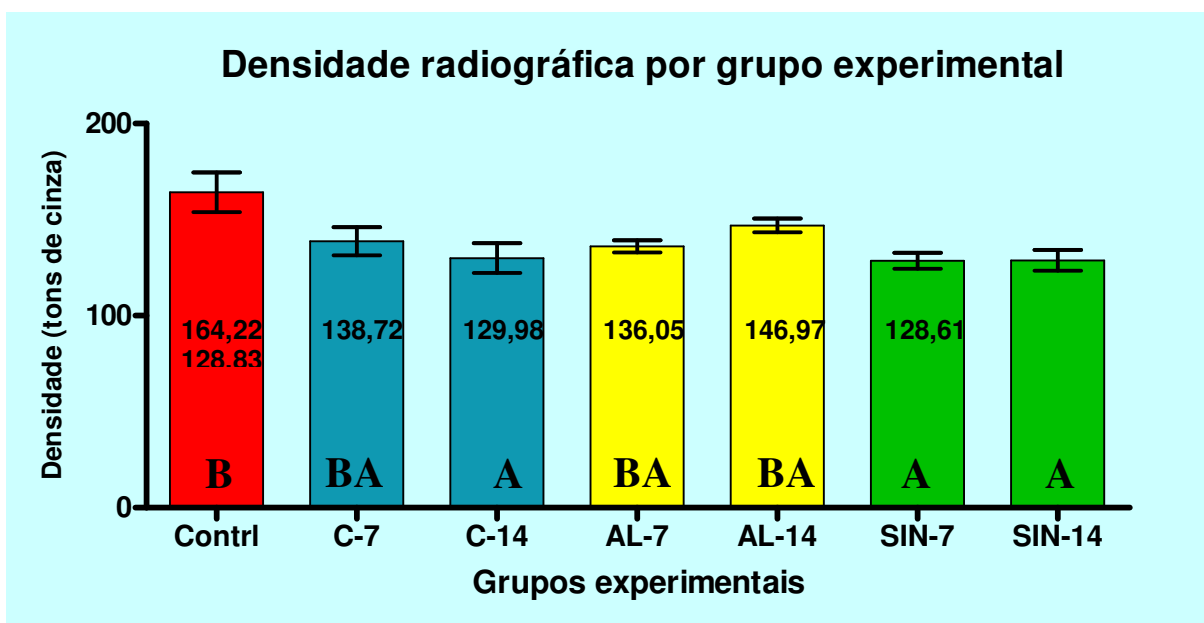
Controle (C7 e C14), Alendronato (AL7 e AL14), Sinvastatina (SIN7 e SIN14), Controle Negativo (CN) e Número da Amostra (N)

O grupo controle negativo (CN), apresentou o maior valor médio entre os grupos, como esperado, por não ter passado pelo procedimento cirúrgico e consequentemente apresentando a maior densidade óssea. O grupo C14, juntamente com os grupos experimentais SIN7 e SIN14, obtiveram os menores valores médios, ou seja, os piores resultados para densidade óssea, e em contra partida, o grupo experimental AL14 (alendronato de sódio de 14 dias), apresentou o

maior valor médio para densidade óssea radiográfica, seguido do grupo controle de 7 dias (C7). Entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, quando aplicamos o teste de Tukey para comparação entre os grupos, foi observada diferença entre o grupo CN em relação aos grupos C14 ( $p=0.006$ ), SIN14 ( $p=0.010$ ) e SIN7 ( $p=0.007$ ), segundo a Figura 7. A composição de grupos homogêneos (Figura 7) evidencia estas diferenças.

Os dados representativos da Tabela 1, plotados de forma planificada, estão expressos na Figura 7.

Figura 7 - Comparação da densidade óssea definida por tons de cinza pelos grupos experimentais (\*letras iguais=ausência de diferença significativa)



Quando levado em consideração apenas o tratamento realizado e não os tempos de sacrifício, observamos que o grupo AL obteve maior média de densidade óssea radiográfica quando comparado com os grupos sinvastatina e controle. Já o grupo sinvastatina apresentou o menor valor médio quando comparado ao grupo controle e o alendronato (Tabela 2). Porém, quando estes valores médios foram submetidos ao teste ANOVA os três tratamentos se mostraram

equivalentes com  $p=0,083$ . Os dados representativos apresentados na Tabela 2 estão plotados de forma planejada na Figura 8.

