



UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL
CURSO DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NÍVEL: MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRÓTESE DENTÁRIA

**PERDA ÓSSEA ALVEOLAR: EFEITO DO RALOXIFENO E DO TEMPO
EXPERIMENTAL APÓS CIRURGIA DE RETALHO MUCOPERIÓSTEO EM
CAMUNDONGOS**

CRISTIANE DE ALENCAR OLIVEIRA

**CANOAS - RS
2008**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Cristiane de Alencar Oliveira

**PERDA ÓSSEA ALVEOLAR: EFEITO DO RALOXIFENO E DO TEMPO
EXPERIMENTAL APÓS CIRURGIA DE RETALHO MUCOPERIÓSTEO EM
CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Odontologia do Curso de Odontologia da Universidade Luterana do Brasil como requisito final para obtenção do título de mestre em Odontologia, área de concentração: Prótese Dentária

Orientador: Profa. Dra. Elken Gomes Rivaldo

**CANOAS - RS
2008**

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado ao papai e à mamãe, **Élson e Wilracy**, meu esteio, porto seguro, fontes de amor incondicional, carinho e dedicação. Exemplos de determinação, responsabilidade, força, humildade, honradez... Não existem palavras para exprimir o que representam para mim. Se hoje concluo mais uma etapa, é porque os tenho comigo. Portanto, essa conquista é nossa. Muito obrigada por fazerem parte da minha vida. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A **Deus** que me deu conforto espiritual e colocou em minha vida todas as pessoas que acompanharam esta importante etapa. Se não fosse pela Vossa vontade não teria chegado até aqui.

À minha amiga e irmã, **Fernanda Alencar**. Caminhamos de mãos dadas, e tenho a convicção de que isso tornou esta caminhada menos árdua. Obrigada pelo apoio e carinho e pela compreensão nos meus momentos de impaciência.

Ao meu querido irmão, **Wilson Alencar**, que me deu apoio, torceu por mim e acreditou no meu sucesso, mostrando-se, a todo o momento, disposto a ajudar com suas idéias mirabolantes.

À professora, amiga e orientadora **Elken Rivaldo**, agradeço por ter acreditado no meu potencial, pelo voto de confiança e por ter me apoiado em tudo o que precisei. Também sou grata pelos puxões de orelha que me fizeram evoluir e me tornar não só uma profissional, mas, sobretudo, uma pessoa melhor.

À professora **Dalva Padilha**, pelas importantes contribuições dadas em todas as etapas deste trabalho.

À professora **Juliana Hilgert**, peça fundamental na conclusão deste trabalho. Apesar da pouca convivência posso dizer que sua dedicação e competência me inspiraram e deram força no final deste percurso. Muito obrigada.

À professora **Sabrina Gomes**, pelo incentivo para a iniciação no curso de mestrado. Agradeço por despertar em mim um senso investigativo e questionador, importante não só na docência e na condução de pesquisas, mas na minha vida como um todo.

À minha grande amiga e parceira, **Flaviane Wobido**, que trilhou este caminho ao meu lado. Obrigada por compartilhar comigo sua alegria e pelas palavras de

incentivo, sempre com um jeitinho especial de fazer com que tudo parecesse mais simples.

À amiga **Camila Marx**, que além de me auxiliar efetivamente na realização deste trabalho, também acompanhou minha evolução neste curso, mostrando-se sempre disposta a ajudar no que fosse necessário, sem um senão ou talvez.

Aos amigos, **Edna Kleinert, Cristiano Ebert e Juliano Ebert**, por me acolherem em seu ambiente familiar e participarem desta importante etapa da minha vida. Especialmente à Edna que acompanhou de perto a conclusão deste trabalho, me apoiou e tolerou meus momentos de estresse com muito carinho e atenção.

Aos professores da ULBRA, especialmente àqueles da área de concentração em Prótese Dentária, professores **Eduardo Fernandes, Luis Carlos Frasca, Mieko Nakamura, Luis Arthur Lopes**. Agradeço por todo o conhecimento transmitido, pela paciência e pela oportunidade de tê-los como mestres.

Aos funcionários da ULBRA, **Dhiovana, Adriano, Fernando, Juliano, Meri, Idalina**, que desempenharam com competência a sua função e estiveram, a todo o momento, dispostos a ajudar no que fosse necessário.

A todos os colegas do curso de mestrado e de doutorado por compartilharem das mesmas dificuldades e também das alegrias.

À **Universidade Luterana do Brasil** por ter oportunizado todo o conhecimento adquirido.

À **Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**, por ter disponibilizado suas instalações e um equipamento fundamental na realização deste trabalho. Em especial à **Raquel**, funcionária desta instituição, por ter me auxiliado no manuseio do equipamento, tendo sido prestativa e atenciosa durante todo o tempo.

À Universidade Federal do Rio Grande Sul, em especial ao departamento de histologia e microscopia, por gentilmente ter permitido a utilização de um equipamento imprescindível para avaliação realizada em nosso estudo.

“De tudo, ficaram três coisas: a certeza de que estava sempre começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria interrompido antes de terminar. Fazer da interrupção um caminho novo. Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sono uma ponte, da procura um encontro”.

Fernando Sabino

RESUMO

Cirurgias de retalho mucoperiósteo (CRM) são rotineiramente realizadas na odontologia para acesso ao osso alveolar. Com a realização de CRM, alguns efeitos indesejados, incluindo a perda óssea alveolar (POA), são freqüentes e podem causar um impacto negativo na reabilitação oral. Diversos estudos em roedores vêm sendo desenvolvidos focados na prevenção da POA. O raloxifeno é uma droga indicada no tratamento da osteoporose, pois inibe a perda óssea. O objetivo deste estudo foi avaliar se o raloxifeno previne a POA induzida por CRM e avaliar se existem diferenças na POA em relação ao tempo (*i.e.* 10 ou 21 dias após CRM). Foi realizada CRM na face vestibular, lado esquerdo (VE) em mandíbulas de 40 camundongos CF1 *Mus domesticus*, divididos em dois grupos: experimento (injeções diárias de raloxifeno 3mg/Kg) e placebo (injeções diárias do veículo). O lado direito (VD) foi usado como controle. A eutanásia dos animais foi realizada sob anestesia 10 e 21 dias após a CRM. As mandíbulas foram removidas, limpas e coradas com azul de toluidina. Imagens digitais foram capturadas em microscópio e então, medidas da POA foram realizadas por um examinador cego, como área de superfície de raiz exposta (mm²) usando um software de análise de imagens. O teste-t Student foi utilizado para comparação de médias entre os grupos controle e teste e placebo e experimento. A VE mostrou perda significativamente maior ($p < 0,01$) quando comparada a VD. Não houve diferença significativa em relação à POA entre os grupos experimento e placebo independente do lado, da face e do tempo experimental. Além disso, não foi possível observar diferença na POA em relação ao tempo de tratamento. Os resultados sugerem que estudos de POA podem ser conduzidos em camundongos reduzindo-se o tempo experimental. Os resultados também sugerem que o raloxifeno, neste modelo experimental, não reduz a POA que segue CRM.

Palavras Chave: perda óssea alveolar, raloxifeno, camundongos.

ABSTRACT

Mucoperiosteal flap surgeries (MFS) are largely used in Dentistry to access alveolar bone. By performing MFS, some undesirable effects, including alveolar bone loss (ABL), are frequent and may impact negatively on oral rehabilitation. Several studies in rodents have been performed with focus on preventing ABL. Raloxifene is a drug used in osteoporosis treatment, acting on the inhibition of bone loss. The aim of this study were to evaluate if raloxifene prevented MFS induced ABL and to evaluate if there were differences in ABL regarding the time (i.e. 10 or 21 days after MFS). MFS was performed on the buccal aspect of the left side of the mandible in 40 CF1 *Mus domesticus* mice, divided into two groups as follows: experimental (raloxifene injected daily) and placebo (vehicle injected daily). The buccal aspects of right mandibles were used as controls. Animals were killed under anesthesia 10 or 21 days after MFS. Mandibles were removed, defleshed, stained with toluidine blue. Digital images were captured and then ABL was measured as the exposed root surface area (mm²). Blinded measurements were performed using a computer-assisted image analysis system. The Student t-test was performed for comparison between averages of control and test groups, as well as placebo and experiment. The left side area showed significantly higher loss ($p < 0.01$) compared to the right side area. There was no significant difference in respect to ABL between experiment and placebo groups, independent of the side, face and experimental time. Moreover, no difference was observed in ABL regarding time of treatment. The results suggest that alveolar bone loss studies could be conducted in mice reducing the time of the experiment. The results also suggest, in this experimental model, that raloxifene does not reduce ABL followed by MFS.

Key Words: alveolar bone loss, raloxifene, mice

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	4
RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 O Tecido Ósseo	17
2.2 Perda óssea Alveolar	18
2.3 Farmacoterapia na Perda óssea Alveolar	21
2.3.1 O Raloxifeno	23
3 PROPOSIÇÃO	25
4 ARTIGOS CIENTÍFICOS	27
4.1 Eficácia do raloxifeno na reabsorção óssea alveolar que segue cirurgias de retalho mucoperiósteo em camundongos	28
4.2 Perda Óssea Alveolar: um modelo de estudo de tempo curto em camundongos	44
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
7 ANEXOS	62
7.1 Aprovação No Comitê De Ética	63
7.2 Instruções De Publicação Para Os Autores - Journal Of Periodontology	64
7.3 Instruções De Publicação Para Os Autores - Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science	73

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

FIGURA 1 – Representação da perda óssea alveolar..... 43

FIGURA 2 – Média de perda óssea alveolar (mm²) 43

ARTIGO 2

FIGURA 1 – Ilustração dos pontos utilizados para definir a área de perda óssea alveolar 50

FIGURA 2 – Média de perda óssea alveolar (mm²) dos grupos controle e teste 51

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CRM	: Cirurgia de retalho mucoperiósteo
POA	: Perda óssea alveolar
DMO	: Densidade mineral óssea
RAP	: Regional accelerated phenomenon
SERM	: Modulador seletivo do receptor de estrogênio
VE	: Vestibular esquerda
VD	: Vestibular direita
GE	: Grupo experimento
GP	: Grupo placebo
LE	: Lingual esquerda
LD	: Lingual direita
JCE	: Junção cimento esmalte
TNF- α	: Fator de necrose tumoral - alfa
β	: beta
®	: Marca registrada
™	: Marca comercial

1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo pode ser considerado uma estrutura muito plástica apesar da sua dureza e resistência às pressões, na medida em que é capaz de remodelar sua estrutura interna em resposta a modificações provocadas pelas forças a que está submetido (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008; LAM, 1960).

Em circunstâncias normais, massa e volume ósseo são mantidos por meio do contínuo remodelamento ósseo em que um processo de constante reabsorção e aposição acontece (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008; MARX e GARG, 1998). Contudo, existem alguns fatores que podem levar ao desequilíbrio desta condição, e se a aposição não ocorre de maneira a compensar a ação osteoclástica, ocorre a reabsorção óssea. Segundo Budtz-Jørgensen (1999) os fatores envolvidos na reabsorção óssea alveolar podem ser locais e/ou gerais.

Na Odontologia, um fator local que merece destaque é a exposição cirúrgica do osso, na medida em que é um procedimento corriqueiramente executado. Sabe-se que os descolamentos de retalho, necessários para a exposição do tecido ósseo, desencadeiam um processo de remodelação óssea por estímulo da atividade osteoclástica (YAFEE et al., 1994, YAFEE et al., 1995, STAFFILENO, WENTZ e ORBAN, 1962).

A reabsorção óssea alveolar é indesejada, pois pode influenciar negativamente o sucesso do tratamento reabilitador com próteses fixas ou removíveis comprometendo a estética e a função (ATWOOD, 2001). Portanto, um meio de prevenir esta reabsorção óssea tem sido um constante objeto de pesquisa.

Inúmeros experimentos, em roedores (ratos, camundongos), foram realizados em um tempo experimental de 21 dias, para avaliar a perda óssea alveolar (POA) ou mesmo testar fármacos que possam prevenir a mesma (YAFFE et al., 1995; YAFFE et al., 1997; BINDERMAN et al., 2000; KAYNAK et al., 2000; KAYNAK et al., 2003; RIVALDO, PADILHA, HUGO, 2005). No entanto, nos intriga a possibilidade da realização de pesquisas em menor tempo experimental na medida em que há evidências de máxima proliferação de osteoclastos 10 dias após CRM. (GREVSTAD, BOE, 1995).

Drogas de aplicação sistêmica ou local como os bifosfonatos, doxiciclina e a tetraciclina tiveram seus efeitos demonstrados na inibição da

POA (YAFFE et al., 1995; YAFFE et al., 1997; YAFFE et al, 2000; BINDERMAN et al., 2000; KAYNAK et al., 2003, YAFFE et al, 2003; GREVSTAD, 1993; GREVSTAD, BOE,1995), no entanto a indústria farmacêutica vem buscando novas alternativas com intuito de prevenir esta reabsorção com o mínimo de efeitos colaterais. Assim, foi desenvolvido o raloxifeno, um modulador seletivo do receptor de estrogênio da classe dos benzotiofenos. Este fármaco tem demonstrado ser eficaz na prevenção da perda óssea em roedores, por meio da inibição da reabsorção óssea e do remodelamento (BLACK et al, 1994; EVANS et al, 1994; ERLANDSSON et al, 2002), no entanto nenhum destes estudos demonstrou a ação do raloxifeno nos ossos maxilares.

Prevenir a perda óssea alveolar é importante. Os resultados obtidos com a utilização do raloxifeno são promissores (BLACK et al, 1994; EVANS et al, 1994; WALSH et al, 1998; ERLANDSSON et al, 2002; BROULIK, BROULIKOVÁ, 2007) e sugerem a indicação deste quando a reabsorção óssea alveolar é esperada. A possibilidade de redução de custos e do tempo na condução de pesquisas que envolvem esta problemática também é bastante atraente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O Tecido Ósseo

O metabolismo e fisiologia do tecido ósseo estão relacionados a três tipos celulares: osteoblastos, osteócitos e osteoclastos (KATCHBURIAN e ARANA, 1989; MEGHJI, 1992). Os osteoblastos estão associados ao processo de osteogênese e produzem moléculas da matriz orgânica do osso cujo componente mais abundante é o colágeno do tipo I. Por esta razão, essas células apresentam características ultra-estruturais típicas da sua função, isto é, a síntese e secreção de macromoléculas da matriz. Os osteoblastos, quando não estão formando matriz, são células de revestimento ósseo, podendo voltar à síntese e secreção de matriz se houver necessidade de nova formação óssea. Também funcionam como receptores e transmissores de sinais para remodelação (KATCHBURIAN e ARANA, 1989).

O osteócito é um osteoblasto maduro dentro da matriz óssea, sendo responsável pela sua manutenção, é a célula mais abundante do osso. O papel preciso dos osteócitos ainda é incerto. Existe a possibilidade destas células estarem envolvidas na regulação biomecânica da estrutura e massa óssea (NIJWEIDE et al., 1996).

