



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
CENTRO BIOMÉDICO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA CLÍNICA E  
EXPERIMENTAL PG-FISCLINEX**

**LUCIANA ARMADA DIAS**

**PARÂMETROS MECÂNICOS, FÍSICOS E QUÍMICOS NA  
AVALIAÇÃO DE MANDÍBULAS DE RATOS DEFICIENTES  
EM ESTERÓIDES SEXUAIS**

**Rio de Janeiro**

**2009**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**LUCIANA ARMADA DIAS**

**PARÂMETROS MECÂNICOS, FÍSICOS E QUÍMICOS NA  
AVALIAÇÃO DE MANDÍBULAS DE RATOS DEFICIENTES  
EM ESTERÓIDES SEXUAIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro para obtenção do grau de Doutora em Ciências.

**Orientadora: Celly Cristina A. do Nascimento Saba  
Co-orientadora: Rachel Moreira Moraes dos Santos**

**Rio de Janeiro  
2009**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Armada, L.

**Parâmetros mecânicos, físicos e químicos na avaliação de mandíbulas de ratos deficientes em esteróides sexuais/** Luciana Armada. – 2009.

150 p.

Orientador: Celly Cristina A. do Nascimento Saba

Co-orientadora: Rachel Moreira Moraes dos Santos

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas, Curso de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. Mandíbula. 2. Deficiência de Esteróides sexuais. 3. Perda óssea. 4. Tese.

I. Nascimento-Saba, Celly C. Alves. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro

- Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

**Luciana Armada Dias**

**PARÂMETROS MECÂNICOS, FÍSICOS E QUÍMICOS NA  
AVALIAÇÃO DE MANDÍBULAS DE RATOS DEFICIENTES  
EM ESTERÓIDES SEXUAIS**

Avaliada em 19 de fevereiro de 2009.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro para obtenção do grau de Doutora em Ciências.

**Dr<sup>a</sup>. Celly C. A. do Nascimento Saba** (Orientadora)

Depto de Ciências Fisiológicas/ IBRAG da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

**Dr<sup>a</sup>. Rachel Moreira Morais dos Santos** (Co-Orientadora)

Depto de Fisiologia e Farmacologia/ IB da Universidade Federal Fluminense

**Banca Examinadora:**

Dr<sup>a</sup>. Celly C. A. do Nascimento Saba

Depto de Ciências Fisiológicas/ IBRAG da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Dr<sup>a</sup>. Doris Rosenthal

Laboratório de Fisiologia Endócrina/ IBCCF da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dr. Egberto Gaspar de Moura

Depto de Ciências Fisiológicas/ IBRAG da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Dr. Fabio Ramôa Pires

Depto de Patologia Bucal da FO da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Dr<sup>a</sup>. Rosa Maria Rodrigues Pereira

Laboratório de Metabolismo Ósseo da Reumatologia da FM da Universidade de São Paulo

**Suplentes:**

Dr<sup>a</sup> Carmen Cabanelas Pazos Moura

Laboratório de Endocrinologia Molecular/ IBCCF da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dr Jorge José de Carvalho

Depto de Histologia e Embriologia / IBRAG da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

**Rio de Janeiro**

**2009**

À minha mãe Luci pela infinita dedicação e incentivo e por ser um exemplo pessoal e profissional em minha vida.

Ao meu marido Sérgio pelo companheirismo, paciência, suporte emocional e por viver intensamente esse momento comigo, sempre com muito amor.

Às minhas irmãs e amigas Danielle e Manuela pelo apoio, paciência e carinho.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho. Em especial, agradeço:

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Celly Cristina A. do Nascimento Saba pela orientação, amizade, incentivo, paciência e principalmente pela confiança em mim depositada. Muito obrigada pela incansável dedicação.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rachel Moreira dos Santos Morais cuja orientação, amizade, paciência e apoio foram de extrema importância ao longo desta jornada.

À minha família, especialmente as minhas tias Naide, Inês e Nilza pelo suporte emocional, amizade e carinho.

A todas as minhas amigas, especialmente Roberta e Mariana, que de longe ou perto sempre demonstram preocupação, carinho e compreensão.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Maria Urânia Alves, exemplo de profissional e grande amiga, pelo incentivo e apoio que foram fundamentais na escolha deste caminho.

Ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, por todo suporte recebido e pela constante preocupação em manter a qualidade do nosso curso.

À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Doris Rosenthal, do Laboratório de Fisiologia Endócrina do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da UFRJ, pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Prof<sup>ª</sup> Dra. Keico Okino Nonaka do Departamento de Fisiologia Neuroendócrina da UFSCAR, por permitir a realização dos ensaios biomecânicos e testes físicos.