**Tabela 2** - Resultados da análise de variância considerando a variável tratamento

Tratamento	N	Médias $\pm$ Desvio Padrão
Controle	12	134,3518 $\pm$ 18,12393
Alendronato	12	141,5167 $\pm$ 9,73707
Sinvastatina	12	128,7225 $\pm$ 11,267782
<i>p</i>		0,083

Controle (C7 e C14), Alendronato (AL7 e AL14), Sinvastatina (SIN7 e SIN14), Número da Amostra (N) e Nível de significância (*p*)

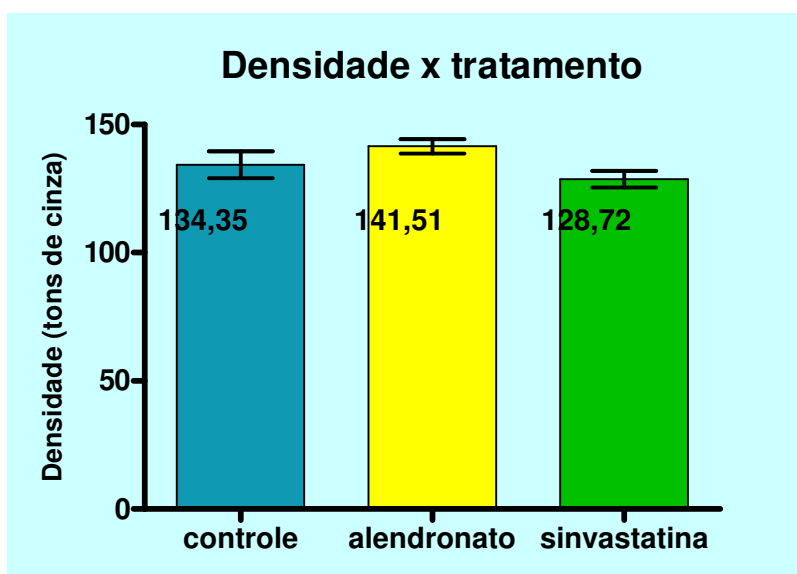


Figura 8 - Comparação da densidade por tons de cinza pelo tratamento farmacológico aplicado em cada grupo experimental

Levando em consideração apenas os tempos experimentais (sacrifícios no sétimo e 14<sup>o</sup>. dia), os valores médios observados da densidade radiográfica para os animais sacrificados aos 14 dias, apresentaram valores médios muito próximos

dos valores observados nos animais sacrificados aos sete dias, e foram estatisticamente equivalentes (Tabela 3).

**Tabela 3-** Médias e desvio padrão encontrados com o Teste ANOVA para cada tempo experimental

	<b>N</b>	<b>Médias ± Desvio Padrão</b>
<b>DIA 7</b>	18	134,4639 ± 12,73117
<b>DIA 14</b>	18	135,2634 ± 15,86425
<b>p</b>		0,869

Animais sacrificados no 7<sup>o</sup>.dia após procedimento cirúrgico (DIA 7), Animais sacrificados no 14<sup>o</sup>.dia após procedimento cirúrgico, Número da amostra (N) e Nível de significância (p)

Os dados representativos apresentados na tabela 3 estão plotados de forma planificada na figura abaixo (Figura 9).