Os osteoclastos, histologicamente, aparecem como células gigantes multinucleadas e são responsáveis pela reabsorção dos tecidos mineralizados como o osso, a dentina e as cartilagens. A reabsorção dos tecidos mineralizados é obrigatória para a maturação normal do esqueleto, incluindo o crescimento e o remodelamento ósseo, bem como a erupção dentária. No entanto, tem sido discutido que a necessidade da reabsorção óssea é oriunda da importância de se manter a homeostase do cálcio e da hematopoiese e que estas células de reabsorção teriam sido, originalmente, desenvolvidas para apoio destas funções vitais (STEIN et al., 1996). Acredita-se que os progenitores dos osteoclastos são de origem hematopoiética, talvez da linhagem monócito-fagocítica, sendo estes recrutados de tecidos hematopoiéticos como a medula óssea, via sangue circulante (KATCHBURIAN e ARANA, 1989; SUDA, UDAGAWA, TAKAHASHI, 1996).

Apesar de aparentemente inerte, o osso é um tecido vivo e dinâmico, que exerce as funções básicas de prover a integridade mecânica para a locomoção e proteção e de mediar rotas metabólicas associadas a

homeostase mineral. Ao longo da vida, fenômenos simultâneos de reabsorção e aposição óssea constituem o processo de remodelação do osso cortical e do esponjoso (GUYTON, 1977; NEVES, 2001). Assim, aproximadamente 0,7% do esqueleto humano é reabsorvido diariamente e substituído por osso novo. Um remodelamento de todo o esqueleto se dá em cerca de 142 dias (MARX, GARG, 1998).

É provável que a principal razão para a ocorrência deste processo seja a de capacitar o osso a responder e se adaptar ao estresse mecânico. O remodelamento também permite ao osso reparar micro fraturas, mantendo assim sua dureza, e participar do metabolismo mineral sérico (OTT, 1996). A velocidade de reabsorção e a velocidade de formação óssea são iguais, de modo que a massa óssea total permanece constante. Em estados patológicos, ocorre um desequilíbrio, prevalecendo um dos processos (BEZZERRA, LENHARO, 2002).

Pødenphant e Engel (1987) avaliaram 24 locais diferentes no esqueleto e observaram grandes variações regionais na formação óssea, e assim levantaram a hipótese de que o remodelamento ósseo é sítio específico. Outros estudos confirmam esta hipótese ao demonstrarem que os ossos maxilares apresentam um comportamento diferente frente aos diversos desafios sistêmicos quando comparados aos demais ossos do esqueleto (MORIYA, ITO, MURAI, 1998; VERNA, MELSEN, MELSEN, 1999; LINDH, OBRANT, PETERSON, 2004; DRAGE et al., 2007).

Drage et al (2007) investigaram se há uma relação entre a densidade mineral óssea (DMO) dos maxilares (mandíbula e maxila) e outros locais do esqueleto, para tanto avaliaram exames de absorptometria de energia dual de raios-x observando a espinha lombar, quadris, mandíbula (ramo, corpo e sínfise) e região anterior de maxila de pacientes edêntulos. Concluíram que a observação da DMO de diferentes ossos do corpo não pode ser usada para prever a DMO nos maxilares.

2.2 Perda óssea Alveolar

O osso alveolar, em conjunto com o ligamento periodontal e fibras colágenas compõem o periodonto de sustentação (KATCHBURIAN e ARANA,

1989). É formado com a erupção dentária (simultaneamente à formação do cimento e do ligamento periodontal) e está sujeito a um processo de atrofia, reduzindo-se progressivamente após a perda dos dentes (TALLGREN, 2003; ATWOOD, 1971).

Em circunstâncias normais o processo de remodelação mantém-se em homeostase, de tal forma que a reabsorção é igual à formação, e assim, volume e massa óssea são mantidos constantes. Um desequilíbrio deste processo, por razões fisiológicas e/ou patológicas, com redução na formação em relação à reabsorção, leva à perda óssea (TORRES, 2002; MARX e GARG, 1998; KATCHBURIAN e ARANA, 1989).

A velocidade da perda óssea alveolar (POA) pode variar de indivíduo para indivíduo, no mesmo indivíduo em períodos diferentes e no mesmo período de região para região (TALLGREN, 2003; ATWOOD, 1971).

Segundo Budtz-jørgensen, os fatores envolvidos na reabsorção óssea são divididos em locais e gerais. Os locais são: exposição cirúrgica do osso, perda do ligamento periodontal, período de edentulismo, carga excessiva de compressão sobre o rebordo, uso noturno de prótese e instabilidade oclusal. Entre os sistêmicos podemos citar a osteoporose associada ao sexo, à idade e à nutrição, bem como à deficiência de cálcio e vitamina D (BUDTZ-JØRGENSEN, 1999).

Um fator local que merece especial atenção no âmbito da Odontologia é a exposição cirúrgica do osso, pois este procedimento é realizado em diversas situações clínicas, seja para obter acesso à superfície radicular ou no tratamento cirúrgico restaurador, periodontal, paraendodôntico, reabilitador, na colocação de implantes e também na remoção cirúrgica de dentes e/ou processos patológicos, entre outros.

A reabsorção do osso alveolar decorrente da exposição cirúrgica do mesmo tem sido avaliada em animais de laboratório. Esta reabsorção é denominada de Fenômeno Regional Acelerado, em inglês, Regional Accelerated Phenomenon (RAP) (FROST, 1989; FROST, 1989).

Este fenômeno foi observado após cirurgias ortopédicas em ossos longos (FROST, 1989; FROST, 1989) e após cirurgia de colocação de implantes (ROBERTS et al., 1987; ROBERTS, 1988). Yaffe, Fine e Binderman (1994) investigaram se o RAP acontece seguindo cirurgias de retalho no osso

mandibular de ratos Wistar, e se este fenômeno poderia causar irregularidades no osso alveolar. Retalhos mucoperiósteo foram realizados e o reparo tecidual foi monitorado usando micro-radiografias de alta resolução de raios-X. Observaram que o fenômeno ocorre, havendo remodelação do osso cortical com a maior reabsorção detectada aos 21 dias pós-cirúrgicos.

Wood et al (1972) avaliaram a resposta óssea frente a cirurgias de retalho de espessura total e parcial. Utilizando um dispositivo metálico com marcações puderam acompanhar as alterações dimensionais da crista óssea alveolar e observaram que há uma perda de altura estatisticamente significativa.

Como é sabido, a realização de CRM com abordagem coronal causa grande reabsorção do osso alveolar, Binderman et al. (2001) observaram se a abordagem apical provoca efeitos similares na POA. Foram realizadas cirurgias em mandíbulas de 18 ratos Wistar de maneira que para um grupo a técnica de escolha foi abordagem coronal com incisão na altura da gengiva marginal, e para outro grupo optou-se pela abordagem apical na altura do ápice das raízes dos molares inferiores. Análises micro-radiográficas em secções transversais na altura dos molares, bem como a avaliação histológica, mostraram não haver POA significativa na abordagem apical. Os resultados deste estudo sugerem a necessidade da interrupção da integridade da gengiva marginal para que a POA seja desencadeada.

Al-Rasheed e colaboradores (2003) buscaram um modelo em animais para estudar a POA. Camundongos machos com deficiência de interleucina-10 e normais foram utilizados. Ao completar sete meses, os animais foram mortos e as hemi mandíbulas medidas para POA. Os resultados permitiram concluir que camundongos com deficiência de interleucina-10 perdem de 30 a 40% mais osso alveolar que os normais. Os autores sugerem estes como modelo para estudos de POA.

Com este mesmo objetivo Rivaldo, Padilha e Hugo (2005) realizaram CRM em camundongos machos, fêmeas paridas e fêmeas sem parição com 3-, 6-, 9- e 12 meses e então 21 dias após a intervenção, a POA foi medida como a área de raiz exposta (mm²). Os resultados obtidos sugeriram que camundongos com 3 meses de idade independente do sexo e parição podem ser um modelo útil para estudos de POA e envelhecimento.

A escolha adequada da metodologia para avaliação da POA é imprescindível, portanto alguns estudos foram desenvolvidos dentro deste campo. A comparação de duas técnicas de medição da POA em roedores foi realizada por Hilgert et al. (2002) que verificaram excelente confiabilidade das técnicas ponto a ponto e de área delimitada.

Com o objetivo de determinar a reprodutibilidade de um dispositivo posicionador e de um método de medição de área de POA, Rivaldo et al (2007) realizaram um estudo em hemi mandíbulas de camundongos. Foram fabricados dois dispositivos posicionadores, um para a face lingual e outro para a face vestibular, para que as hemi mandíbulas pudessem ser mantidas em posição padronizada. Dois examinadores cegos fizeram as medidas de área radicular exposta e os resultados indicaram que a metodologia para avaliação da área de POA e o dispositivo posicionador representam técnicas úteis para estudo em camundongos.

2.3 Farmacoterapia na Perda óssea Alveolar

A reabsorção óssea que ocorre durante o processo de reparo após CRM é um processo irreversível, portanto a utilização de drogas na prevenção e/ou minimização da POA tem sido um constante objeto de pesquisa. (GREVSTAD, 1993; GREVSTAD , BOE, 1995; YAFFE et al., 1995; YAFFE et al., 1997; YAFFE et al., 1999, BINDERMAN, ADUT, YAFFE, 2000; YAFFE et al., 2000; KAYNAK et al, 2003; YAFFE et al., 2003).

Os bifosfonatos são compostos sintéticos largamente utilizados para o tratamento de perda óssea sistêmica por processo de depleção de estrogênio (RODAN, 1998). Assim, Yaffe et al. (1997) exploraram a eficácia deste medicamento e relataram redução significativa na reabsorção ativada por CRM ao avaliarem secções vestibulo-linguais de micro-radiografias de alta resolução, no entanto quando mediram a área de osso entre a junção cimento esmalte (JCE) e o ápice radicular os valores foram similares entre os animais tratados com o medicamento e aqueles que receberam solução salina.

A eficácia do alendronato também já foi investigada. Os resultados obtidos a partir de análises histológicas sugeriram que este fármaco

é eficaz na inibição da perda óssea (YAFFE et al., 2003; KAYNAK et al., 2003). Menezes et al. (2005) avaliaram a ação deste medicamento na POA, induzida por ligaduras, medindo a distância entre a ponta de cúspide e o osso alveolar em molares inferiores de ratos, e observaram a inibição da reabsorção óssea alveolar.

Binderman, Adut e Yaffe (2000) investigaram a ação da aplicação local de alendronato em reduzir a POA testando colocação no sítio cirúrgico ou na submucosa das bochechas no lado oposto. Assim, realizaram cirurgia de retalho mucoperiósteo em 128 ratos Wistar e aplicaram o medicamento/placebo dividindo os animais em grupos de mesmo tamanho. A análise da POA foi realizada por micro radiografias em secções méso-distais e permitiu que os autores concluíssem que a aplicação tópica de alendronato no momento da cirurgia reduz a perda óssea em procedimentos que envolvem cirurgias de retalho mucoperiósteo.

Ao ser associado à tetraciclina, este fármaco também se mostrou eficaz na redução de POA, sugerindo um efeito sinérgico quando combinados (YAFFE et al., 2003).

A influência da aplicação sistêmica de doxiciclina no recrutamento de osteoclastos induzidos cirurgicamente por retalho mucoperiósteo foi avaliada por Grevstad e Boe (1995) em 50 ratos. Por meio de análise microscópica observaram que a administração sistêmica de doxiciclina retarda a colonização inicial e subsequente recrutamento de osteoclastos.

Apesar de terapias não-hormonais para prevenir a perda óssea em mulheres na menopausa, como os bifosfonatos e alendronatos, terem sido recomendadas como substitutas efetivas da terapia de reposição hormonal, estes agentes farmacológicos geralmente requerem tabelas de doses rigorosas devido à variedade de complicações gastrintestinais (LIBERMAN et al., 1995), além disso, tem sido observado um risco associado à osteonecrose dos maxilares (RUGGIERO , 2004). Cuidados com a saúde oral reduzem esta incidência, no entanto, a prevenção completa ainda não é possível (MARX et al.,2005).

2.3.1 O Raloxifeno

A indústria farmacêutica vem buscando novas alternativas com intuito de prevenir a reabsorção com o mínimo de efeitos colaterais. Assim, foi desenvolvido o modulador seletivo do receptor de estrogênio (SERM).

Por definição, o SERM exerce ação agonista ao estrogênio em alguns tecidos alvo enquanto, em outros, age com atividade antagonista. O primeiro SERM vastamente utilizado foi o tamoxifeno, que possui atividade agonista nos tecidos mamários, mas mostra uma atividade semelhante ao estrogênio em outros tecidos (MUCHMORE, 2000).

Em Janeiro de 1998, o raloxifeno, um derivado de benzotiofeno não esteroide, foi aprovado pela FDA USA para a prevenção da osteoporose pós-menopausa. Apesar deste medicamento compartilhar do mesmo potencial na prevenção do câncer de mama, possui um perfil distinto do tamoxifeno e do estrogênio. Este SERM reduz o remodelamento ósseo de forma comparável à observada no tratamento com estrogênio (HEANEY, DRAPER, 1997) e aumenta a massa óssea axial e apendicular, além de reduzir significativamente as taxas de fratura vertebral em 38-2% após 24 meses de tratamento (ETTINGER et al., 1999). Assim como acontece com o uso de estrogênio, o raloxifeno reduz o colesterol circulante e as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (WALSH et al., 1998).

Evans et al. (1994) observaram a ação do raloxifeno na mensuração estática e dinâmica do osso cortical e esponjoso em ratos. Após o período experimental puderam concluir que o raloxifeno foi efetivo na manutenção do volume e na redução da reabsorção do osso esponjoso.

A partir de um ensaio clínico randomizado com 7705 mulheres na pós-menopausa, Ettinger et al (1999) concluíram que o raloxifeno aumenta a DMO na espinha e no pescoço do fêmur e reduz o risco de fratura vertebral. As avaliações foram feitas por meio de radiografias, entrevistas e da observação da DMO após 36 meses. As voluntárias usaram raloxifeno 60mg/dia ou 120mg/dia ou placebo, além de suplemento de cálcio.

Broulik e Brouliková (2007) testaram a hipótese de que o raloxifeno tem efeito protetor na perda óssea em camundongos machos. Os

resultados demonstraram por meio da avaliação do fêmur que o medicamento previne a redução da DMO.

As alterações induzidas pelo raloxifeno no sistema esquelético de ratos machos foram similares às induzidas pela droga em fêmeas ovariectomizadas na investigação realizada por Folwarczna et al. (2007). Estes autores avaliaram a ação do raloxifeno (5mg/Kg diariamente por 4 semanas) em ossos do fêmur e tíbia de ratos por meio de análise histológica e medidas histomorfométricas.

Com o objetivo de identificar ações diretas e/ou indiretas deste composto às células do tecido ósseo foram feitas avaliações quanto ao mecanismo sob o qual é mediada, in vitro, a regulação de osteoblastos e osteoclastos. Foi possível demonstrar que o raloxifeno modula a homeostase óssea in vitro, por meio da inibição da osteoclastogênese e reabsorção óssea e estimulando a proliferação de osteoblastos e expressão de colágeno I, inibição na expressão de IL-1 β e IL-6 (TARANTA et al., 2002).

Os resultados obtidos com o uso do raloxifeno são promissores, mas vale ressaltar que os estudos disponíveis foram realizados a partir da avaliação de ossos do quadril, fêmur e da espinha lombar em humanos (ETTINGER et al., 1999; WEINSTEIN et al., 2003; MORIL et al., 2003) ou em tíbia e fêmur de roedores (EVANS et al., 1994; BLACK et al., 1994; ERLANDSSON et al., 2002; FOLWARCZNA et al., 2007; BROULIK, BROULIKOVÁ, 2007). Sugere-se investigações no que se refere à indicação destes quando se espera a reabsorção óssea alveolar.