A doutoranda Juciléia Bezerra do Departamento de Fisiologia Neuroendócrina da UFSCAR, pela grande contribuição na realização dos ensaios biomecânicos e testes físicos.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Rosa Maria Pereira Rodrigues, do Laboratório de Metabolismo ósseo da disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da USP, por permitir a realização da Densitometria óssea.

A Lilian Takayama, Técnica do Laboratório de Metabolismo ósseo da disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da USP, pela grande contribuição na realização da Densitometria óssea.

Ao Marcos Borges, do Laboratório de Endocrinologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto, pela ajuda nas dosagens hormonais.

À Amélia Gomes, da Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, pela ajuda, paciência e boa vontade.

Aos funcionários técnicos do Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ, em especial a Andrea Bertoldo, pela ajuda incansável durante todos esses anos de convívio e ao Sr. Carlos Roberto, pelo cuidado com os animais.

Às alunas de Iniciação Científica Gabriele Gonzales, Mariana Ribeiro, Viviane Lourenço, Thais Cortes, Erika Gomes, Verônica Demarco e Renata Nascimento pela colaboração com os experimentos e cuidados com os animais.

Aos meus colegas de laboratório Carlos Alberto e Silvio Sandro pelo apoio e ajuda.



“O valor das coisas não está no tempo em que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis”.

**Fernando Pessoa**

Este trabalho foi realizado, sob a orientação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Celly Cristina A. do Nascimento Saba e co-orientação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rachel Moreira Moraes dos Santos, no Laboratório de Fisiologia Endócrina do IBRAG/ UERJ, no Laboratório de Metabolismo Ósseo da Reumatologia da FMUSP e no Laboratório de Fisiologia Neuroendócrina da UFSCAR.

## RESUMO

ARMADA, Luciana. Parâmetros mecânicos, físicos e químicos na avaliação de mandíbulas de ratos deficientes em esteróides sexuais, 2009. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Ciências Médicas. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

O aumento da expectativa de vida vem elevando a ocorrência das alterações degenerativas comuns à terceira idade, como a osteoporose. Essa doença sistêmica também freqüente no hipogonadismo, afeta o metabolismo ósseo comprometendo inclusive a mandíbula. O objetivo deste estudo foi avaliar de que forma a deficiência de esteróides sexuais, induzida por orquiectomia ou ovariectomia, influencia o processo de remodelação óssea da mandíbula de ratos por períodos experimentais crônicos. Ratos Wistar, com 3 meses, foram divididos em três grupos experimentais: controles (C), castrados (ORQ; OVX) e castrados com tratamento hormonal (ORQ + PT - propionato de testosterona, 0,4 mg/100g PC/dia; OVX + BE - benzoato de estradiol, 0,7 µg/100g PC/dia). As fêmeas foram previamente avaliadas por citologia vaginal e somente as que apresentaram o ciclo estral regular foram utilizadas. A massa corporal foi verificada semanalmente e ao final dos períodos experimentais (90, 120 e 150 dias) os animais foram sacrificados. O sangue foi coletado e o soro armazenado para posterior análise. As mandíbulas, fêmures e colunas foram excisados, medidos e preparados para análises da densidade mineral óssea e das propriedades físicas e biomecânicas. Observamos que com a castração, machos apresentaram baixo ganho de massa corporal (90d: 12%, 120d: 24% e 150d: 13% a menos que C,  $p < 0,05$ ), ao contrário das fêmeas (90d: 38% e 120d: 41% a mais que C,  $p < 0,05$ ). As medidas de todos os ossos foram menores tanto em machos como em fêmeas (♂ - 90d: vértebra 11.8%, fêmur 4.4%, cômulo MD 9.4%, cômulo VL 16.6%; 120d: vértebra 13.6%, fêmur 4%, cômulo mandibular MD 9%, cômulo mandibular VL 22.2%; 150d: vértebra 16.8%, fêmur 6% , cômulo mandibular MD 21.6%, cômulo mandibular VL 29.1% e ♀ - 90d: vértebra 7.7%, fêmur 5.6%, cômulo mandibular MD 29.1% , cômulo mandibular VL 11.8%; 120d: vértebra 15.9% , fêmur 6.1%, cômulo mandibular MD 33.6%, cômulo mandibular VL 14.8%; 150d: vértebra 21.6%, fêmur 5.42%, cômulo mandibular MD 29.1%, cômulo mandibular VL 15.1% a menos que C,  $p < 0,05$ ), em todos os períodos experimentais. Em ambos os sexos as concentrações séricas de esteróides sexuais, fósforo e fosfatase alcalina foram menores em relação ao grupo controle,  $p < 0,05$  (Testosterona - 90d: 87%, 120d: 87.5%, 150d: 90.4%; Estradiol - 90d: 85.8%, 120d: 80.8%, 150d: 71.5%; Fósforo - ORQ - 120d: 7.5%, 150d: 9.2% e OVX 90d: 17.2%, 120d: 16%, 150d: 24%; Fosfatase alcalina - ORQ - 90d: 7%, 120d: 6.8%, 150d: 9.5% e OVX 90d: 21.2%, 120d: 26.1%, 150d: 43.3%). As concentrações séricas de cálcio não diferiram significativamente entre machos, mas foram menores em fêmeas castradas (90d: 13.1%, 120d: 11.7%, 150d: 26.2%,  $p < 0,05$ ). As análises da densidade mineral óssea (DMO) e das propriedades biomecânicas de vértebras e fêmures apresentaram diminuição mais precoce em fêmeas do que em machos (♀ - vértebras a partir de 90d e fêmures a partir de 120d; ♂ - vértebras a partir de 120d e fêmures a partir de 150,  $p < 0,05$ ). No entanto, as mandíbulas apenas foram afetadas nos machos aos 150 dias. As propriedades físicas não apresentaram alterações significativas. Concluímos que a perda da função gonadal provoca redução de massa óssea, preferencialmente do osso