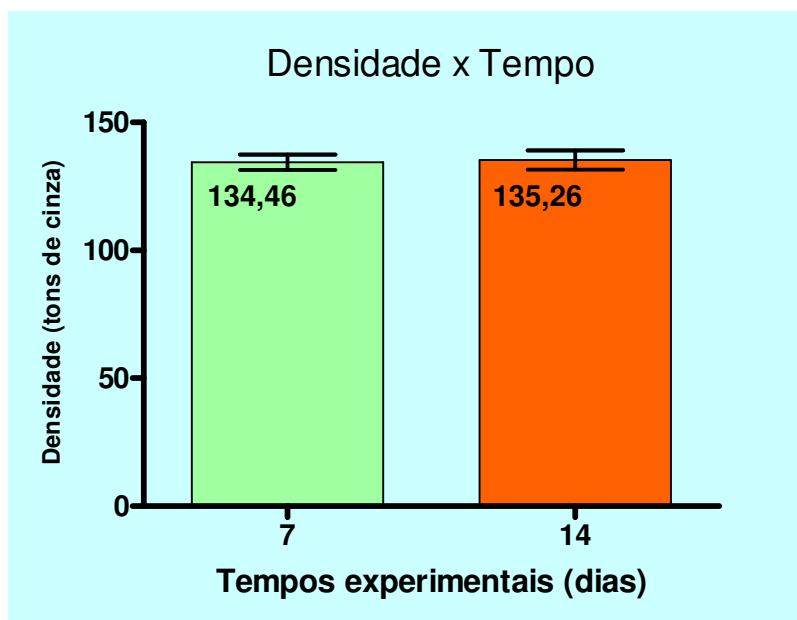


Figura 9 - Comparação da densidade óssea radiográfica por tons de cinza pelo tempo de sacrifício dos animais (tempos experimentais)

## 6 DISCUSSÃO

Na área médica já existem diversos trabalhos em humanos envolvendo o uso de bisfosfonatos, como o alendronato de sódio, já sendo uma droga bastante utilizada em alguns países, visando principalmente o controle da osteoporose entre outras doenças ósseas como também a osteogênese imperfeita do adulto. Normalmente o tratamento destas patologias é realizado com aplicação sistêmica deste medicamento (AKESSON, 2003; DONANGELO, COELHO; FARIAS, 2001). Na odontologia, alguns estudos têm sido realizados com a utilização de modelos animais associado tanto a um protocolo de administração sistêmica como de uso local (REDDY et al., 1995; YAFFE et al., 1999). Já, se considerarmos os estudos em humanos, poucos são os trabalhos encontrados na literatura em que se associa o uso deste medicamento e a resolução de patologias odontológicas, como por exemplo as periodontites (ROCHA et al., 2001; TAKAISHI et al., 2001). Devemos ainda ressaltar as limitações de uso do alendronato pela pouca aplicação em trabalhos com humanos na área odontológica e suas possíveis reações adversas como uma hipersensibilidade ao medicamento e até mesmo uma osteonecrose na região de aplicação.

A eficácia do uso local do alendronato de sódio quando aplicado localmente no tecido ósseo, ficou bem evidenciada no estudo de Yaffe (1999), o qual demonstrou a absorção da droga tanto no sítio cirúrgico como em sítios distantes do local aplicado, com a utilização de um alendronato marcado radioativamente, permitindo sua quantificação evidenciando a quantidade absorvida relacionando esta absorção à obtenção dos efeitos desejados.

A concentração do alendronato de sódio para a utilização local é um fator determinante para que ocorra sua absorção pelo tecido e a sua eficácia na modulação da reabsorção óssea. No presente estudo, a concentração de alendronato utilizada no sítio cirúrgico foi de 200 µg/mL. Esta concentração baseou-se nos estudos de Binderman, Adut e Yaffe (2000), nos quais foram testadas diferentes concentrações de alendronato de sódio para uso local e sistêmico, verificando que a mais eficaz para utilização local foi a de 200 µg/mL (alendronato de sódio 20%). Este estudo baseou-se em análise radiográfica de sítios cirúrgicos com levantamento de retalho mucoperiosteal em mandíbula de ratos.

A sinvastatina assim como diversas estatinas (mevastatina, lovastatina e cerivastatina) são medicamentos que atualmente têm sido utilizados na área médica com o objetivo de reduzir o nível de colesterol sanguíneo. Os resultados iniciais que demonstraram a relação entre tecido ósseo e estatinas foram observados em estudos *in vitro* (MAEDA et al., 2001; MUNDY et al., 1999; SONG et al., 2003; STAAL et al., 2003). A partir destes resultados outros estudos foram realizados em animais, principalmente ratos e coelhos, investigando a influência da aplicação tópica ou sistêmica deste medicamento sobre o metabolismo ósseo (JUNQUEIRA et al., 2002; MUNDY et al., 1999; OXLUND; ANDREASSEN, 2004; WONG; RABIE, 2003, 2005), com verificação de uma ação eficaz na concentração de 20% entre outras concentrações para a aplicação tópica. A ação deste medicamento sobre o aumento na formação de tecido ósseo foi observada por Mundy et al. (1999), num estudo no qual o aumento de BMP-2 em cultura de células estava associado à aplicação de estatinas (lovastatina, sinvastatina, mevastatina e fluvastatina). Este resultado foi novamente observado quando realizado *in vivo*, com

a aplicação de sinvastatina ou lovastatina de forma subcutânea, no qual se observou aumento de até 50% na formação óssea em osso parietal de camundongos jovens.