3 PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste estudo foram:

- a) Avaliar se o raloxifeno é eficaz na prevenção da perda óssea alveolar induzida por cirurgia de retalho mucoperiósteo em um modelo experimental com camundongos.
- b) Avaliar se existem diferenças na perda óssea alveolar em relação ao tempo experimental (10 e 21 dias após a cirurgia de retalho mucoperiósteo).

4 ARTIGOS CIENTÍFICOS

4.1 Eficácia do raloxifeno na reabsorção óssea alveolar que segue cirurgias de retalho mucoperiósteo em camundongos

Artigo formatado para submissão ao
Journal of Periodontology (Artigo Original)
(Qualis A internacional)

Eficácia do raloxifeno na reabsorção óssea alveolar que segue cirurgias de retalho mucoperiósteo em camundongos

Cristiane ALENCAR*[†]
Elken Gomes RIVALDO [‡]
Dalva Maria Pereira PADILHA [§]
Luis Carlos da Fontoura FRASCA [¶]

* Mestre em Prótese Dentária

[†] Departamento de Prótese Dentária da Universidade Luterana do Brasil, Canoas, Rio Grande do Sul, Brasil

[‡] Doutora em Gerontologia Biomédica.

[§] Doutora em Odontologia (Estomatologia Clínica).

[¶] Departamento de Odontologia Preventiva e Social da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

[¶] Doutor em Odontologia (Reabilitação Oral).

Instituição a qual o trabalho deve ser atribuído:

Universidade Luterana do Brasil (ULBRA/RS), Canoas, Rio Grande do Sul, Brasil

Correspondência:

Cristiane de Alencar Oliveira
Av. Prof. Acrísio Cruz, 445 ap.1004. Praia 13 de Julho
CEP: 49020-210
Aracaju/SE – Brazil
Fone: (79)3252-3788
E-mail: cristianealencar@terra.com.br

Número de palavras: 1.999

Número de figuras e tabelas: 4

Título abreviado: A eficácia do raloxifeno na perda óssea alveolar.

Resumo em uma sentença: O raloxifeno não previne a perda óssea alveolar.

RESUMO

Plano de fundo: Cirurgias de retalho mucoperiósteo (CRM) são realizadas para acesso ao osso alveolar e à raiz dentária em diversas situações clínicas, mas se sabe que este acesso provoca estímulo da atividade osteoclástica e conseqüente reabsorção óssea alveolar. O raloxifeno é um fármaco agonista ao osso e vem mostrando inibir a perda óssea. O objetivo da presente investigação foi avaliar a eficácia do raloxifeno na reabsorção óssea alveolar associada a CRM usada como modelo reabsortivo.

Métodos: Foi realizada CRM na face vestibular do lado esquerdo (VE) em mandíbulas de 40 camundongos CF1 *Mus domesticus*, machos, divididos em grupos iguais: experimento - recebeu injeções diárias de raloxifeno 3mg/Kg e placebo - recebeu injeções diárias do veículo. O lado direito das mandíbulas (VD) foi usado como controle. Os grupos foram subdivididos de acordo com o tempo de experimento, e então foi realizada a eutanásia completados 10 e 21 dias a partir da cirurgia. As mandíbulas foram separadas ao meio, limpas e coradas para observação em estereomicroscópio. Imagens digitais foram obtidas e a área de perda óssea alveolar foi medida (mm²) em um software de análise de imagens.

Resultados: Em relação à perda óssea, a VE mostrou perda significativa (teste-*t* Student; $p < 0,01$) quando comparada à VD em ambos os grupos. Não foi observada diferença significativa entre os grupos experimento e placebo, independente do lado, da face e do tempo de uso do fármaco.

Conclusão: O raloxifeno não é efetivo na inibição da reabsorção óssea alveolar que segue CRM em camundongos machos.

Palavras Chave: perda óssea alveolar, retalhos cirúrgicos, raloxifeno, camundongos.

INTRODUÇÃO

O osso é uma estrutura viva com imensa capacidade de remodelamento em resposta a necessidades metabólicas do corpo. Em circunstâncias normais, volume e massa óssea são mantidos constantes pelo processo de reabsorção e aposição¹. No entanto, existem alguns fatores que podem levar a um desequilíbrio desta condição, dentre os quais podemos citar a exposição cirúrgica do osso.

Na odontologia, o acesso cirúrgico ao osso alveolar é realizado rotineiramente no tratamento restaurador, periodontal, reabilitador (incluindo colocação de implantes), endodôntico e na remoção cirúrgica de dentes e/ou processos patológicos. Durante este procedimento dissecativo o periósteo é separado do osso alveolar, resultando em uma fase reabsortiva com estímulo da atividade osteoclástica e perda da crista óssea²⁻⁵. A fase de maior reabsorção ocorre nas três semanas que seguem a cirurgia em mandíbulas de roedores².

A redução do volume ósseo alveolar pode interferir no sucesso do tratamento reabilitador com próteses fixas ou removíveis, portanto é vantajoso evitar esta perda óssea tecidual⁶. O uso de drogas de aplicação sistêmica ou local na prevenção da reabsorção óssea tem sido estudado em animais de laboratório⁷⁻¹³.

O Raloxifeno, um modulador seletivo do receptor de estrogênio (SERM), tem mostrado um perfil agonista ao esqueleto humano. Age como um anti-reabsortivo, reduzindo os marcadores bioquímicos do remodelamento ósseo e preservando a densidade mineral óssea (DMO) na coluna espinhal e pescoço do fêmur, com significativa redução na ocorrência de novas fraturas, além do que é antagonista aos tecidos endometriais e mamários^{14,15}.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do raloxifeno na reabsorção óssea alveolar usando o modelo experimental de cirurgia de retalho mucoperiosteal (CRM) em mandíbulas de camundongos¹⁶.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Luterana do Brasil (Canoas-RS). Os animais foram obtidos e mantidos durante a fase experimental na Fundação de Pesquisa em Saúde do Estado do Rio Grande do Sul.

Quarenta CF1 *Mus domesticus* machos pesando em média 30g e com 3 meses de idade foram utilizados. Todos os animais foram submetidos a CRM e então foram

separados em dois grupos eqüitativamente distribuídos. O primeiro grupo (experimento - GE) recebeu injeção do fármaco em experimento e o segundo grupo (placebo - GP) injeção do veículo utilizado na diluição do fármaco.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com dieta padrão e água destilada ad libidum. Condições padronizadas de luz (ciclo 12 horas claro/ 12 horas escuro) e temperatura (~20° C) foram mantidas durante todo o experimento.

Procedimento experimental

Os camundongos foram pesados e anestesiados intramuscularmente antes da cirurgia usando uma mistura de ketamina 100 g/l* + 2% solução aquosa de 2-(2,6-xilidina)-5,6- dihidro-4-H-1,3- hidroclorido de xilazina[†], em uma proporção de 1:1, numa dose de 1,0 ml/Kg. A mucosa foi separada do osso subjacente após a incisão na gengiva marginal com o auxílio de um pequeno elevador e foi imediatamente readaptada sem sutura^{5,8-12,16}. O retalho mucoperiósteo foi realizado na face vestibular dos molares inferiores no lado esquerdo em um procedimento que durou aproximadamente 40 segundos, enquanto o lado direito serviu como controle. Os animais receberam apenas água durante as primeiras 24h para evitar deslocamento do retalho.

Os camundongos do GE foram tratados com injeção subcutânea de raloxifeno[‡] em uma dose diária de 3 mg/Kg dissolvidos em 100 µl de óleo de oliva durante todo o período experimental e o GP recebeu o veículo (100 µl de óleo de oliva) diariamente¹²¹³. Os animais foram pesados todos os dias antes da injeção das substância para devida aplicação de dose. A eutanásia foi realizada sob anestesia através de deslocamento cervical⁵ em dois momentos distintos: 20 animais (10 de cada grupo) 10 dias após a cirurgia e 20 animais (10 de cada grupo) 21 dias após a cirurgia.

Sob o aumento de uma lupa cirúrgica[§] as mandíbulas foram seccionadas ao longo da linha média, dissecadas e limpas, sendo que todo o material orgânico foi removido com hipoclorito de sódio aplicado com uma escova. As peças foram armazenadas em formol a 10% durante 12 horas¹⁷⁻¹⁹. Cada hemi mandíbula foi corada com 1% de azul de toluidina para evidenciar a área radicular exposta, os limites do esmalte, cemento, e osso, e em seguida, com um estereomicroscópio^{||} sob aumento (x 3.2), luz e posição padronizada, a imagem foi capturada digitalmente[¶]. Foi utilizado um dispositivo

*Dopalen, AgribRANDS do Brasil, Paulina, Brasil.

†Rompun, Bayer S.A., Sao Paulo, Brasil.

‡Cloridrato de Raloxifeno, Eli Lilly, Brasil

§M900, D.F Vasconcelos, Brasil

||Lupa Stemi SV6, Carl Zeiss, Inc, EUA

¶Pixera Professional, Pixera, San Jose, EUA

angulado para manter as amostras em uma posição padronizada com as cúspides vestibular e lingual no mesmo nível²¹.

Análise da Perda Óssea

Utilizando um software de análise de imagens[#], um examinador cego e calibrado realizou duas medidas de cada amostra com um intervalo de uma semana entre elas, o que possibilitou a obtenção dos dados da reprodutibilidade. A reprodutibilidade intra-examinador, trans-experimental (intervalo de confiança de 95%), representada pela média das diferenças entre o par de medidas da POA atingiu, na média, de -0,0296 a 0.0272.

Na face vestibular, a área para perda óssea alveolar (POA) foi medida no primeiro molar, enquanto na face lingual, a área de POA foi medida no primeiro e segundo molar usando os pontos de referência propostos por Tatakis e Guglielmoni¹⁷ e modificado por Hilgert et al.²². A área de perda óssea foi definida como segue: mesialmente, pela margem mesial [junção cimento esmalte (JCE) ao osso alveolar] da raiz mesial do primeiro molar; distalmente, pela margem distal (JCE ao osso alveolar) da raiz distal do segundo molar; coronalmente, por três pontos em cada um dos molares: dois pontos definidos pela JCE na mesial e distal e um definido pela posição mais apical da JCE na superfície do dente; e apicalmente, pela posição mais apical do osso alveolar nas superfícies radiculares (Figura 1). Os resultados são apresentados em milímetros quadrados (mm²).

Análise Estatística

O teste-t Student para amostras independentes foi realizado para averiguar a diferença entre as médias de perda óssea entre os grupos placebo e experimento, além da significativa diferença entre áreas de perda óssea da vestibular esquerda [VE; teste (GT)] e direita [VD; controle (GC)] e lingual esquerda (LE) e direita (LD). Todos os resultados foram considerados significativos no nível crítico de 5%

Estas análises foram conduzidas com a utilização do software SPSS 12.0 for Windows®**.

[#] Image Tool, UTHSCA, Texas, EUA
^{**} SPSS Inc. Illinois, USA

RESULTADOS

Foi observada reabsorção óssea alveolar evidente três semanas após a CRM. A área de POA no lado operado (VE) mostrou perda significativamente maior (teste-t Student; $p < 0,01$) quando comparada à VD nos dois grupos após 10 e 21 dias de experimento (Tabelas 1, 2 respectivamente).

A perda óssea não variou significativamente comparando o grupo que recebeu o medicamento com o grupo placebo (Figura 2). Observou-se média de perda óssea 10 e 21 dias, respectivamente, após a CRM (GP x GE) na VE - $0,59 \text{ mm}^2 (\pm 0,19)$; $0,60 \text{ mm}^2 (\pm 0,23)$ x $0,62 \text{ mm}^2 (\pm 0,29)$; $0,62 \text{ mm}^2 (\pm 0,39)$ ($p=0,80$; $p=0,91$), na VD - $0,28 \text{ mm}^2 (\pm 0,10)$; $0,41 \text{ mm}^2 (\pm 0,17)$ x $0,35 \text{ mm}^2 \pm 0,09$; $0,34 \text{ mm}^2 \pm 0,09$ ($p=0,15$; $p=0,69$), na LE foi $0,99 \text{ mm}^2 (\pm 0,21)$; $1,05 \text{ mm}^2 (\pm 0,27)$ x $0,94 \text{ mm}^2 (\pm 0,17)$; $0,96 \text{ mm}^2 (\pm 0,28)$ ($p=0,61$; $p=0,47$), e para LD $0,93 \text{ mm}^2 (\pm 0,28)$; $0,93 \text{ mm}^2 (\pm 0,26)$ x $0,98 \text{ mm}^2 \pm 0,21$; $0,98 \text{ mm}^2 \pm 0,18$ ($p=0,65$; $p=0,59$) (Figura 3).

Não foi observada variação no peso dos animais durante o tempo experimental. Até o fim deste estudo um animal do grupo controle morreu por motivos desconhecidos e o primeiro molar inferior de um animal do grupo controle foi perdido.

DISCUSSÃO

Neste estudo buscou-se avaliar a eficácia do raloxifeno em casos de POA induzida nos ossos mandibulares de camundongos, e encontramos que este fármaco não previne ou sequer minimiza a reabsorção óssea subsequente a CRM. Até onde sabemos, é a primeira vez que a ação deste medicamento é testada nos ossos da face de camundongos.

O modelo experimental de CRM em mandíbulas de camundongos foi utilizado para induzir a POA, pois estudos têm relatado a reabsorção decorrente da exposição óssea por descolamento de retalhos^{3,11,16}. Yaffe et al.⁵ realizaram um estudo em ratos e observaram a grande atividade de remodelamento ósseo que ocorre após a CRM nos ossos maxilares sendo que este processo ocorre independente do gênero¹⁶. Estes estudos corroboram os resultados encontrados em nosso experimento já que foi observada área de POA significativamente maior no lado operado (VE) comparada ao lado controle (VD) ($p < 0,01$).

A reabsorção óssea pode interferir de maneira negativa no sucesso do tratamento reabilitador com próteses convencionais ou sobre implantes, e por isso a busca por substâncias e tratamentos que visam prevenir ou minimizar a POA é um constante objeto de pesquisa. Com este intuito testou-se o raloxifeno, um modulador do receptor de estrogênio (SERM), utilizado na terapia e profilaxia da osteoporose. Este fármaco mimetiza os efeitos do estrogênio no osso com a vantagem de não estimular o endométrio uterino, reduzir o risco de câncer de mama e ainda a incidência de eventos coronarianos e derrame cerebral²³⁻²⁵.

O raloxifeno age, *in vitro*, na modulação da homeostase óssea por meio da inibição da osteoclastogênese e da reabsorção óssea, e pelo estímulo da atividade dos osteoblastos, além da inibição de interleucina 1 β , interleucina 6 e TNF- α .²⁶ Estudos *in vivo* também mostraram os efeitos positivos desta droga na manutenção da densidade mineral nos ossos da espinha lombar, do pescoço do fêmur^{14,15,24} e de tíbias²⁷. Além de constatarem a redução dos marcadores bioquímicos do remodelamento ósseo tais como osteocalcina, fosfatase alcalina, interleucina 1 β , interleucina 6^{14,15,28} e redução do risco de microfraturas²⁴. Existem evidências da similaridade da eficácia do raloxifeno no esqueleto tanto de ratos machos quanto de fêmeas ovariectomizadas²⁹, assim, a ação deste medicamento se dá independente do gênero.