trabecular, atingindo fêmeas mais precocemente do que machos e acentuando-se com o avançar da idade. O osso mandibular é acometido em períodos crônicos principalmente se estiver associada a um comprometimento da atividade mastigatória. Os efeitos ósseos decorrentes do hipogonadismo foram minimizados pelo tratamento com benzoato de estradiol ou propionato de testosterona, em fêmeas e machos, respectivamente.

Palavras Chaves: Mandíbula, Deficiência de Esteróides Sexuais, Perda Óssea.

## ABSTRACT

ARMADA, Luciana. Mechanical, physical and chemical parameters in mandible evaluation of sex steroid deficiency rats, 2009. Thesis (Sciences Doctoral) – Faculty of Medical Sciences. University of Rio de Janeiro State, Rio de Janeiro, 2009.

The increase in the life expectancy has been raising the occurrence of common degenerative alterations in aging population, as osteoporosis. This systemic disease is also frequent in hypogonadism and affects the bone metabolism, included mandibular bone. The aim of this study was to evaluate how sex steroid deficiency, induced by orchietomy (ORX) or ovariectomy (OVX), influences on mandible bone remodeling of rats, in groups of chronic experimental periods. Wistar rats, 3 months, had been divided in three groups: controls (C), castrated (ORX; OVX) and castrated with hormonal treatment (ORX+TP – testosterone propionate, 0,4 mg/100g BW/day; OVX+EB - estradiol benzoate, 0.7 µg/100g BW/day). Females were previously evaluated by vaginal cytology and only rats with regular estrous cycle were used. The corporal mass was weekly verified and after experimental periods (90, 120 and 150 days), the animals were sacrificed. The blood was collected and serum stored for posterior analysis. Mandibles, femurs and columns were excised, measured and prepared to analyses of bone mineral density and physical and biomechanical properties. After castration, males presented low gain in body mass (90d: 12%, 120d: 24% and 150d: 13% lower than C,  $p < 0,05$ ), in contrast of females (90d: 38% and 120d: 41% upper than C,  $p < 0,05$ ). The measures of all bones were lower in males and in females (♂ - 90d: vertebrae 11.8%, femur 4.4%, mandibular condyle MD 9.4%, mandibular condyle VL 16.6%; 120d: vertebrae 13.6%, femur 4%, mandibular condyle MD 9%, mandibular condyle VL 22.2%; 150d: vertebrae 16.8%, femur 6%, mandibular condyle MD 21.6%, mandibular condyle VL 29.1% and ♀ - 90d: vertebrae 7.7%, femur 5.6%, mandibular condyle MD 29.1%, mandibular condyle VL 11.8%; 120d: vertebrae 15.9%, femur 6.1%, mandibular condyle MD 33.6%, mandibular condyle VL 14.8% and 150d: vertebrae 21.6%, femur 5.42%, mandibular condyle MD 29.1%, mandibular condyle VL 15.1% lower than C,  $p < 0,05$ ), in all experimental periods. Males and females presented serum concentration of sex steroid hormones, phosphate and alkaline phosphatase lower than control group,  $p < 0,05$  (Testosterone - 90d: 87%, 120d: 87.5%, 150d: 90.4%; Estradiol - 90d: 85.8%, 120d: 80.8%, 150d: 71.5%; Phosphate - ORX - 120d: 7.5%, 150d: 9.2% and OVX 90d: 17.2%, 120d: 16%, 150d: 24%; Alkaline phosphatase - ORX - 90d: 7%, 120d: 6.8%, 150d: 9.5% and OVX 90d: 21.2%, 120d: 26.1%, 150d: 43.3%). No significant differences were found in the males calcium concentration, but it was lower in castrated females (90d: 13.1%, 120d: 11.7%, 150d: 26.2%,  $p < 0,05$ ). The bone mineral density and biomechanical properties of vertebrae and femur were reduced earlier in females than in males (♀ - vertebrae from 90d and femur from 120d; ♂ - vertebrae from 120d and femur from 150d,  $p < 0,05$ ). However, mandibles were affected only in 150d males. There weren't significant alterations on the physical properties. In conclusion, gonadal function loss caused low bone mass, preferentially in trabecular bone, affected females earliest than males and its decreases more with aging. Mandibular bone is affected in chronic periods principally when associated with masticatory activities alterations. Bones alterations