Uma das ferramentas de avaliação mais utilizadas nestes estudos envolvendo reparo, reabsorção ou nova formação de tecido ósseo é a análise radiográfica (BINDERMAN; ADUT; YAFFE, 2000; REDDY et al., 1995; SHOJI; HORIUCHI; SHINODA, 1995; YAFFE, 1995). Com a utilização de um grupo controle negativo (CN), no qual não foi realizado o procedimento cirúrgico e nem tratamento, propiciou um padrão de comparação para com os demais grupos que passaram pelo procedimento. Desta maneira tivemos uma densidade associada a uma região de remodelação óssea fisiológica (padrão de normalidade).

Considerando a interação dos diferentes tratamentos e prazos de eutanásia, observamos que houve pequena influência desta interação sobre a densidade radiográfica observadas nos grupos AL14, C7 e AL7, uma vez que estes grupos comportaram-se de forma equivalente ao CN. Porém, quando considerada a presença da cavidade cirúrgica, não foi observada diferença entre estes grupos. Estes resultados estão de acordo com o estudo de Yaffe et al. (1995), no qual também não foram observadas diferenças significativas entre o grupo alendronato e o grupo controle com avaliação aos 21 dias, quando utilizado aplicação tópica após levantamento de retalho mucoperiostal em mandíbula de ratos. Em outro estudo, Reddy et al. (1995), também observaram resultados equivalentes na análise da densidade radiográfica, quando o protocolo de utilização desta medicação foi à administração por via oral com avaliação após 3 meses. Já em outros estudos, a ação do alendronato na prevenção da reabsorção óssea pós-cirúrgica ficou bem evidenciada tanto por meio de avaliação radiográfica como também avaliações

histológicas (BINDERMAN; ADUT; YAFFE, 2000; KAYNAK et al., 2000; YAFFE et al., 1997). Todos estes estudos realizaram os sacrifícios aos 21 dias.

Quando levamos em consideração apenas o tratamento realizado (alendronato, sinvastatina ou controle), sem considerar os tempos experimentais (sete e 14 dias), o grupo AL apresentou valores médios de densidade maiores que no grupo SIN e no grupo controle, sendo que o grupo SIN apresentou a pior média entre os três grupos, porém estes resultados não apresentaram diferenças estatísticas significativas. Esta equivalência também foi observada quando a variável analisada foi o prazo de sacrifício uma vez que os valores médios de densidade aos sete e 14 dias foram muito próximos.

Junqueira et al. (2002), Oxlund e Andreassen (2004) e Wong e Rabie (2003, 2005) apresentaram resultados que demonstraram a influência da sinvastatina sobre a formação óssea quando comparada aos grupos controle de seus estudos, relatando formação de proteínas ósseas influenciando no processo de formação óssea. Entretanto, apenas os resultados de Wong e Rabie (2005) demonstraram eficácia na formação óssea em um tempo experimental menor do que 14 dias, avaliando os animais desde o primeiro até o sexto dia após a cirurgia. Os demais estudos citados acima realizaram suas avaliações a partir do 14º dia. É importante ressaltarmos que estes estudos avaliam o potencial da sinvastatina para a formação acelerada de proteínas ósseas (estudos *in vitro*) ou o seu potencial regenerador e neoformador de tecido ósseo (estudos *in vivo*). Por isso que maiores tempos experimentais provavelmente foram utilizados, diferentemente do nosso estudo que avaliou a influência desta medicação sobre a reabsorção óssea pós cirúrgica e não sobre a regeneração ou reparo ósseo no local, nos permitindo utilizar tempos experimentais menores (sete e 14 dias).