Na contramão destas evidências, os resultados obtidos neste estudo mostraram que o raloxifeno não teve qualquer efeito protetor na POA. Há evidências que sugerem não ser possível utilizar a DMO da espinha e quadris pra predizer a densidade dos ossos maxilares^{30,31} o que talvez possa explicar essa diferença. Também contribui na tentativa de explicar esta divergência, a hipótese de remodelamento ósseo sítio específico levantada por Pødenphant e Engel³² que a partir da avaliação em 24 locais diferentes do esqueleto observaram que a formação óssea no esqueleto mostra grandes variações regionais. Esta hipótese foi confirmada por Verna et al.³³ quando compararam os parâmetros de remodelamento ósseo da mandíbula e da crista ilíaca. Um bom exemplo desta sitio especificidade é a indicação/ contra-indicação dos implantes de titânio, quando observamos que 76% das falhas de implantes ortopédicos ocorrem em pacientes osteoporóticos,³⁴ enquanto o risco de falha do implantes dentais não parece ser maior nos pacientes destes grupos.³⁵

Os efeitos de outros fármacos já foram testados dentre os quais podemos citar os bifosfonatos e a doxiciclina. Os bifosfonatos são fármacos indicados no tratamento e prevenção da osteoporose e tiveram seus efeitos testados nos ossos maxilares^{8,9,12}. Os

resultados encontrados por Yaffe et al.^{8,9} mostraram redução da POA após intervenção com bifosfonatos. Grevstad⁷ testou o efeito da doxiciclina sobre a POA que segue cirurgias periodontais e constatou seu efeito protetor. Contudo, é importante observar cuidadosamente o papel da metodologia utilizada na avaliação da POA.

Diferentes métodos já foram utilizados, alguns autores basearam-se na observação da matriz mineralizada⁸⁻¹⁰, outros avaliaram cortes histológicos⁷, e até mesmo medidas de distância ponto a ponto já foram utilizadas³⁶⁻³⁸, mas há evidências das limitações destes métodos^{5,36, 37}. Yaffe et al.⁹ demonstraram o efeito do alendronato na prevenção da POA utilizando micro-radiografias de alta resolução de raios-X, entretanto, quando o método de análise por área de raiz exposta foi utilizado, nenhuma diferença significativa foi encontrada. Assim, a metodologia selecionada para a realização deste estudo parece ser a mais indicada, permitindo concluir que para a prevenção da POA o raloxifeno não é eficaz.

Sugere-se a condução de investigações que poderão mostrar a eficácia do raloxifeno, para os ossos mandibulares, no que se refere ao ganho de DMO, na redução de biomarcadores do remodelamento ósseo, ou alterações positivas na contagem de células. Contudo, vale ressaltar que é imprescindível a consciência da relevância destes dados quando o objeto de pesquisa é a manutenção de área de osso alveolar.

REFERÊNCIAS

1. Marx RE, Garg AK. Bone structure, metabolism, and physiology: its impact on dental implantology. *Implant Dent* 1998;7(4):267-76
2. Staffileno H, Wentz F, Orban B. Histologic study of healing of split thickness flap surgery in dogs. *J Periodontol* 1962;33:56-69.
3. Staffileno H, Levy S, Gargiulo A. Histologic study of cellular mobilization and repair following a periosteal retention operation via split thickness mucogingival flap surgery. *J Periodontol* 1966; 37(2):117-31.
4. Ranjford SF, Costish ER. Healing after exposure of periosteum on the alveolar process. *J Periodontol* 1968 Jul;39(4):199-207.
5. Yaffe A, Fine N, Binderman I. Regional accelerated phenomenon in the mandible following mucoperiosteal flap surgery. *J Periodontol* 1994; 65:79-83.
6. Atwood DA. Some clinical factors related to rate of resorption of residual ridges. *J Prosthet Dent* 2001 Sep;86(2):119-125
7. Grevstad HJ. Doxycycline prevents root resorption and alveolar bone loss in rats after periodontal surgery. *Scand J Dent Res* 1993 Oct;101(5):287-91
8. Yaffe A, Fine N, Alt I, Binderman I. The effect of bisphosphonate on alveolar bone resorption following mucoperiosteal flap surgery. *J Periodontol* 1995 Nov;66(11):999-1003.
9. Yaffe A, Izkovich M, Earon Y, Lilov R, Binderman I. Local delivery of an amino bisphosphonate prevents the resorptive phase of alveolar bone following mucoperiosteal flap surgery in rats. *J Periodontol* 1997 Sep;68(9):884-9.
10. Yaffe A, Golomb G, Breuer E, Binderman I. The effect of topical delivery of novel bisacylphonates in reducing alveolar bone loss in the rat model. *J Periodontol* 2000 Oct;71(10):1607-12.
11. Binderman I, Adut M, Zohar R, Bahar H, Faibish D, Yaffe A. Alveolar bone resorption following coronal versus apical approach in a mucoperiosteal flap surgery procedure in the rat mandible. *J Periodontol* 2001 Oct;72(10):1348-53.
12. Kaynak D, Meffert R, Bostanci H, Günhan O, Ozkaya OG. A histopathological investigation on the effect of systemic administration of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the rat mandible. *J Periodontol* Sep;74(9):1348-54.
13. Erlandsson MC, Jonsson CA, Lindberg MK, Ohlsson C, Carlsten H. Raloxifene- and estradiol-mediated effects on uterus, bone and B lymphocytes in mice. *J Endocrinol* 2002 Nov;175(2):319-27.

14. Weinstein RS, Parfitt AM, Marcus R, Greenwald M, Crans G, Muchmore DB. Effects of raloxifene, hormone replacement therapy, and placebo on bone turnover in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2003 Oct;14(10):814-22.
15. Morii H, Ohashi Y, Taketani Y, Fukunaga M, Nakamura T, Itabashi A, Sarkar S, Harper K. Effect of raloxifene on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in Japanese postmenopausal women with osteoporosis: results from a randomized placebo-controlled trial. *Osteoporos Int* 2003 Oct;14(10):793-800.
16. Rivaldo EG, Padilha DP, Hugo FN. Alveolar bone loss and aging: A model for the study in mice. *J Periodontol* 2005 Nov;76(11):1966-71.
17. Tatakis DN, Guglielmoni P. HLA-B27 transgenic rats are susceptible to accelerated alveolar bone loss. *J Periodontol* 2000; 71(9):1395-400.
18. Al-Rasheed A, Scheerens H, Rennick DM, Fletcher HM, Tatakis DN. Accelerated alveolar bone loss in mice lacking interleukin-10. *J Dent Res* 2003 Aug;82(8):632-5.
19. May NY, Tatakis DN. Accelerated alveolar bone loss in male HLA-B27 transgenic rats: adult onset. *J Periodontol Res* 2004 Feb;39(1):33-6.
20. Rivaldo EG, Padilha DMP. A surgery table with a mouth prop for rodent. *Scand J Lab Anim Sci* 2007; 34(3):153-156.
21. Rivaldo EG, Padilha DM, Hugo FN, Hilgert JB, Rybu BR. Reproducibility of a hemi mandible positioning device and a method for measuring alveolar bone loss area in mice. *J Oral Sci* 2007 Mar;49(1):13-7.
22. Hilgert JB, Hugo FN, Bozzetti MC, Padilha DMP. Comparison of two techniques for measuring alveolar bone loss in mice (in Portuguese). *Pesqui Odontol Bras* 2002; 16: 216.
22. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986 Feb 8;1(8476):307-10.
23. Black LJ, Sato M, Rowley ER, Magee DE, Bekele A, Williams DC, Cullinan GJ, Bendele R, Kauffman RF, Bensch WR, et al. Raloxifene (LY139481 HCl) prevents bone loss and reduces serum cholesterol without causing uterine hypertrophy in ovariectomized rats. *J Clin Invest* 1994 Jan;93(1):63-9.
24. Ettinger B, Black DM, Mitlak BH, Knickerbocker RK, Nickelsen T, Genant HK, Christiansen C, Delmas PD, Zanchetta JR, Stakkestad J, Glüer CC, Krueger K, Cohen FJ, Eckert S, Ensrud KE, Avioli LV, Lips P, Cummings SR. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. *JAMA* 1999 Aug 18;282(7):637-45. Erratum in: *JAMA* 1999 Dec 8;282(22):2124.
25. Cummings SR, Eckert S, Krueger KA, Grady D, Powles TJ, Cauley JA, Norton L, Nickelsen T, Bjarnason NH, Morrow M, Lippman ME, Black D, Glusman JE, Costa A,

26. Taranta A, Brama M, Teti A, De luca V, Scandurra R, Spera G, Agnusdei D, Termine JD, Migliaccio S. The selective estrogen modulator raloxifene regulates osteoclast and osteoblast activity in vitro. *Bone* 2002; 30(2): 368-376.
27. Evans G, Bryant HU, Magee D, Sato M, Turner RT. The effects of raloxifene on tibia histomorphometry in ovariectomized rats. *Endocrinology* 1994 May;134(5):2283-8.
28. Hansdóttir H, Franzson L, Prestwood K, Sigurosson G. The Effect of Raloxifene on Markers of Bone Turnover in Older Women Living in Long-Term Care Facilities. *J Am Geriatr Soc* 2004 May;52(5):779-83.
29. Folwarczna J, Sliwiński L, Cegiela U, Pytlik M, Kaczmarczyk-Sedlak I, Nowińska B, Janiec W, Trzeciak HI. Raloxifene similarly affects the skeletal system of male and ovariectomized female rats. *Pharmacol Rep* 2007 May-Jun;59(3):349-58.
30. Drage NA, Palmer RM, Blake G, Wilson R, Crane F, Fogelman I. A comparison of bone mineral density in the spine, hip and jaws of edentulous subjects. *Clin Oral Implants Res* 2007 Aug;18(4):496-500.
31. Lindh C, Obrant K, Peterson A. Maxillary bone mineral density and its relationship to the bone mineral density and its relationship to the bone mineral density of the lumbar spine and hip. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004 Jul;98(1):102-9.
32. Pødenphant J, Engel U. Regional variations in histomorphometric bone dynamics from the skeleton of an osteoporotic woman. *Calcif Tissue Int* 1987; 40(4):184-188.
33. Verna C, Melsen B, Melsen F. Differences in Static Cortical Bone Remodeling Parameters in Human Mandible and iliac Crest. *Bone* 1999 Nov;25(5):577-83.
34. Barrios C, Brostrom LA, Stark A, Walheim G. Healing complications after internal fixation of trochanteric hip fractures: the prognostic value of osteoporosis. *J Orthop Trauma* 1993; 7: 438-442.
35. Garg AK, Winkler S, Bakaeen LG, Mekayarajjananonth T. Dental implants and the geriatric patient. *Implant Dent* 1997; 6(3):168-173.
36. Frost HM. Some effects of basic multicellular unit-based remodelling on photon absorptiometry of trabecular bone. *Bone Miner* 1989; 7: 47-65.
37. Kuhr A, Popa-Wagner A, Schmoll H, Schwahn C, Kocher T. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontal Res* 2004; 39: 101-106.
38. Menezes Adriana MA, Rocha FAC, Chaves HV, Carvalho CBM, Ribeiro RA, Brito GA. Effect of sodium alendronate on alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol* 2005 Nov;76(11):1901-9.

TABELAS

Tabela 1. Área de perda óssea alveolar (mm²) Vestibular (V) e Lingual (L), Lados Direito (D) e Esquerdo (E), nos grupos placebo (n=10) e experimento (n=10) 10 dias após a cirurgia de retalho mucoperiosteio.

		IC 95%		
		Média	Limite Inferior	Limite Superior
VD (controle)*	Placebo	0,28	0,08	0,48
	Experimento	0,35	0,17	0,53
	Total	0,32	0,12	0,52
VE (teste)*	Placebo	0,59	0,21	0,97
	Experimento	0,62	0,04	1,20
	Total	0,61	0,13	1,09
LD	Placebo	0,93	0,37	1,49
	Experimento	0,98	0,54	1,42
	Total	0,96	0,48	1,44
LE	Placebo	0,99	0,57	1,41
	Experimento	0,94	0,60	1,28
	Total	0,96	0,24	1,68

* Diferença significativa entre área operada VE e controle VD (Teste-t Student)

Tabela 2. Área de perda óssea alveolar (mm²) Vestibular (V) e Lingual (L), Lados Direito (D) e Esquerdo (E), nos grupos placebo (n=9) e experimento (n=10) 21 dias após a cirurgia de retalho mucoperiósteo.

		IC 95%		
		Média	Limite Inferior	Limite Superior
VD (controle)*	Placebo	0,41	0,07	0,75
	Experimento	0,34	0,16	0,52
	Total	0,37	0,10	0,64
VE (teste)*	Placebo	0,60	0,14	1,06
	Experimento	0,62	-0,16	1,40
	Total	0,61	-0,01	1,33
LD	Placebo	0,93	0,41	1,45
	Experimento	0,98	0,62	1,34
	Total	0,96	0,54	1,38
LE	Placebo	1,05	0,49	1,61
	Experimento	0,96	0,40	1,52
	Total	1,00	0,46	1,54

* Diferença significativa entre área operada VE e controle VD (Teste-t Student)

LEGENDAS DAS FIGURAS

FIGURA 1. PONTOS UTILIZADOS PARA DEFINIR A ÁREA DE PERDA ÓSSEA ALVEOLAR. UNINDO TODOS OS PONTOS TEM-SE REPRESENTADA A ÁREA DE INTERESSE. A) LADO ESQUERDO, FACE VESTIBULAR; B) LADO ESQUERDO, FACE LINGUAL.

FIGURA 2. PERDA ÓSSEA ALVEOLAR (LADO ESQUERDO, FACE LINGUAL).AS FOTOGRAFIAS NA ESQUERDA (A, C) IDENTIFICAM O GRUPO PLACEBO, E NA DIREITA (B, D) IDENTIFICAM O GRUPO EXPERIMENTO. ANIMAIS REPRESENTATIVOS APÓS 10 (A, B)E 21 (C E D) DIAS DA INTERVENÇÃO CIRÚRGICA.

FIGURA 3. MÉDIA DE PERDA ÓSSEA ALVEOLAR (MM²) DOS GRUPOS CONTROLE E TESTE, NAS FACES LINGUAL E VESTIBULAR DOS LADOS DIREITO E ESQUERDO APÓS 10 E 21 DIAS DA CIRURGIA DE RETALHO MUCOPERIÓSTEO.