resulted from Hypogonadism were minimized, by estradiol benzoate or testosterone propionate treatment, in female and male, respectively.

Keywords: Mandible, Sex steroids deficiency and Bone loss.

## LISTA DE TABELAS

TABELA		PÁGINA
1	Compressão de vértebra (L4) em machos.....	95
2	Compressão de vértebra (L4) em fêmeas.....	96
3	Flexão do fêmur de machos.....	97
4	Flexão do fêmur de fêmeas.....	98
5	Flexão da mandíbula de machos.....	99
6	Flexão da mandíbula de fêmeas.....	100
7	Testes físicos de vértebra (L4) de machos (partes I e II).....	101
8	Testes físicos de vértebra (L4) de fêmeas (partes I e II).....	102
9	Testes físicos do fêmur de machos (partes I e II).....	102
10	Testes físicos do fêmur de fêmeas (partes I e II).....	104
11	Testes físicos da mandíbula de machos (partes I e II).....	105
12	Testes físicos da mandíbula de machos (partes I e II).....	106
13	Massa corporal (g) de machos.....	142
14	Massa corporal (g) de fêmeas.....	142
15	Dimensões dos ossos (mm) de machos.....	143
16	Dimensões dos ossos (mm) de fêmeas.....	143
17	Concentrações séricas de testosterona (ng/ml) em machos.....	144
18	Concentrações séricas de estradiol (pg/ml) em fêmeas.....	144
19	Concentrações séricas de cálcio (mg/dl) em machos.....	145
20	Concentrações séricas de cálcio (mg/dl) em fêmeas.....	145
21	Concentrações séricas de fósforo (mg/dl) em machos.....	146
22	Concentrações séricas de fósforo (mg/dl) em fêmeas.....	146
23	Concentrações séricas de fosfatase alcalina (mg/dl) em machos.....	147
24	Concentrações séricas de fosfatase alcalina (mg/dl) em fêmeas.....	147
25	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de vértebra (L4) em machos. ....	148
26	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de vértebra (L4) em fêmeas .....	148

27	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de fêmur em machos.....	149
28	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de fêmur em fêmeas.....	149
29	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de mandíbula em fêmeas.....	150
30	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de mandíbula em machos.....	150



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Representação dos componentes da macroestrutura óssea.....	28
2	Remodelação óssea.....	30
3	Mediadores químicos que atuam no metabolismo ósseo.....	35
4	Modificações hormonais e perda óssea ligadas a idade.....	42
5	Determinantes da qualidade óssea.....	43
6	Fotomicrografias de lâminas de esfregaço vaginal de ratas controle.....	52
7	Máquina universal de ensaio biomecânico.....	62
8	Curva carga-deformação.....	64
9	Ensaio biomecânico de flexão de três pontos em mandíbula.....	66
10	Valores de $\Delta$ em machos.....	69
11	Valores de $\Delta$ em fêmeas.....	70
12	Valores das dimensões dos ossos (mm) de machos .....	71
13	Valores das dimensões dos ossos (mm) de fêmeas .....	72
14	Relação entre massa corporal (g) e dimensão dos ossos (mm) de machos. ....	73
15	Relação entre massa corporal (g) e dimensão dos ossos (mm) de fêmeas .....	74
16	Concentrações séricas de testosterona (pg/ml) em machos .....	75
17	Concentrações séricas de estradiol (pg/ml) em fêmeas .....	76
18	Concentrações séricas de cálcio (mg/dl) em machos .....	77
19	Concentrações séricas de cálcio (mg/dl) em fêmeas .....	78
20	Concentrações séricas de fósforo (mg/dl) em machos .....	79
21	Concentrações séricas de fósforo (mg/dl) em fêmeas .....	80
22	Concentrações séricas de fosfatase alcalina (mg/dl) em machos .....	81
23	Concentrações séricas de fosfatase alcalina (mg/dl) em fêmeas .....	82
24	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de vértebra (L4) em machos .....	83
25	Densitometria óssea de coluna em machos de 150 dias.....	84
26	Densitometria óssea de coluna em machos de 120 dias.....	84
27	Densitometria óssea de coluna em machos de 90 dias.....	84