O controle de possíveis fatores de confusão em estudos com experimentação animal é um fator relevante para a comparação dos diferentes desfechos segundo cada variável testada no delineamento deste estudo. No presente estudo, o cuidado com a utilização de animais com pesos e idades equivalentes em todos os grupos experimentais, bem como, com a padronização das condições de alimentação, acomodação e ambientação durante todo o período experimental, foi uma medida importante para tentar minimizar as possíveis variações individuais de reparo tecidual próprios de cada animal. Ainda assim pode-se observar que, mesmo no grupo sem cavidade cirúrgica, houve grande variação na densidade radiográfica na região estudada. Sendo assim, os resultados observados neste estudo sugerem a investigação da influência do uso destes medicamentos sobre o reparo ósseo por meio de análises histológicas ou imunohistoquímicas que possam fornecer informações não só quantitativas, mas também qualitativas sobre os eventos de reparo ósseo pós-cirúrgico.

## **7 CONCLUSÃO**

Concluimos, baseados nos resultados deste estudo, que a utilização local de alendronato de sódio ou sinvastatina não influenciou a densidade radiográfica em maxila de ratos após cirurgia óssea com avaliação nos tempos experimentais de sete ou 14 dias.

## REFÊRENCIAS

AKESSON, K. New Approaches to Pharmacological Treatment of Osteoporosis. **Bull. World. Health. Organ.**, Geneva, v. 81, n. 9, p. 657-664, 2003.

BICKEL, M. et al. Citoquine Gene Expression in Choronic Periodontitis. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 28, n. 9, p. 840-847, Sept. 2001.

BINDERMAN, I.; ADUT, M.; YAFFE, A. Effectiveness of Local Delivery of Alendronate in Reducing Alveolar Bone Loss Following Periodontal Surgery in Rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 71, n. 8, p. 1236-1240, Aug. 2000.

BUDUNELI, E. et al. Effects of Combined Systemic Administration of Low-Dose Doxycycline and Alendronate on Endotoxin-Induced Periodontitis in Rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 75, n. 11, p. 1516-1523, Nov. 2004.

DIAS, V. T. et al. Influência da utilização local de alendronato na reabsorção óssea maxilar em ratos. **Pesq. Odontol. Brás.**, São Paulo, v. 19, p. 66, July 2005.

DONANGELO, I.; COELHO, S. M.; FARIAS, M. L. F. Osteogênese Imperfeita no Adulto e Resposta ao Alendronato. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 3, p. 309-313, June 2001.

GARRETT, I. R. et al. Cerivastatin Increases BMP-2 Expression *In Vivo* and Bone Formation in Concentrations of Two Orders of Magnitude Lower Than Other Statins. **J. Bone. Miner. Res.**, Washington, v. 14, suppl. 1, p. 180, 1999.

GARRETT, I. R.; MUNDY, G. R. The Role of Estatins as Potential Targets for Bone Formation. **Arthritis Res.**, v. 4, n. 4, p. 237-240, Feb. 2002.

JUNQUEIRA, J. C. et al. Effects of Simvastatin on Bone Regeneration in the Mandibles of Ovariectomized Rats and on Blood Cholesteros Levels. **J. Oral Sci.**, Tokyo, v. 44, n. 3/4, p. 117-124, Aug. 2002.

KAYNAK, D., et al. A Histopatological Investigation on the Bisphosphonate on Resorptive Phase Following Mucoperiosteal Flap Surgery in the Mandible of Rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 71, n. 5, p. 790-796, May 2000.

LLAVANERAS, A. et al. A Combination of a Chemically Modified Doxycycline and a Bisphosphonate Synergistically Inhibits Endotoxin-Induced Periodontal Breakdown in Rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 72, n. 8, p. 1069-1077, Aug. 2001.

MAEDA, T. et al. Simvastatin Promotes Osteoblast Differentiation and Mineralization in MC3T3-E1 Cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, Orlando, v. 280, n. 3, p. 874-877, Jan. 2001.

MARTIN, T. J. et al. Bisphosphonates- Mechanism of Action. **Exp. Clin. Pharm.**, v. 23, n. 6, p. 130-132, Nov. 2000.