FIGURAS

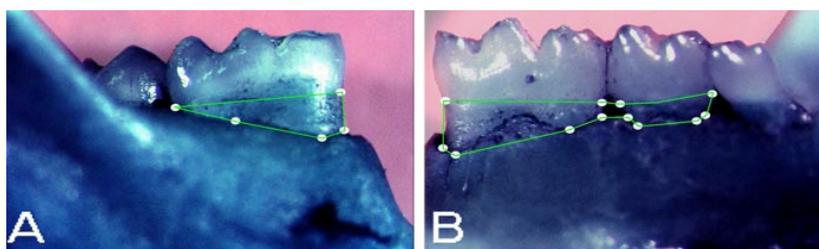


Figura 1

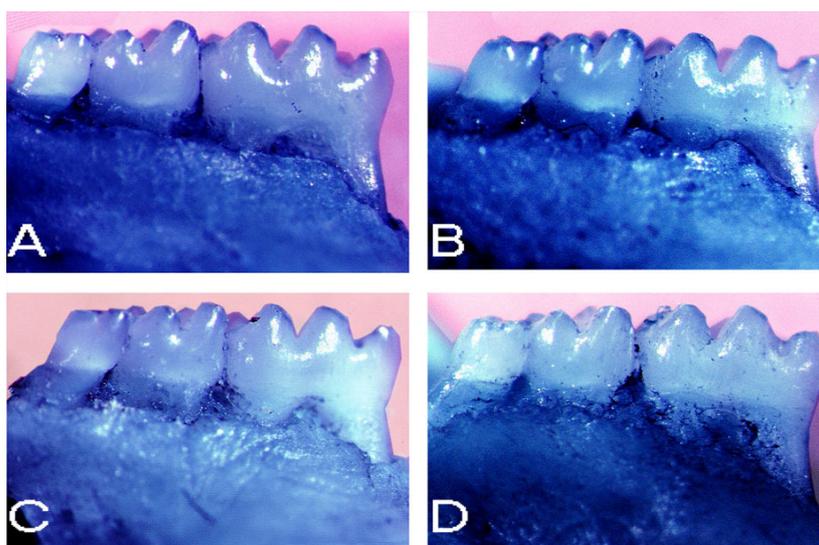


Figura 2

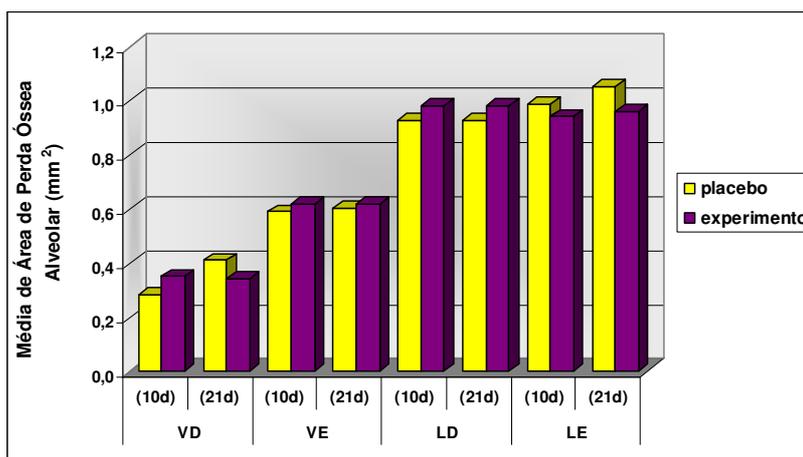


Figura 3

4.2 Perda Óssea Alveolar: um modelo de estudo de tempo curto em camundongos

Artigo formatado para submissão ao
Scandinavian Journal of Laboratory
Animal Science (Technical reports)
(Qualis A Internacional)

PERDA ÓSSEA ALVEOLAR: UM MODELO DE ESTUDO DE TEMPO REDUZIDO EM CAMUNDONGOS

Autores:

1) Cristiane **Alencar**

Av. Prof Acrisio Cruz, 445 ap 1004.

CEP: 49020-210.

Aracaju- Sergipe, Brasil

2) Elken Gomes **Rivaldo**

Rua Santa Vitória 80/01

CEP 91920-350

Porto Alegre- Rio Grande do Sul, Brasil

3) Dalva Maria Pereira **Padilha**

Av Ramiro Barcelos, 2492

CEP 90035-003

Porto Alegre- Rio Grande do Sul, Brasil

4) Juliana Balbinot **Hilgert**

Rua Egydio Michaelsen, 425.

CEP: 91751-140.

Porto Alegre- Rio Grande do Sul, Brasil

Correspondência:

Av. Prof. Acrisio Cruz, 445. ap^o 1004.

Bairro: Praia 13 de Julho

CEP: 49020-210. Aracaju/ SE- Brasil

cristianealencar@terra.com.br

RESUMO

Cirurgias de retalho mucoperiósteo (CRM) são realizadas em diversas situações clínicas, no entanto desencadeiam um processo reabsortivo com perda da crista óssea alveolar. Os roedores são animais rotineiramente utilizados em pesquisas que avaliam a perda óssea alveolar (POA), sendo que o tempo experimental para a execução das mesmas é de 21 dias. O objetivo deste estudo foi estabelecer se a área de reabsorção óssea alveolar é semelhante aos 10 e 21 dias após CRM em mandíbulas de camundongos. Foi realizada CRM em mandíbulas de 20 camundongos CF1 *Mus domesticus*, machos, na face vestibular do lado esquerdo (VE). O lado direito (VD) das mandíbulas foi usado como controle. Os animais foram divididos em grupos iguais de acordo com o tempo de experimento, e então foi realizada a eutanásia completados 10 (grupo teste -GT) e 21 (grupo controle - GC) dias após CRM. As mandíbulas foram hemiseccionadas, limpas e coradas para observação em estereomicroscópio. Imagens digitais foram obtidas e a área de perda óssea alveolar foi medida (mm^2) em um software de análise de imagens. Os resultados demonstraram que há uma perda significativa na VE (teste-*t* Student; $p < 0,01$) quando comparada à VD em ambos os grupos. Não foi observada diferença significativa na área de POA ($p > 0,05$) comparando-se os dois momentos experimentais (GC x GT). Esta investigação permite concluir que é possível reduzir o tempo experimental usando o modelo de CRM em camundongos.

Palavras Chave: perda óssea alveolar, retalhos cirúrgicos, camundongos.

INTRODUÇÃO

Na odontologia, o acesso cirúrgico ao osso alveolar é realizado em diversas situações clínicas e nas mais variadas especialidades, no entanto quando o perióstio é separado do osso alveolar a atividade osteoclástica é estimulada resultando em uma fase reabsortiva com perda da crista óssea (*Staffileno et al., 1962; Staffileno et al., 1963; Ranjford e Costish, 1968; Yaffe et al., 1994*). Esta perda, decorrente da exposição cirúrgica do osso, é um resultado indesejado no processo de reparo, muitas pesquisas têm sido realizadas na tentativa de encontrar uma maneira de preveni-la ou minimizá-la (*Yaffe et al., 1995; Yaffe et al., 1997, Yaffe et al., 2000; Binderman et al., 2001; Kaynak et al., 2003*).

Os roedores são animais rotineiramente utilizados como modelos experimentais na avaliação da perda óssea alveolar (POA), pois têm um tempo curto de vida (*Brookbank, 1990*), pela facilidade de manejo, reprodução e baixo custo na aquisição e manutenção, além da semelhança anatômica dos molares e estruturas orais aos tecidos humanos (*Jordan, 1971*).

Yaffe et al. (1994) observaram em mandíbulas de roedores, a ocorrência de um fenômeno de reabsorção acelerado (RAP) resultante de procedimentos de retalho de espessura total relatando haver uma imensa reabsorção do osso cortical após três semanas da intervenção.

A partir deste estudo foram realizados inúmeros experimentos avaliando a perda óssea alveolar ou testando fármacos que pudessem prevenir a mesma durante o tempo experimental de 21 dias em mandíbulas de roedores (*Yaffe et al., 1995; Yaffe et al., 1997; Binderman et al., 2000; Kaynak et al., 2003*). No entanto, Grevstad e Boe (1995) realizaram uma investigação por meio da qual puderam observar que a proliferação de osteoclastos atinge o nível máximo 10 dias após a realização da cirurgia de retalho mucoperióstio (CRM).

Motivados pela possibilidade da realização de experimentos com roedores em um menor tempo experimental foi desenvolvido este estudo. Assim, o objetivo da presente investigação foi estabelecer se a área de reabsorção óssea alveolar é semelhante aos 10 e 21 dias após CRM em mandíbulas de camundongos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em animais da Universidade Luterana do Brasil (Canoas-RS). Os camundongos foram obtidos, mantidos durante a fase experimental em gaiolas individuais com dieta padrão e água destilada *ad libitum*, em ambiente com condições padronizadas de luz (ciclo 12 horas claro/ 12 horas escuro) e temperatura (~20° C).

Vinte camundongos CF1 *Mus domesticus* machos com 3 meses e peso médio de 30g foram utilizados. Todos os animais foram submetidos a CRM e a eutanásia foi realizada em 2 momentos distintos. A eutanásia de metade da amostra (teste-GT) ocorreu 10 dias após a intervenção cirúrgica e a outra metade (controle-GC) passados 21 dias.

Procedimento experimental

Os camundongos foram pesados e anestesiados intramuscularmente antes da cirurgia usando uma mistura de ketamina 100 g/l + 2% solução aquosa de 2-(2,6-xilidina)-5,6- dihidro-4-H-1,3- hidroclorido de xilazina, em uma proporção de 1:1, numa dose de 1,0 ml/Kg. Os camundongos foram devidamente posicionados em uma mesa cirúrgica desenvolvida de maneira a fornecer completo acesso às estruturas orais dos animais sem qualquer risco de asfixia (*Rivaldo e Padilha, 2007*). A mucosa foi separada do osso subjacente após a incisão na gengiva marginal com o auxílio de um pequeno elevador e foi imediatamente readaptada sem sutura (*Yaffe et al., 1994; Rivaldo et al., 2005; Yaffe et al., 1995; Yaffe et al., 1997, Yaffe et al., 2000; Binderman et al., 2001; Kaynak et al., 2003*). O retalho mucoperiósteo foi realizado na face vestibular dos molares inferiores no lado esquerdo em um procedimento com duração aproximada de 40 segundos, enquanto o lado direito foi usado como controle. Os animais receberam apenas água durante as primeiras 24h para evitar deslocamento do retalho.

A eutanásia dos animais foi realizada sob anestesia por meio de deslocamento cervical (*Yaffe et al., 1994*) em dois momentos distintos: 10 (GT) e 21 (GC) dias após a cirurgia.

Sob o aumento de uma lupa cirúrgica (M900, DFVasconcelos) as mandíbulas foram hemiseccionadas , dissecadas, limpas, e assim destituídas

de todo o material orgânico com uma escova e hipoclorito de sódio. As peças foram armazenadas em formol a 10% durante 12 horas (Tatakis e Guglielmoni, 2000; Al-Rasheed et al., 2003; May e Tatakis, 2004). O corante azul de toluidina 1% foi utilizado para evidenciar a área radicular exposta, os limites do esmalte, cimento, e osso. Em seguida, com um estereomicroscópio (Lupa Stemi SV6 Zeiss™), sob aumento (x3.2), luz e posição padronizadas, a imagem foi capturada digitalmente (Sistema Pixera®). Foi utilizado um dispositivo de angulado para manter as amostras em uma posição padronizada com as cúspides vestibular e lingual no mesmo nível (Rivaldo et al., 2007).

Análise da Perda Óssea

O software de análise de imagens UTHSCA Image Tool versão 3.0, foi utilizado por um examinador cego e previamente treinado para medir a área de raiz exposta (mm²). Duas medidas de cada amostra foram realizadas com um intervalo de uma semana entre elas, com o objetivo de avaliar a reprodutibilidade. Os dados de reprodutibilidade intra-examinador, trans-experimental obtidos de acordo com o proposto por Bland e Altman (1986) variaram de -0,0208 a 0,012.

Na face vestibular, a área para POA foi medida no primeiro molar, enquanto na face lingual, a área de POA foi medida no primeiro e segundo molar usando os pontos de referência propostos por Tatakis e Guglielmoni (2000) e modificados por Hilgert et al. (2002). A área de perda óssea foi definida como segue: mesialmente, pela margem mesial [junção cimento esmalte (JCE) ao osso alveolar] da raiz mesial do primeiro molar; distalmente, pela margem distal (JCE ao osso alveolar) da raiz distal do segundo molar; coronalmente, por três pontos em cada um dos molares: dois pontos definidos pela JCE na mesial e distal e um definido pela posição mais apical da JCE na superfície do dente; e apicalmente, pela posição mais apical do osso alveolar nas superfícies radiculares (Figura 1). Os resultados são apresentados em milímetros quadrados (mm²).

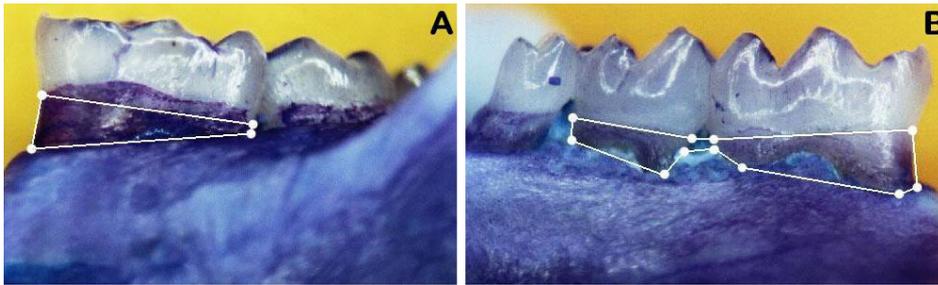


Figura 1. Ilustração dos pontos utilizados para definir a área de perda óssea alveolar. Unindo todos os pontos tem-se representada a área de interesse. A) lado esquerdo, face vestibular; B) lado esquerdo, face lingual.

Análise Estatística

O teste-*t* Student para amostras independentes foi realizado para averiguar a diferença entre as médias de área de perda óssea da vestibular esquerda (VE; operado) e vestibular direita (VD; controle), além da diferença entre áreas de perda óssea dos grupos controle comparando-se VD, VE, lingual esquerda (LE) e direita (LD). Todos os resultados foram considerados significativos no nível crítico de 5%

As análises dos dados foram conduzidas com a utilização do software SPSS 13.0 for Windows® (SPSS Inc. Illinois, USA).

RESULTADOS

Foi observada reabsorção óssea alveolar evidente após a CRM. A área de POA no lado operado (VE) mostrou perda significativa (teste-*t* Student; $p < 0,05$) comparada ao lado controle VD. Comparando-se os dois momentos experimentais (GC x GT) pudemos constatar que a área de POA não variou significativamente ($p > 0,05$) (Figura 2).

Após 10 e 21 dias, respectivamente, a média de POA e desvio padrão na VD foi $0,28 \pm 0,10$; $0,41 \pm 0,17$ ($p = 0,64$), na VE $0,59 \pm 0,19$; $0,60 \pm 0,23$ ($p = 0,89$), na LD $0,93 \pm 0,28$; $0,93 \pm 0,26$ ($p = 0,98$) e na LE $0,98 \pm 0,21$; $1,05 \pm 0,28$ ($p = 0,56$).

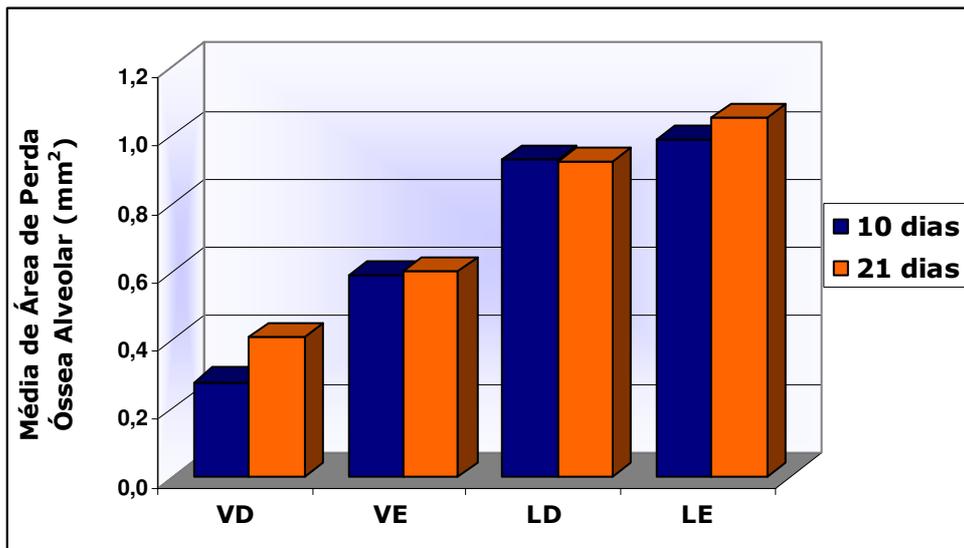


Figura 2. Média de perda óssea alveolar (mm²) dos grupos controle e teste, nas faces lingual e vestibular dos lados direito e esquerdo.