28	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de vértebra (L4) em fêmeas .....	85
29	Densitometria óssea de coluna em fêmeas de 150 dias.....	86
30	Densitometria óssea de coluna em fêmeas de 120 dias.....	86
31	Densitometria óssea de coluna em fêmeas de 90 dias.....	86
32	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de fêmur em machos .....	87
33	Densitometria óssea de fêmur em machos de 150 dias.....	88
34	Densitometria óssea de fêmur em machos de 120 dias.....	88
35	Densitometria óssea de fêmur em machos de 90 dias.....	88
36	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de fêmur em fêmeas .....	89
37	Densitometria óssea de fêmur em fêmeas de 150 dias.....	90
38	Densitometria óssea de fêmur em fêmeas de 120 dias.....	90
39	Densitometria óssea de fêmur em fêmeas de 90 dias.....	90
40	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de mandíbula em machos .....	91
41	Densitometria óssea de mandíbula em machos de 150 dias.....	92
42	Densitometria óssea de mandíbula em machos de 120 dias.....	92
43	Densitometria óssea de mandíbula em machos de 90 dias.....	92
44	Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de mandíbula em fêmeas .....	93
45	Densitometria óssea de mandíbula em fêmeas de 150 dias.....	94
46	Densitometria óssea de mandíbula em fêmeas de 120 dias .....	94
47	Densitometria óssea de mandíbula em fêmeas de 90 dias.....	94

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AR	Receptor androgênico
BE	Benzoato de Estradiol
BMP-2	Proteína morfogênica óssea-2
C	Controle
d	Dias
DI	Diestro I
DII	Diestro II
DAEM	Deficiência androgênica no envelhecimento masculino
DHT	Diidrotestosterona
DMO	Densidade mineral óssea
DXA	Dupla emissão de fontes de Raios-X
E	Estro
EPM	Erro padrão da média
ER	Receptor para estrógenos
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GH	Hormônio do crescimento
GM-CSF	Fator estimulante da colônia de granulócitos macrófagos
IFN $\gamma$	Interferon gama
IGF	Fator de crescimento insulina simile
IL	Interleucinas
J	Joule
L4	4 <sup>a</sup> Vértebra lombar
LH	Hormônio luteinizante
LIF	Fator inibidor de Leucemia
MEC	Matriz extracelular
MPa	Megapascal
MV	Mesio-vestibular
N	Newton
OPG	Osteoprotegerina
ORQ	Orquiectomizados
ORQ+PT	Orquiectomizados tratados com Propionato de testosterona

OVX	Ovariectomizadas
OVX+BE	Ovariectomizadas tratadas com Benzoato de Estradiol
PC	Peso corporal
PE	Proestro
PGE2	Prostaglandina E2
PICP	Propeptídeo carboxiterminal do pró-colágeno tipo I
PINP	Propeptídeo aminoterminal do pró-colágeno tipo I
PT	Propionato de testosterona
PTH	Paratormônio
RANK	Receptor ativador de NF-kB
RANK-ligante	Receptor ativador de NF-kB ligante
RIA	Radioimunoensaio
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
TGF	Fator de transformador de crescimento
TNF	Fator de necrose tumoral
TRANCE	Citocina ativadora-indutora relacionada ao TNF
TRAP+	Precursosores de osteoclasto
TRH	Terapia de reposição hormonal
VL	Vestíbulo-lingual
vs	Versus

# SUMÁRIO

	PÁGINA
<b>1 – INTRODUÇÃO</b> .....	23
1.1 OSTEOPOROSE: UMA DOENÇA OSTEOMETABÓLICA.....	25
1.2 TECIDO OSSEO.....	27
1.2.1 Estrutura óssea.....	27
1.2.2 Remodelação óssea.....	29
1.2.3 Propriedades mecânicas do tecido ósseo.....	33
1.2.4 Mediadores químicos que atuam no metabolismo ósseo .....	34
1.3 A DEFICIÊNCIA DE ESTERÓIDES SEXUAIS E O RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE OSTEOPOROSE.....	38
1.4 PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA ÓSSEA.....	43
1.4.1 Parâmetros Biomecânicos.....	43
1.4.2 Parâmetros Bioquímicos.....	45
1.4.3 Densitometria óssea.....	47
1.5 TRATAMENTO DO HIPOGONADISMO E SUA AÇÃO SOBRE A ESTRUTURA ÓSSEA.....	48
1.6 MODELO EXPERIMENTAL DA PERDA ÓSSEA POR HIPOGONADISMO.....	50
1.7 RELEVÂNCIA DO ESTUDO SOBRE O EFEITO DO HIPOGONADISMO NO OSSO MANDIBULAR.....	53
<b>2 – OBJETIVOS</b> .....	55
<b>3 – MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	57
3.1 TRATAMENTO DAS FÊMEAS.....	58
3.1.1 Determinação das Fases do Ciclo Estral.....	59
3.2 TRATAMENTO DOS MACHOS.....	59
3.3 PARÂMETROS BIOMÉTRICOS.....	60
3.3.1 Massa corporal.....	60
3.3.2 Medida das dimensões dos ossos.....	60