MUNDY, G. et al. Stimulation of Bone Formation in Vitro and in Rodents by Statins. **Science.**, Washington, v. 286, n. 5446, p. 1946-1949, Dec. 1999.

OXLUND, H; ANDREASSEN, T. T. Simvastatin Treatment Partially Prevents Ovariectomy-Induced Bone Loss While Increasing Cortical Bone Formation, **Bone.**, New York, v. 34, n. 4, p.609-618, Apr. 2004.

REDDY, M. S. et al. Alendronate Treatment of Naturally Occurring Periodontitis in Beagle Dogs. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 66, n. 3, p. 211-217, Mar. 1995.

ROCHA, M. et al. Clinical and Radiological Improvement of Periodontal Disease in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus Treated With Alendronate: A Randomized Placebo-Controlled Trial. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 72, n. 2, p. 204-209, Feb. 2001.

ROGERS, M. J. et al. Molecular Mechanisms of Action of Bisphosphonates. **Bone.**, New York, v. 24, n. 5, suppl., p.73-79, May 1999.

SALVI, G. E.; LANG, N. P. Host Response Modulation in the Management of Periodontal Diseases. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 32, Suppl. 6, p. 108-129, Apr. 2005.

SHOJI K.; HORIUCHI H.; SHINODA, H. Inhibitory Effects of a Bisphosphonate (Risedronate) on Experimental Periodontitis in Rats. **J. Periodontol. Res.**, Copenhagen, v. 30, n. 4, p. 277-284, July 1995.

SONG, C. et al. Simvastatine Induces Osteoblastic Differentiation and Inhibits Adipocytic Differentiation in Mouse Bone Marrow Stromal Cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, Orlando, v. 308, n. 3, p. 458-462, Aug. 2003.

STAAL, A. et al. The Ability of Statins to Inhibit Bone Resorption Is Directly Related to Their Inhibitory Effect on HMG-CoA Reductase Activity. **J. Bone. Miner. Res.**, Washington, v. 18, n. 1, p. 88-96, Jan. 2003.

TAKAISHI, Y. et al. Clinical Effect of Etidronate on Alveolar Pyorrhea Associated With Chronic Marginal Periodontitis: Report of Four Cases. **J. Inter. Med. Research.**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 355-365, July/Aug. 2001.

THUNYAKITPISAL, P. D.; CHAISUPARAT, R. Simvastatin, an HMG-CoA Reductase Inhibitor, Reduced the Expression of Matrix Metalloproteinase-9 (Gelatinase B) in Osteoblastic Cells and HT1080 Fibrosarcoma Cells. **J Pharmacol Sci.**, v. 94, p. 402-409, Feb. 2004.

THYLIN, M. R. et al. Effects of Simvastatin Gels on Murine Calvarial Bone. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 73, n. 10, p. 1141-1148, Oct. 2002.

WEINREB, M. et al. Histomorphometrical Analysis of the Effects of the Bisphosphonate Alendronate on Bone Loss Caused by Experimental Periodontitis in Monkeys. **J. Periodontol. Res.**, Copenhagen, v. 29, n.1, p. 35-40, Jan. 1994.

WONG, R. W. K.; RABIE, A. B. M. Statin Collagen Grafts Used to Repair Defects in The Parietal Bone of Rabbits. **J. Oral. Maxillofac. Surg.**, Edinburgh, v. 41, n. 4, p. 244-248, Aug. 2003.

WONG, R. W. K.; RABIE, A. B. M. Early Healing Pattern of Statin-Induced Osteogenesis. **J. Oral. Maxillofac. Surg.**, Edinburgh, v. 43, n. 1, p. 46-50, Feb. 2005.

YAFFE, A. et al. Disposition of Alendronate Following Local Delivery in a Rat Jaw. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 70, n. 8, p. 893-895, Aug. 1999.

YAFFE, A. et al. Local Delivery of an Amino Bisphosphonate Prevents the Resorptive Phase of Alveolar Bone Following Mucoperiosteal Flap Surgery in Rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 68, n. 9, p. 884-889, Sept. 1997.

YAFFE, A. et al. The Effect of Bisphosphonate on Alveolar Bone Resorption Following Mucoperiosteal Flap Surgery in the Mandible of Rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 66, n. 11, p. 999-1003, Nov. 1995.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)