Em outra investigação o efeito do raloxifeno foi testado na reabsorção óssea alveolar que ocorre após CRM em períodos iguais aos relatados neste estudo e também não foram observadas diferenças significativas comparando-se os tempos experimentais (dados não mostrados).

Os resultados obtidos neste trabalho são de suma importância quando se estuda a POA em modelo experimental de CRM em camundongos, pois permitem, dentro dos procedimentos laboratoriais, reduzir os custos de manutenção no laboratório, de contratação de pessoal especializado no trato com os animais e principalmente reduzir o tempo experimental sem que o desfecho seja influenciado.

REFERÊNCIAS

Al-Rasheed A, H Scheerens, DM Rennick, HM Fletcher, DN Tatakis: Accelerated alveolar bone loss in mice lacking interleukin-10. J Dental Res 2003, 82, 632-635.

Binderman I, M Adut, A Yaffe: Effectiveness of local delivery of alendronate in reducing alveolar bone loss following periodontal surgery in rats. J Periodontol, 2000, 71, 8, 1236-1240.

Binderman I, M Adut, R Zohar, H Bahar, D Faibish, A Yaffe: Alveolar Bone Resorption following coronal versus apical approach in a mucoperiosteal flap surgery procedure in the rat mandible: J Periodontol, 2001, 72, 1348-1353.

Bland JM, DG Altman: Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet 1986 Feb 8;1(8476):307-10.

Brookbank JW. Aging in mammals. In: Brookbank JW. The biology of aging. Harper & Row Publishers, New York, USA, 1990.

Grevstad HJ, OE Boe. Effect of doxycycline on surgically induced osteoclast recruitment in the rat. Eur J Oral Sci 1995, 103, 156-159.

Hilgert JB, FN Hugo, MC Bozzetti, DMP Padilha: Comparison of two techniques for measuring alveolar bone loss in mice (in Portuguese). Pesqui Odontol Bras, 2002, 16, 216.

Jordan HV: Rodent model systems in periodontal disease research. J Dent Res, 1971, 50, 236-242

Kaynak D, R Meffert, H Bostanci, Ö Günhan, OG Ozkaya: A histopathological investigation on the effect of systemic administration of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the rat mandible. J Periodontol, 2003, 74, 1348-1354.

May NY, DN Tatakis: Accelerated alveolar bone loss in male HLA-B27 transgenic rats: Adult onset. J Periodontal Res, 2004, 39, 33-36.

Ranjford SF, ER Costish: Healing after exposure of periosteum on the alveolar process. J Periodontol, 1968, 39, 199-207.

Rivaldo EG, DMP Padilha, FN Hugo, JB Hilgert, BR Rybu. Reproducibility of a hemi mandible positioning device and a method for measuring alveolar bone loss area in mice. J Oral Sci, 2007, 49, 13-17.

Rivaldo EG, DMP Padilha, FN Hugo: Alveolar bone loss and aging: A model for the study in mice. J Periodontol, 2005, 76, 1966-1971.

Rivaldo EG, DMP Padilha: A surgery table with a mouth prop for rodent. Scand J Lab Anim Sci 2007, 34, 3, 153-156.

Staffileno H, F Wentz, B Orban: Histologic study of healing of split thickness flap surgery in dogs. J Periodontol, 1962; 33: 56-9.

Staffileno H, S Levy, A Gargiulo: Histologic study of cellular mobilization and repair following a periosteal retention operation via split thickness mucogingival flap surgery. J Periodontol, 1963, 3, 135-140.

Tatakis DN, P Guglielmoni: HLA-B27 transgenic rats are susceptible to accelerated alveolar bone loss. J Periodontol, 2000, 71, 1395-1400.

Yaffe A, G Golomb, E Breuer, I Binderman: The effect of topical delivery of novel bisacylphonates in reducing alveolar bone loss in the rat model. J Periodontol, 2000, 71, 1607-1612.

Yaffe A, M Izkovich, Y Earon, R Lilov, I Binderman: Local delivery of an amino bisphosphonate prevents the resorptive phase of alveolar bone following mucoperiosteal flap surgery in rats. J Periodontol, 1997, 68, 884-889.

Yaffe A, N Fine, I Alt, I Binderman: The effect of bisphosphonate on alveolar bone resorption following mucoperiosteal flap surgery. J Periodontol, 1995, 66, 999-1003.

Yaffe A, N Fine, I Binderman: Regional accelerated phenomenon in the mandible following mucoperiosteal flap surgery. J Periodontol, 1994, 65, 79-83.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o intuito de reprimir a perda óssea alveolar após cirurgias de retalho mucoperiósteo (CRM) , alguns fármacos têm sido testados. No presente estudo foi avaliada a eficácia do raloxifeno (fármaco de ação comprovada em ossos do quadril, tíbia e fêmur), e os resultados demonstraram que este não exerce efeito protetor na perda óssea alveolar (POA), pois não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimento e placebo, para nenhuma das faces ou lados analisados.

Um modelo de estudo de tempo reduzido foi desenvolvido e observou-se que a área de POA em mandíbulas de camundongos é semelhante aos 10 e 21 dias pós-cirúrgicos, não apenas onde foi realizada a intervenção (vestibular esquerda), como também nas faces linguais e no lado controle (vestibular direita).

Sugere-se que o método de aferição da POA por meio da determinação de área de raiz exposta deve ser utilizado quando o objetivo principal do estudo for a manutenção da área de osso alveolar, ratificando que a investigação poderá ser conduzida em um tempo experimental de 10 dias, o que possibilitará a redução de custos e de tempo de trabalho, sem influência significativa nos resultados, quando o modelo de CRM em camundongos é utilizado para indução da POA.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Rasheed A, Scheerens H, Rennick DM, Fletcher HM, Tatakis DN. Accelerated alveolar bone loss in mice lacking interleukin-10. *J. dent. res.* 2003 Aug;82(8):632-5.

Atwood DA. Reduction of residual ridges: a major oral disease entity. *J. prosthet. dent.* 1971 Sep;26(3):266-79.

Atwood DA. Some clinical factors related to rate of resorption of residual ridges. *J. prosthet. dent.* 2001 Sep;86(2):119-125

Bezzerra FJB, Lenharo A. *Terapia Avançada em Implantodontia.* São Paulo: Artes Médicas; 2002.

Binderman I, Adut M, Yaffe A. Effectiveness of local delivery of alendronate in reducing alveolar bone loss following periodontal surgery in rats. *J. periodontol.* 2000 Aug;71(8):1236-40.

Binderman I, Adut M, Zohar R, Bahar H, Faibish D, Yaffe A. Alveolar bone resorption following coronal versus apical approach in a mucoperiosteal flap surgery procedure in the rat mandible. *J. periodontol.* 2001 Oct; 72(10):1348-53.

Black LJ, Sato M, Rowley ER, Magee DE, Bekele A, Williams DC, Cullinan GJ, Bendele R, Kauffman RF, Bensch WR, et al. Raloxifene (LY139481 HCl) prevents bone loss and reduces serum cholesterol without causing uterine hypertrophy in ovariectomized rats. *J. clin. invest.* 1994 Jan;93(1):63-9.

Broulik PD, Brouliková K. Raloxifen prevents bone loss in castrated male mice. *Physiol Res* 2007; 56(4): 443-7.

Budtz-Jørgensen E. Age-related changes of the masticatory apparatus. In: Budtz-Jørgensen E. *Prosthodontics for Elderly: diagnosis and treatment.* Illinois: Quintessence Publishing Co, Inc; 1999. p.23-48.

Drage NA, Palmer RM, Blake G, Wilson R, Crane F, Fogelman I. A comparison of bone mineral density in the spine, hip and jaws of edentulous subjects. *Clin. oral implant. res.* 2007 Aug;18(4):496-500.

Erlandsson MC, Jonsson CA, Lindberg MK, Ohlsson C, Carlsten H. Raloxifene- and estradiol-mediated effects on uterus, bone and B lymphocytes in mice. *J. endocrinol.* 2002 Nov;175(2):319-27.

Ettinger B, Black DM, Mitlak BH, Knickerbocker RK, Nickelsen T, Genant HK, et al. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. *JAMA* 1999 Aug 18;282(7):637-45. Erratum in: *JAMA* 1999 Dec 8;282(22):2124.

Evans G, Bryant HU, Magee D, Sato M, Turner RT. The effects of raloxifene on tibia histomorphometry in ovariectomized rats. *Endocrinology*. 1994 May; 134(5): 2283-8.

Folwarczna J, Sliwiński L, Cegięła U, Pytlik M, Kaczmarczyk-Sedlak I, Nowińska B, Janiec W, Trzeciak HI. Raloxifene similarly affects the skeletal system of male and ovariectomized female rats. *Pharmacol. Rep.* 2007; 59(3):349-58.

Frost MH. The biology of fracture healing: An overview for clinicians Part I. *Clin. orthop. relat. res.* 1989;248:283-93.

Frost MH. The biology of fracture healing: An overview for clinicians Part II. *Clin. orthop. relat. res.* 1989;248:294-309.

Grevstad HJ, Boe OE. Effect of doxycycline on surgically induced osteoclast recruitment in the rat. *Eur. j. oral sci.* 1995 Jun;103(3):156-9.

Grevstad HJ. Doxycycline prevents root resorption and alveolar bone loss in rats after periodontal surgery. *Scand. j. dent. res.* 1993 Oct;101(5):287-91.

Guyton AC. *Tratado de fisiologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1977.

Heaney RP, Draper MW. Raloxifene and estrogen: comparative bone-remodeling kinetics. *J. clin. endocrinol. metab.* 1997; 82: 3425-3429.

Hilgert JB, Hugo FN, Bozzetti MC, Padilha DMP. Comparison of two techniques for measuring alveolar bone loss in mice (in Portuguese). *Pesqui. odontol. bras.* 2002; 16: 216.

Junqueira LC, Carneiro, J. *Histologia Básica*. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.

Katchburian E, Arana V. Tecido Ósseo. In: Kratchburian E, Arana V. *Histologia e Embriologia Oral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1989. p. 39-75.

Kaynak D, Meffert R, Bostanci H, Gunhan O, Ozkaya OG. A histopathological investigation on the effect of systemic administration of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the rat mandible. *J. periodontol.* 2003 Sep;74(9):1348-54.

Kaynak D, Meffert R, Gunhan M, Gunhan O, Ozkaya O. A histopathological investigation on the effects of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the mandible of rats. *J. periodontol.* 2000 May;71(5):790-6.

Lam, R.V. Contour changes of the alveolar processes following extractions. *J.prosthet. dent.* 1960 Jan-Feb 10(1): 25-32

Lieberman UA, Weiss SR, Bröll J, Minne HW, Quan H, Bell NH, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group N. Engl. j. med. 1995 Nov;333(22):1437-43.

Lindh C, Obrant K, Peterson A. Maxillary bone mineral density and its relationship to the bone mineral density and its relationship to the bone mineral density of the lumbar spine and hip. Oral surg. oral med. oral pathol. oral radiol. endod. 2004 Jul;98(1):102-9.

Marx RE, Garg AK. Bone structure, metabolism, and physiology: its impact on dental implantology. Implant dent. 1998;7(4):267-76.

Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. J. oral maxillofac. surg. 2005 Nov;63(11):1567-75.

Meghji S. Bone remodeling. Br. dent. j. 1992 Mar;172(5):235-42.

Menezes AM Rocha FA, Chaves HV, Carvalho CBM, Ribeiro RA, Brito GA. Effect of sodium alendronate on alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. J. periodontol. 2005; 76: 1901-1909.

Morii H, Ohashi Y, Taketani Y, Fukunaga M, Nakamura T, Itabashi A, Sarkar S, Harper K. Effect of raloxifene on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in Japanese postmenopausal women with osteoporosis: results from a randomized placebo-controlled trial. Osteoporos. Int. 2003; 14(10):793-800.

Moriya Y, Ito K, Murai S. Effects of experimental osteoporosis on alveolar bone loss in rats. J. oral science. 1998 Dec;40(4):171-5.

Muchmore, DB. Raloxifene: a selective estrogen modulator (SERM) with multiple target effects. Oncologist. 2000;5(5):388-92.

Neves JB. Implantodontia Oral. São Paulo: Rona; 2001.

Nijweide PJ, Burger EH, Nulend JK, Van der Plas A. The osteocycle. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA. Principles of bone biology. San Diego: Academic Press; 1996. p.9-115.

Nyman S, Lindhe J, Ericsson I. The effect of progressive tooth mobility on destructive periodontitis in the dog. J. clin. periodontol. 1978 Aug; 5(3): 213-25.

Ott SM. Theoretical and methodological approach. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA. Principles of bone biology. San Diego: Academic Press; 1996. p.18-231.

Pødenphant J, Engel U. Regional variations in histomorphometric bone dynamics from the skeleton of an osteoporotic woman. *Calcif. tissue int.* 1987; 40(4):184-188.

Rivaldo EG, Padilha DP, Hugo FN. Alveolar bone loss and aging: A model for the study in mice. *J. periodontol.* 2005 Nov;76(11):1966-71.

Rivaldo EG, Padilha DM, Hugo FN, Hilgert JB, Rybu BR. Reproducibility of a hemi mandible positioning device and a method for measuring alveolar bone loss area in mice. *J. oral sci.* 2007 Mar;49(1):13-7.

Roberts WE, Turley PK, Brezniak N, Fielder PJ. Implants: bone physiology and metabolism. *CDA. j.* 1987 Oct;15 (10):54-61.

Roberts WE. Bone tissue interface. *J. dent. educ.* 1988 Dec;52(12):804-9.

Rodan GA. Mechanisms of action of bisphosphonates. *Ann. rev. pharmacol. toxicol.* 1998; 38: 375-388.

Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J. oral maxillofac. surg.* 2004 May;62(5):527-34

Staffileno H, Wentz F, Orban B. Histologic study of healing of split thickness flap surgery in dogs. *J. periodontol.* 1962; 33(2):56-69.

Stein GS, Lian JB, Stein JL, Wijen AJ, Frenkel B, Montecino M. Mechanisms regulating osteoblast proliferation and differentiation. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA. *Principles of bone biology.* San Diego: Academic Press; 1996. p.6-69.

Suda T, Udagawa N, Takahashi N. Cells of bone: osteoclast generation. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA. *Principles of bone biology.* San Diego: Academic Press; 1996. p.7-87.

Tallgren A. The continuing reduction of the residual alveolar ridges in complete denture wearers: a mixed longitudinal study covering 25 years. *J. prosthet. dent.* 2003 May;89(5):427-35.

Taranta A, Brama M, Teti A, De luca V, Scandurra R, Spera G, et al. The selective estrogen modulator raloxifene regulates osteoclast and osteoblast activity in vitro. *Bone* 2002; 30(2): 368-376.

Torres SVS. Saúde Bucal: alterações fisiológicas e patológicas do envelhecimento. In: Freitas EV, et al. *Tratado de Geriatria e Gerontologia.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p.828-37.