3.4 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	60
3.5 DENSITOMETRIA ÓSSEA.....	61
3.6 ENSAIO BIOMECÂNICO.....	61
3.6.1 Ensaio biomecânico de compressão em vértebra.....	64
3.6.2 Ensaio biomecânico de flexão de três pontos em fêmur.....	65
3.6.3 Ensaio biomecânico de flexão de três pontos em mandíbula. ....	65
3.7 PROPRIEDADES FÍSICAS ÓSSEAS .....	66
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	67
<b>4 – RESULTADOS.....</b>	<b>68</b>
4.1 PARÂMETROS BIOMÉTRICOS.....	69
4.1.1 Ganho de massa corporal ( $\Delta$ ).....	69
4.1.2 Medida da dimensão dos ossos.....	71
4.1.3 Relação massa corporal/dimensão dos ossos.....	73
4.2 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	75
4.2.1 Concentrações séricas de esteróides sexuais.....	75
4.2.2 Concentrações séricas de cálcio.....	77
4.2.3 Concentrações séricas de fósforo.....	79
4.2.4 Concentrações séricas de fosfatase alcalina.....	81
4.3 DENSITOMETRIA ÓSSEA.....	83
4.3.1 Vértebra (L4).....	83
4.3.2 Fêmur.....	87
4.3.3 Mandíbula.....	91
4.4 ENSAIO BIOMECÂNICO.....	95
4.4.1 Ensaio biomecânico de compressão em vértebra (L4).....	95
4.4.2 Ensaio biomecânico de flexão de três pontos em fêmur.....	97
4.4.3 Ensaio biomecânico de flexão de três pontos em mandíbula.....	99
4.5 PROPRIEDADES FÍSICAS ÓSSEAS .....	101
4.5.1 Vértebra (L4).....	101
4.5.2 Fêmur.....	103
4.5.3 Mandíbula.....	105
<b>5 – DISCUSSÃO.....</b>	<b>107</b>

<b>6 – CONCLUSÕES.....</b>	<b>118</b>
<b>7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>120</b>
<b>8 – ANEXOS.....</b>	<b>141</b>

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

D541 Dias, Luciana Armada.

Parâmetros mecânicos, físicos e químicos na avaliação de mandíbulas de ratos deficientes em esteróides sexuais / Luciana Armada Dias. - 2009. 150f. il.

Orientadores: Celly Cristina A. do Nascimento Saba., Rachel Moreira Morais dos Santos.

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós Graduação em Fisiopatologia Clínica

1. Osteoporose - Teses. 2. Hormônios esteroidianos - Teses. 3. Hormônios sexuais - Teses. 4. Mandíbula - Teses. 5. Perda óssea alveolar - Teses I. Saba, Celly Cristina A. do Nascimento. II. Santos, Rachel Moreira Morais dos. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.71-007.234

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese.

---

Assinatura

---

Data



# INTRODUÇÃO



## 1. INTRODUÇÃO

Estudos recentes têm demonstrado que a expectativa média de vida apresentou um grande aumento no decorrer do século XX, para todas as idades e para ambos os sexos (COMPSTON, 2006; CAETANO-LOPES *et al*, 2007; BARROS *et al*, 2008). Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil no ano de 2006, o número de pessoas idosas para cada 100 indivíduos jovens por ano, foi em média de 32,4. (Fonte: IBGE/Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios).

Segundo Guralnik & Havlik (2000), há um grande número de doenças típicas de pessoas idosas e o aumento da longevidade tende a elevar a ocorrência dessas alterações. Esses problemas afetam notadamente o funcionamento geral do organismo, comprometendo a independência pessoal desses indivíduos e exigindo um cuidado permanente e diferenciado por um longo período de tempo.

A senescência, assim como o hipogonadismo, caracteriza-se por uma menor tendência na formação óssea devido à diminuição gradativa da capacidade produtora dos osteoblastos, apesar dos osteoclastos continuarem ativos. A redução progressiva do conteúdo mineral ósseo caracteriza a osteopenia e, em fases mais avançadas, a osteoporose (BEERS & BERKOW, 2000).