Verna C, Melsen B, Melsen F. Differences in Static Cortical Bone Remodeling Parameters in Human Mandible and iliac Crest. *Bone* 1999 Nov;25(5):577-83.

Walsh BW, Kuller LH, Wild RA, Paul S, Farmer M, Lawrence JB, et al. Effects of raloxifene on serum lipids and coagulation factors in healthy postmenopausal women. *J. am. med. assoc.* 1998 13;279(18):1445-51.

Weinstein RS, Parfitt AM, Marcus R, Greenwald M, Crans G, Muchmore DB. Effects of raloxifene, hormone replacement therapy, and placebo on bone turnover in postmenopausal women. *Osteoporos. Int.* 2003;14(10):814-22.

Wood DL, Hoag PM, Donnefeld OW, Rosenberg DL. Alveolar crest reduction following full and partial thickness flaps. *J. periodontol.* 1972; 43: 141-4

Yaffe A, Binderman I, Breuer E, Pinto T, Gomb G. Disposition of alendronate following local delivery in a rat jaw. *J. periodontol.* 1999; 70: 893-5

Yaffe A, Fine N, Alt I, Binderman I. The effect of bisphosphonate on alveolar bone resorption following mucoperiosteal flap surgery in the mandible of rats. *J. periodontol.* 1995 Nov;66(11):999-1003.

Yaffe A, Fine N, Binderman I. Regional accelerated phenomenon in the mandible following mucoperiosteal flap surgery. *J. periodontol.* 1994; 65(1):79-83

Yaffe A, Golomb G, Breuer E, Binderman I. The effect of topical delivery of novel bisacylphosphonates in reducing alveolar bone loss in the rat model. *J. periodontol.* 2000 Oct;71(10):1607-12.

Yaffe A, Herman A, Bahar H, Binderman I. Combined local application of tetracycline and bisphosphonate reduces alveolar bone resorption in rats. *J. periodontol.* 2003 Jul;74(7):1038-42.

Yaffe A, Iztkevich M, Earon Y, Alt I, Lilov R, Binderman I. Local delivery of an amino bisphosphonate prevents the resorptive phase of alveolar bone following mucoperiosteal flap surgery in rats. *J. periodontol.* 1997 Sep;68(9):884-9.

Yaffe A, Kollerman R, Bahar H, Binderman I. The influence of alendronate on bone formation and resorption in a rat ectopic bone development model. *J. periodontol.* 2003 Jan;74(1):44-50.

7 ANEXOS

7.1 Aprovação No Comitê De Ética



UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E EXTENSÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS E ANIMAIS

TERMO DE AVALIAÇÃO

CEP-ULBRA 2007-010A							
Título: AVALIAÇÃO DO EFEITO DO MODULADOR SELETIVO DE ESTROGÊNIO NA REABSORÇÃO ÓSSEO ALVEOLAR							
Autora e Pesq. Resp: Cristiane de Alencar Oliveira							
P. Orient. Elken Gomes Rivatto							
Tipo de projeto:		Pesquisa	Doutorado(tese)	X	Mestrado (Dissertação)	TCC (Pós Lato Sensu)	TCC (Graduação)
Curso:		Odontologia			Dir. Pesq.:		Ingresso: 13/04/2007
Instituição onde será realizada:		Ulbra CanoasRS					
Patrocinador:		Autora					
Data:		Reunião Ordinária de 26/04/2007					

O projeto de pesquisa, acima identificado, foi avaliado e APROVADO como eticamente adequado e de acordo com as Leis 6.638/79 e 9605/98, com o Decreto 24.645/34, com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA), com os Princípios para Pesquisa envolvendo Animais (Genebra, 1985) e outras instruções que tratam da matéria, pelo plenário do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos e Animais da ULBRA.

O pesquisador responsável deverá apresentar relatórios anuais a este CEP, informando os resultados parciais do projeto, bem como comunicar a data de conclusão da pesquisa.

Canoas, 30 de abril de 2007.


DR. JOSÉ SCHNEIDER SANTOS
Coordenador do CEP-ULBRA

7.2 Instruções De Publicação Para Os Autores - Journal Of Periodontology

Instructions to Authors

Updated July 2007

CONTENT

The *Journal of Periodontology* publishes articles relevant to the science and practice of periodontics and related areas. Manuscripts are accepted for consideration with the understanding that text, figures, photographs, and tables have not appeared in any other publication, except as an abstract prepared and published in conjunction with a presentation by the author(s) at a scientific meeting, and that material has been submitted only to this journal.

MANUSCRIPT CATEGORIES AND SPECIFIC FORMATS

Submissions to the *Journal of Periodontology* should be limited to one of the categories defined below. Specific information regarding length and format is provided for each category. Please also refer to the instructions provided under Manuscript Submission, Preparation, and Format.

All manuscripts will be reviewed by the Editors for novelty, potential to extend knowledge, and relevance to clinicians and researchers in the field. Some manuscripts will be returned without review, based on the Editors' judgment of the appropriateness of the manuscript for the *Journal of Periodontology*.

ORIGINAL ARTICLES

These are papers that report significant clinical or basic research on the pathogenesis, diagnosis, and treatment of the different forms of periodontal disease. Papers dealing with design, testing, and other features of dental implants are also included.

Format

Original articles must be limited to 4,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the combined number of figures and tables must be 6 or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

Abstract

All original articles should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- * **Background:** Describes the problem being addressed.
- * **Methods:** Describes how the study was performed.
- * **Results:** Describes the primary results.
- * **Conclusions:** Reports what authors have concluded from these results, and notes their clinical implications.

Introduction

The Introduction contains a concise review of the subject area and the rationale for the study. More detailed comparisons to previous work and conclusions of the study should appear in the Discussion section.

Materials and Methods

This section lists the methods used in the study in sufficient detail so that other investigators would be able to reproduce the research. When established methods are used, the author need only refer to previously published reports; however, the authors should provide brief descriptions of methods that are not well known or that have been modified. Identify all drugs and chemicals used, including both generic and, if necessary, proprietary names and doses. The populations for research involving humans should be clearly defined and enrollment dates provided.

Results

Results should be presented in a logical sequence with reference to tables, figures, and illustrations as appropriate.

Discussion

New and possible important findings of the study should be emphasized, as well as any conclusions that can be drawn. The Discussion should compare the present data to previous findings. Limitations of the experimental methods should be indicated, as should implications for future research. New hypotheses and clinical recommendations are appropriate and should be clearly identified. Recommendations, particularly clinical ones, may be included when appropriate.

STATE OF THE ART REVIEWS

These are focused reviews of basic and clinical science related to periodontics and implant dentistry. These reviews should be concise and address an important and timely clinical question. The review should be based on a critical assessment of the literature, and may include data or examples from the research or clinical experience of the author(s). Authors should discuss clinical relevance and future projections. At-large submissions will be considered, but authors should contact the Editor-in-Chief before developing a manuscript to avoid duplicating a topic already in preparation. Papers should be balanced, literature-based reviews that are concise (2,000 to 3,000 words) with about 100 key references. Articles

Instructions to Authors

should be written at a level instructive to *Journal* readers. For example, clear definitions of abbreviations and a glossary of terms may be useful for defining highly technical or new terminology. Since critical reviews require selection of reports and interpretation of data, authors should not have a financial interest in the companies making products or providing services described in the review.

Format

Abstract

The abstract should summarize the main conclusions of the review in 350 words or less.

Introduction

A question or series of related questions to be addressed should be given; rationales for asking these questions and why the questions are timely should be explained.

Methods

The method of reviewing the literature should be discussed (e.g., bibliographic indexes and databases used, limits on years covered by the search, languages searched, and other important information regarding the search process should be described).

Body

A sequence of logical subsections that reflect the area being reviewed should be developed. This section should be a critical analysis of the literature, including arguments needed to support the conclusions reached; why certain papers not meeting well-described critical standards, such as randomized clinical trials, were not used as evidence; and what issues remain unresolved and need further study. Evidence tables are often useful in summarizing reviewed literature, and various statistical analyses appropriate to reviewing literature, such as meta-analysis, should be considered.

COMMENTARY

The purpose of these papers is to provide a forum for discussion of controversies and other issues as they relate to the practice of periodontics and implant dentistry. Full and balanced discussion of controversies on important issues is encouraged. This may result in several authors each presenting a relevant viewpoint. Commentary articles should be concise (2,000 to 3,000 words); however, they should be complete and balanced, which may require that the issue or controversy addressed be highly focused. Appropriate references should be cited.

Format

Introduction

This section should clearly state the clinical question or issues to be discussed and document their importance and timeliness.

Body

The body should present the information supporting all aspects of the issues. This portion of the Commentary may be subdivided as appropriate with headings. Figures, tables, and other illustrative materials may be incorporated.

Summary

The summary should place the issue in perspective and point a way for future directions in addressing the controversy.

Acknowledgments

Since these papers allow authors to express their opinions on a subject, it is extremely important that authors disclose any and all affiliations, financial position, or any other information that constitutes a real or perceived conflict of interest.

CASE REPORTS

These manuscripts emphasize clinical periodontics and related oral medicine and pathology. Unusual cases illustrating lesions affecting the orofacial structures that may be expected to influence management of periodontal and implant patients could be presented. Case reports should describe: 1) unique cases that may represent a previously undescribed condition; 2) unexpected association of two or more diseases; 3) adverse or unexpected treatment response; or 4) any other clinical observation based upon well-documented cases that provide important new information.

CASE SERIES

These papers report a sufficient number of consecutive or randomized cases to make a persuasive argument for or against the procedure, technique, or concept under discussion. Cases should be relatively homogeneous so that a systematic evaluation of one type of disease, lesion, or condition is made for the procedure under consideration. Also, treatment and documentation should be consistent and standardized for all cases. It is recognized that definitive evidence for the safety and efficacy of any procedure, drug, or device comes primarily from well-designed, randomized, controlled trials. However, well-executed case series may lead to hypotheses about the usefulness

Instructions to Authors

of new and innovative procedures, drugs, or devices and may therefore be of value to the progress of clinical science.

Format

Abstract

Case Reports and Case Series should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- * **Background:** Describes the clinical situation being discussed.
- * **Methods:** Describes the clinical procedures (surgical and non-surgical) performed.
- * **Results:** Describes the clinical results.
- * **Conclusions:** Reports what authors have concluded, specifically clinical implications in practice situations.

Introduction

This section should include a critical review of the pertinent literature.

Case Description and Results

This section describes the case or cases, including all relevant data. For ease of presentation, tables describing longitudinal data in a chronological form may be useful. Carefully selected, high-quality clinical photographs in full color, as well as radiographs, are encouraged.

Discussion

This should include findings, put into perspective with respect to the field and literature. Unique arguments and new information gained should be summarized. Consideration of the clinical significance of the case(s) should be emphasized in all sections.

CLINICAL PRACTICE (FORMERLY INNOVATIONS IN PERIODONTICS)

These manuscripts should emphasize methods, such as the application of new technology, materials, and techniques to patient management, and should be illustrated carefully and fully, with radiographs and color clinical photographs. The innovation/method should be described in detail so that readers can duplicate the procedures.

In addition, the innovation/method should have been used on a sufficient number of cases or subjects to demonstrate its utility and any adverse effects. Also, experience in use of the technique should allow the author(s) to describe situations or conditions where the procedure may not work as effectively. Only pro-

cedures that give consistent results documented over a sufficiently large number of cases should be submitted for publication.

Manuscripts should be concise and should consist of an abstract, an introduction, a description of the innovation/method in conjunction with management of a case(s), and a discussion.

It should be noted that certain new innovations might require human subject review and informed consent. It is the responsibility of the author to obtain these.

In particular, the Editors are seeking papers describing how practitioners manage site preservation, pre-implant surgery, guided tissue regeneration, furcation preparation, root resection, suturing, and root coverage of extensively prepped teeth and/or previously restored roots, although other topics are encouraged as well.

GUEST EDITORIALS

Guest Editorials may be invited or may be submitted from authorities in certain areas as a means of offering their perspective on one or more articles published in the *Journal*, or on other items of interest to the readership.

LETTERS TO THE EDITOR

Letters may comment on articles published in the *Journal* and should offer constructive criticism. If a letter comments on a published article, the author(s) will be provided 60 days to respond to the observations.

Letters to the Editor may also address any aspect of the profession, including education and training, new modes of practice, and concepts of disease and its management.

Letters should be brief, focused on one or a few specific points or concerns, and can be signed by no more than five individuals.

Citations should be handled as standard references.

MANUSCRIPT SUBMISSION, PREPARATION, AND FORMAT

The *Journal of Periodontology* accepts manuscript submissions online at the following URL: <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>.

Authors should prepare manuscripts in accordance with both the instructions below and the preceding instructions provided for each manuscript category.

Detailed instructions for online submission are described under "Web Uploading Policies and Instructions."

Instructions to Authors

Inquiries regarding current submissions should be sent to: Managing Editor, *Journal of Periodontology*, 737 North Michigan Avenue, Suite 800, Chicago, IL 60611-6660. Telephone: 312/573-3224; e-mail: julie@perio.org.

SUBMISSION

Authorship

Individuals identified as authors must meet the following criteria established by the International Committee of Medical Journal Editors: 1) substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and 3) final approval of the version to be published.

Once the *Journal* has received a manuscript, any changes in authorship must be faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator) and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper. Authors who are added must submit a conflict of interest and financial disclosure form (described under "Acknowledgments and Conflicts of Interest").

Letter of Submission / Conflicts of Interest

A conflict of interest and financial disclosure form must be submitted for each author.

A template form can be found on JOP Manuscript Central™ (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms." More information on conflicts of interest can be found under "Conflicts of Interest" below.

PREPARATION

Style

Please follow the guidelines below when preparing the manuscript:

- * Be sure to put the genus and species of an organism and journal names in the reference section in italics.
- * The *Journal of Periodontology* does not italicize common Latin terms such as *in vitro*, *in vivo*, *e.g.*, or *i.e.*
- * Use a block style; do not tabulate or indent material.
- * Refer to the 4th edition of the *Glossary of Periodontal Terms* published by the American Academy of Periodontology for preferred terminology.

Authors are encouraged to use the disease classification as outlined in the *Annals of Periodontology*, volume 4 (1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions). A summary can be found on the American

Academy of Periodontology Web site at <http://www.perio.org/resources-products/classification.htm>.

FORMAT

Manuscripts must be submitted in Microsoft Word. Margins should be at least 1" on both sides and top and bottom. Materials should appear in the following order:

Title Page
Abstract (or Introduction) and Key Words
Text
Footnotes
Acknowledgments
References
Figure Legends
Tables

Figures should not be embedded in the manuscript. Authors should retain a copy of their manuscript for their own records.

TITLE PAGE

The Title Page should contain: 1) a concise but informative title; 2) first name, middle initial, and last name of each author, with the highest academic degree and the current institutional affiliation for each; 3) name of the department(s) and institution(s) to which the work should be attributed (please use footnote symbols [in the sequence *, †, ‡, §, ||, ¶, #, **, etc.] to identify authors and their corresponding institutions); 4) disclaimers, if any; 5) the name and address (including fax number and e-mail) of the author(s) responsible for correspondence (please indicate whether fax number and e-mail can be published); 6) sources of support in the form of grants, equipment, drugs, or other significant sources of support; 7) any financial relationships between any author and a commercial firm that may pose a conflict of interest; 8) word count and number of figures and tables in the manuscript; 9) a short running title of no more than 60 characters, including spaces; and 10) a one-sentence summary describing the key finding(s) from the study.

ABSTRACT OR INTRODUCTION

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

KEY WORDS

A maximum of six key words or short phrases, drawn from MeSH documentation, to facilitate indexing should be listed below the abstract.

Instructions to Authors

TEXT

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

ACKNOWLEDGMENTS AND CONFLICTS OF INTEREST

Acknowledgments

At the end of the Discussion, acknowledgments may be made to individuals who contributed to the research or the manuscript preparation at a level that did not qualify for authorship. This may include technical help or participation in a clinical study. Authors are responsible for obtaining written permission from persons listed by name. Acknowledgments must also include a statement that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author.

Conflicts of interest

In the interest of transparency and to allow readers to form their own assessment of potential biases that may have influenced the results of research studies, the *Journal of Periodontology* now requires that all authors declare potential competing interests relating to papers accepted for publication. Conflicts of interest are defined as those influences that may potentially undermine the objectivity or integrity of the research, or create a perceived conflict of interest.

Authors are required to submit:

- 1) A statement in the manuscript, following Acknowledgments, that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author. If an author has no commercial relationships to declare, a statement to that effect should be included. This statement should include financial relationships that may pose a conflict of interest or potential conflict of interest. These may include financial support for research (salaries, equipment, supplies, travel reimbursement); employment or anticipated employment by any organization that may gain or lose financially through publication of the paper; and personal financial interests such as shares in or ownership of companies affected by publication of the research, patents or patent applications whose value may be affected by this publication, and consulting fees or royalties from organizations which may profit or lose as a result of publication. An example is shown below.
- 2) A conflict of interest and financial disclosure form for each author. This form can be found on JOP Manuscript Central™ (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms." The form should be completed by each author and provided to the corresponding author. The corresponding author is responsible for submitting these forms from each author when the manuscript is submitted. These forms should be sent to Bethanne Wilson, Editorial Coordinator, either via e-mail at bethanne@perio.org or fax at 312/573-3225. These forms can also be uploaded in the cover letter area during the manuscript submission process.

Conflict of interest information will not be used as a basis for suitability of the manuscript for publication.

Example of conflict of interest statement:

Example of conflict of interest statement:

This study was supported by a grant from the Acme Implant Corporation, Seoul, Korea. Drs. Able, Kim, and Bruce report no financial relationships related to any products involved in this study. Dr. Lee is on the scientific advisory board for Acme Implant Corporation and gives lectures sponsored by the company. Dr. Smith is a consultant and shareholder of the Brownstone Implant Corporation, Boston, MA. Dr. Wang is employed full-time as chief technical officer of the Acme Implant Corporation.

REFERENCES

References should be numbered consecutively in the order in which they appear in the text. A journal, magazine, or newspaper article should be given only one number; a book should be given a different number each time it is mentioned, if different page numbers are cited.

All references are identified, whether they appear in the text, tables, or legends, by Arabic numbers in superscript. Journal title abbreviations should be those used by the U.S. National Library of Medicine. If you are uncertain about the correct abbreviation for a journal title, please refer to the NLM's comprehensive listing at <ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/jlweb.pdf>.

The use of abstracts as references is strongly discouraged. Manuscripts accepted for publication may be cited. Material submitted, but not yet accepted, should be cited in text as "unpublished observations." Written and oral personal communications may be referred to in text, but not cited as references. Please provide the date of the communication and indicate whether it was in a written or oral form. In addition, please identify the individual

Instructions to Authors

and his/her affiliation. Authors should obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication. Presented papers, unless they are subsequently published in a proceedings or peer-reviewed journal, may not be cited as references. In addition, Wikipedia.org may not be cited as a reference. For most manuscripts, authors should limit references to materials published in peer-reviewed professional journals. In addition, authors should verify all references against the original documents. References should be typed double-spaced. Examples of references are given below. Authors are encouraged to consult EndNote for the *Journal of Periodontology's* preferred reference style.

Journals

1. Standard journal reference. Note: list all authors if six or fewer; when seven or more, list only first three and add et al. Glass DA, Mellonig JT, Towle HJ. Histologic evaluation of bone inductive proteins complexed with coralline hydroxyapatite in an extraskeletal site of the rat. *J Periodontol* 1989;60:121-125.
2. Corporate author. Federation Dentaire Internationale. Technical report no. 28. Guidelines for antibiotic prophylaxis of infective endocarditis for dental patients with cardiovascular disease. *Int Dent J* 1987;37:235.
3. Journal paginated by issue. Card SJ, Caffesse RG, Smith BA, Nasjleti CE. New attachment following the use of a resorbable membrane in the treatment of periodontitis in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1989;9(1):59-69.
4. Non-English-language titles translated into English. Buchmann R, Khoury F, Hesse T, Müller RF, Lange DE. Antimicrobial therapy of peri-implant disease (in German). *Z Zahnärztl Implantol* 1996; 12:152-157.

Books and Other Monographs

5. Personal author(s). Tullman JJ, Redding SW. *Systemic Disease in Dental Treatment*. St. Louis: The CV Mosby Company; 1983:1-5.
6. Chapter in a book. Rees TD. Dental management of the medically compromised patient. In: McDonald RE, Hurt WC, Gilmore HW, Middleton RA, eds. *Current Therapy in Dentistry*, vol. 7. St. Louis: The CV Mosby Company; 1980:3-7.
7. Agency publication. Miller AJ, Brunelle JA, Carlos JP, Brown LJ, Løe H. Oral Health of United States Adults. Bethesda, MD: National

Institute of Dental Research; 1987. NIH publication no. 87-2868.

8. Dissertation or thesis. Teerakapong A. Langerhans' cells in human periodontally healthy and diseased gingiva. [Thesis]. Houston, TX: University of Texas; 1987. 92 p.

Electronic Citations

9. Online journals without volume and page information. Berlin JA, Antman EM. Advantages and limitations of meta-analytic regressions of clinical trials data. *Online J Curr Clin Trials* [serial online]. June 4, 1994; doc 134. Accessed July 20, 2000.
10. Online journals with volume and page information. Fowler EB, Breault LG. Ridge augmentation with a folded acellular dermal matrix allograft: A case report. *J Contemp Dent Pract* [serial online]. 2001;2(3):31-40. Available from: Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH. Accessed December 15, 2001.
11. Web sites. Centers for Disease Control and Prevention. Preventing emerging infectious diseases: Addressing the problem of antimicrobial resistance. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/emergplan/antiresist/>. Accessed November 5, 2001.

TABLES

Tables should be numbered consecutively in Arabic numbers in the order of their appearance in the text. A brief descriptive title should be supplied for each. Explanations, including abbreviations, should be listed as footnotes, not in the heading. Every column should have a heading. Statistical measures of variations such as standard deviation or standard error of the mean should be included as appropriate in the footnotes. Do not use internal horizontal or vertical rules.

FIGURE LEGENDS

Legends should be typed double-spaced with Arabic numbers corresponding to the figure. When arrows, symbols, numbers, or letters are used, explain each clearly in the legend; also explain internal scale, original magnification, and method of staining as appropriate. Panel labels should be in capital letters. Legends should not appear on the same page as the actual figures.

FIGURES

Digital files must be submitted for all figures.

Instructions to Authors

Submit one file per figure. Multiple panels should be labeled and combined in a single file. Photomicrographs should have internal scale markings. Human subjects must not be identifiable in photographs, unless written permission is obtained and accompanies the photograph. Lettering, arrows, or other identifying symbols should be large enough to permit reduction and must be embedded in the figure file. Figure file names must include the figure number.

Clinical color photographs are encouraged. There is no charge to the author for publication of any figure. Authors are asked to use shades of green, blue, or purple in color graphs. Yellow, red, and orange should be avoided unless scientifically necessary (e.g., to depict species of the orange complex, red complex, etc.).

Authors are strongly encouraged to prepare basic, simple designs that can be clearly understood when reproduced; use of "3-dimensional" graphics is not recommended. Unnecessarily complex designs may be returned for simplification before publication.

Details of programs used to prepare digital images must be given to facilitate use of the electronic image. Use solid or shaded tones for graphs and charts. Patterns other than diagonal lines may not reproduce well.

DIGITAL FILE SPECIFICATIONS

To ensure the highest quality reproduction of your figures, please observe the following recommendations.

Resolution

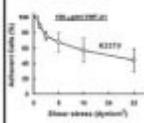
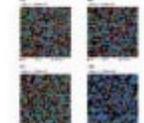
Proper resolution is very important to preserve the quality of your printed figures. The following resolutions must be submitted for your files.

Please do not reduce your figures below a readable size to achieve higher resolution. These files will not be usable.

Format

TIFF or EPS files at the proper resolution (see above) will give the best results. If you cannot produce these files, do not send low-resolution conversions. With all figures, please also send a PDF that can be rasterized in the event your files are not usable.

Word, Excel, PS, and JPEG files can sometimes be acceptable alternatives. Send these along with a PDF if you cannot achieve the proper results in TIFF or EPS format. For graphs and charts, do not use patterned fills. Solid tones or colors are recommended instead.

Line Art (type and line only)	All Color Images and B/W Combination Halftones (images and type)	B/W Halftones (grayscale with no type or lettering)
		
1000 dpi	600 dpi	300 dpi

Color Space

Figures should be saved as CMYK, not RGB. Files submitted in RGB will be converted to CMYK, and significant color shift may occur.

Font

Files other than TIFF or JPEG must be saved with fonts embedded. Acceptable fonts include Helvetica, Times New Roman, Symbol, Mathematical Pi, and European Pi. All other fonts may be replaced, resulting in data loss or realignment.

Other

Please send a PDF with all figure submissions and verify that the PDF and digital versions of your figures are identical. If you have any questions concerning the creation or submission of digital art, please visit the Dartmouth Journal Services Web site at <http://www.dartmouthjournals.com/digart.html> or send an e-mail to perlo@dartmouthjournals.com.

UNITS OF MEASUREMENT

Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units or their decimal multiples. Temperatures should be given in degrees Celsius and blood pressure in millimeters of mercury. All hematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Description of teeth should use the American Dental Association (i.e., Universal/National) numbering system.

STATISTICS

Statistical methods should be described such that a knowledgeable reader with access to the original

Instructions to Authors

data could verify the results. Wherever possible, results should be quantified and appropriate indicators of measurement error or uncertainty given. Sole reliance on statistical hypothesis testing or normalization of data should be avoided. Data in as close to the original form as reasonable should be presented. Details about eligibility criteria for subjects, randomization, methods for blinding of observations, treatment complications, and numbers of observations should be included. Losses to observations, such as dropouts from a clinical trial, should be indicated. General-use computer programs should be listed. Statistical terms, abbreviations, and symbols should be defined. Detailed statistical, analytical procedures can be included as an appendix to the paper if appropriate.

ANIMAL AND HUMAN TRIALS

All manuscripts reporting the use of human subjects must include a statement that the protocol was approved by the author's institutional review committee for human subjects or that the study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000. Do not use any designation in tables, figures, or photographs that would identify a patient, unless express written consent from the patient is submitted.

For research involving the use of animals, it is necessary to indicate that the protocol was approved by the author's institutional experimentation committee or was in accordance with guidelines approved by the Council of the American Psychological Society (1980) for the use of animal experiments.

FOOTNOTES

Footnotes should be used only to identify author affiliation; to explain symbols in tables and illustrations; and to identify manufacturers of equipment,

medications, materials, and devices. Use the following symbols in the sequence shown: *, †, ‡, §, ||, ¶, #, **, ††, etc.

IDENTIFICATION OF PRODUCTS

Use of brand names within the title or text is not acceptable, unless essential when the paper is comparing two or more products. When identification of a product is needed or helpful to explain the procedure or trial being discussed, a generic term should be used and the brand name, manufacturer, and location (city/state/country) cited as a footnote.

REVIEW PROCESS AND PUBLICATION PROCEDURES

Peer Review

The *Journal of Periodontology* is a peer-reviewed publication. All manuscripts, including State of the Art Reviews, Commentaries, Case Reports, Case Series, and Clinical Practice, are submitted to a minimum of two reviewers and, when appropriate, to a statistical reviewer. Authors are given reviewer comments and additional information or observations as the Editor believes would be helpful. Revised manuscripts are due within 30 days of receipt of the Editor's communication.

Copyright

All manuscripts accepted for publication become the property of the American Academy of Periodontology. A copyright form must be signed by all authors and returned to the Managing Editor. A file containing this form always accompanies the acceptance e-mail.

Reprints

Corresponding authors may purchase reprints at the time pages are received for proofreading. Reprints can be purchased in 4-color or black and white.

7.3 Instruções De Publicação Para Os Autores - Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science

Categories of papers

The Journal will publish manuscripts in the following categories: *Original scientific articles*. Such reports may be based on an animal experiment, but may as well be the results of epidemiological surveys, case studies, description of theories, etc. The results must not have been published elsewhere. If parts of the results have been published elsewhere (e.g. as an abstract) this information must be given in the accompanying letter. *Reviews* survey recent developments within a relevant area. *Notes* are short reports fulfilling the requirements for an original scientific article, but not allowing any general conclusions. *Technical reports* gives details about one or several specific techniques developed by the author without any scientific conclusions. *Letters* are comments on any matter of concern within the field of laboratory animal science.

All original scientific articles, reviews and notes are peer reviewed by at least two external referees. Authors are welcome to suggest referees.

Style and format

The papers should be written in concise and clear English. Technical reports and letters may be accepted in a Scandinavian language. All procedures involving live animals must have been performed in accordance with National legislation and The Council of European Convention ETS 123. Papers should be in the following sections: Front page with title, subtitle, names and addresses of authors, and a detailed address for correspondence. Then a brief summary (stating what was achieved), introduction, materials and methods, results, discussion (ending with any conclusions), acknowledgements (if any), and references.

All references must be given as by the original author but with first names as initials only and giving the initials of the first author after the surname and the remaining in front of the surname. All authors are listed (and written in *italics*). Then follows: Title of the paper, Name of the journal in abbreviation, year of publication, volume (in *italics*), issue no. (when given), first page-last page. When quoting parts of books the editor names are given followed by (eds.) and the title of the book, publisher and year. In the text references are quoted, depending on the number of authors, as in this issue, with quotes in brackets written in *italics*. Under the materials and methods section detailed information must be given concerning animals (species, stock/strain, source, genetic and microbiological status, age or weight), their husbandry (microbiological protection, equipment, caging, bedding, temperature, humidity, lighting, ventilation, feeding), products used, and the experimental procedure. Commercial suppliers are given in brackets after the product followed by the city and country.

Submission, proof-correction and reprints

Papers are either submitted electronically by e-mail or it a paper copy to the Editorial and Advertising Office (see [Editorial Board](#)). Paper submission must be accompanied by an electronic version with MS-Word-compatible version of the paper on disk or CD. Tables, illustrations, graphs and texts for illustrations should be supplied in a ready to print quality, or electronically in JPG, TIFF, EPS or BMP version.

Multi-author papers: please ensure any correspondence with the Editorial Office subsequent to the initial submission (including comments to the printed proofs) is

conducted *through the single identified "Author for Correspondence"*. For all papers, the printed proofs must be returned to the office, with any comments, within 3 days after receipt. Fifty reprints are provided free of charge to the author(s). Additional reprints can be ordered.

Contact

details

Please ensure that your initial submission includes full postal address, telephone and fax numbers, and e-mail address.

de: <http://biomedicum.ut.ee/sjlas/instructions.html>

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](#)