Os esteróides sexuais exercem papel fundamental para a manutenção da massa óssea. A diminuição desses hormônios é o principal fator sistêmico desencadeador da osteoporose. Com o aumento da longevidade, indivíduos com hipogonadismo portadores de osteoporose, passaram a viver cerca de 1/3 de suas vidas com este distúrbio. E, as alterações no metabolismo ósseo relacionadas ao envelhecimento, podem agravar ainda mais a perda de massa óssea (MATTSON *et al*, 2002).

## 1.1 OSTEOPOROSE: UMA DOENÇA OSTEOMETABÓLICA

A osteoporose, doença osteometabólica mais freqüente, é caracterizada pela diminuição da massa óssea e deterioração do tecido ósseo, conduzindo a um aumento da fragilidade do osso e a um conseqüente aumento do risco de fratura (LEGRAND *et al*, 2000; WOWERN, 2001; YANG *et al*, 2003; LORMEAU *et al*, 2004). Recentemente, Shuster (2005) defendeu a hipótese para o estabelecimento de um defeito causador da osteoporose: a perda fisiológica de colágeno que ocorre no envelhecimento. Segundo o autor, as mudanças encontradas no colágeno da pele também ocorrem no osso, que nesse caso, estão associadas à mudança na DMO (densidade mineral óssea). Assim, o colágeno da pele poderia ser usado como um indicativo do estado ósseo e da resposta ao tratamento da osteoporose.

Quando o metabolismo ósseo está em condições normais existe um equilíbrio entre a formação e a reabsorção. Porém, tanto no hipogonadismo como na senescência ocorre um desequilíbrio na remodelação óssea que resulta em redução de massa óssea, caracterizando assim um quadro de osteoporose. (JHONSON *et al*, 2002)

Esta doença pode ser primária (tipos: I – pós-menopausa e II – senil) ou secundária. A osteoporose tipo I, pós-menopausa, é o tipo mais comum dessa condição e está associada à deficiência de estrógeno. Nos pacientes afetados, observa-se uma redução na quantidade de osso presente, com perda maior de osso trabecular do que de osso compacto, resultando nas características primárias da doença, ou seja, fraturas por achatamento de vértebras, fraturas do colo do fêmur e da porção distal do rádio. Ocorre aumento da taxa de reabsorção óssea, uma vez que os osteoblastos não são capazes de acompanhar os efeitos da ação dos osteoclastos (CHEN *et al.*, 2001; NAMKUNG-MATTHAI *et al.*, 2001). Esse aumento da reabsorção óssea está associado ao aumento do número e da atividade de osteoclastos, bem como à diminuição da incidência de apoptose nestas células. Paralelamente, observa-se diminuição da meia vida dos osteoblastos e incapacidade de reparação adequada dos defeitos causados pela

reabsorção osteoclástica (MANOLAGAS, 2000; NAMKUNG-MATTHAI *et al.*, 2001; HARADA & RODAN, 2003).

A osteoporose tipo II ocorre após 65 anos de idade, afetando a população idosa de homens e mulheres na proporção de 1:3, e se traduz por uma perda mais lenta de osso trabecular e cortical e por fraturas de fêmur proximal, úmero e vértebras. As fraturas de fêmur proximal são as que trazem maior morbidade e mortalidade, e em 95% dos casos sofrem correções cirúrgicas (KRAHE, 2003; WIREN, 2005).

A osteoporose secundária ocorre como consequência de processos patológicos (artrite reumatóide, hipertireoidismo, hiperparatireoidismo e mieloma múltiplo) e outras condições, tais como alcoolismo, imobilização, terapia crônica com heparina, uso de anticonvulsivantes e hipervitaminose A (MANOLAGAS, 2000).

No Brasil, somente uma pessoa em três com osteoporose é diagnosticada, e destas, somente uma em cinco recebe algum tipo de tratamento. Todos os pacientes que apresentam osteoporose devem ser submetidos à avaliação clínica global. Uma história cuidadosa e um exame físico completo são essenciais. Os objetivos desta avaliação são: excluir as causas de osteoporose secundária, medir a extensão da perda óssea e fraturas e estabelecer um parâmetro objetivo das condições básicas do paciente, diante das quais a eficácia do tratamento possa ser avaliada (ZABAGLIA *et al.*, 2001; MARTIN *et al.*, 2002).

Embora esta doença resulte de um conjunto de processos bioquímicos e fisiológicos, a manifestação clínica é puramente mecânica, representada pelas fraturas. As mais freqüentes são as da vértebra, de fêmur e de antebraço, ocorrendo também em qualquer região do esqueleto com alto percentual de osso trabecular (BRAZ & SALLES, 2001; ADLER, 2006).

As alterações esqueléticas que acompanham a osteoporose reduzem a capacidade das cavidades torácica e abdominal, com consequente alteração das funções cardíacas, pulmonar, gástrica e vesical, que podem dificultar a respiração e causar hérnia de hiato e incontinência urinária (MARTIN *et al.*, 2002; SZEJNFELD, 2004).

Há 200 milhões de pessoas com osteoporose no mundo, fato que tornou esta doença um problema de saúde pública mundial (SANFILIPPO & BIANCHI, 2003). No Brasil, mais de 10 milhões de casos culminam em registro anual de 80.000 casos de fratura de fêmur. As fraturas causadas pela osteoporose têm um grande impacto na saúde das populações. A melhor forma de proteção contra o risco de fratura estaria no diagnóstico precoce (FERNANDES *et al*, 2001; LINDSAY *et al*, 2001; KRAHE, 2003).

## **1.2 TECIDO ÓSSEO**

O osso é uma estrutura dinâmica, continuamente renovada e reconstruída, sensível a influências metabólicas, nutricionais e endócrinas. Por isso, o amplo conhecimento sobre o tecido ósseo é essencial para melhor compreender a fisiopatologia da osteoporose.

### **1.2.1 Estrutura Óssea**

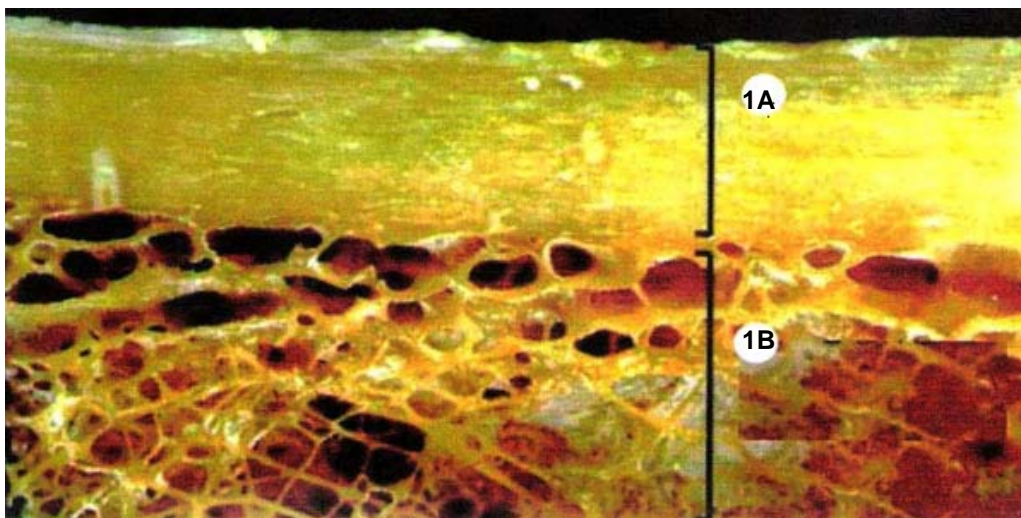
A estrutura óssea dá forma ao corpo, sustenta seu peso, protege os órgãos vitais, facilita a locomoção, proporciona ligações para os músculos, além de atuar como reservatório de íons. Sua composição varia dependendo da localização, idade, do histórico de alimentação do indivíduo e da existência de doenças (PARFIT, 2002).

O osso é um tipo especializado de tecido conjuntivo, composto por matriz orgânica, matriz inorgânica, células e fatores solúveis (SANTOS *et al*, 2005).

A matriz orgânica tem múltiplas funções como determinar a estrutura e as propriedades mecânicas ósseas. É composta por matriz óssea ou osteóide e pelas células próprias do tecido ósseo. A matriz óssea por sua vez é formada principalmente de colágeno tipo I e outras proteínas, como fatores de crescimento, citocinas e proteínas da matriz extracelular (osteonectina, osteopontina, sialoproteínas ósseas, osteocalcina, proteoglicanos, fosfoproteínas e

proteolípídeos), perfazendo 98% do material orgânico ósseo. Os 2% restantes são formados pelas células ósseas (RIMINUCCI & BIANCO, 2003).

Os ossos variam na forma, tamanho e posição topográfica, havendo várias maneiras de classificá-los. A mais comum é aquela que divide o esqueleto em osso cortical e osso trabecular (VEDI *et al*, 2003; BARROS *et al*, 2008) (Figura 1).



**Figura 1: Representação dos componentes da macroestrutura óssea.** 1A: osso cortical, 1B: osso trabecular. (HOLLINGER *et al*, 1999)

O osso cortical abrange 80% da massa óssea, é duro, denso e forma a parte externa de vários ossos e o corpo dos ossos longos. Possui uma porosidade considerada baixa sendo rígido e suportando um valor razoável de tensão antes de fraturar (PARFIT, 2002; BARROS *et al*, 2008).

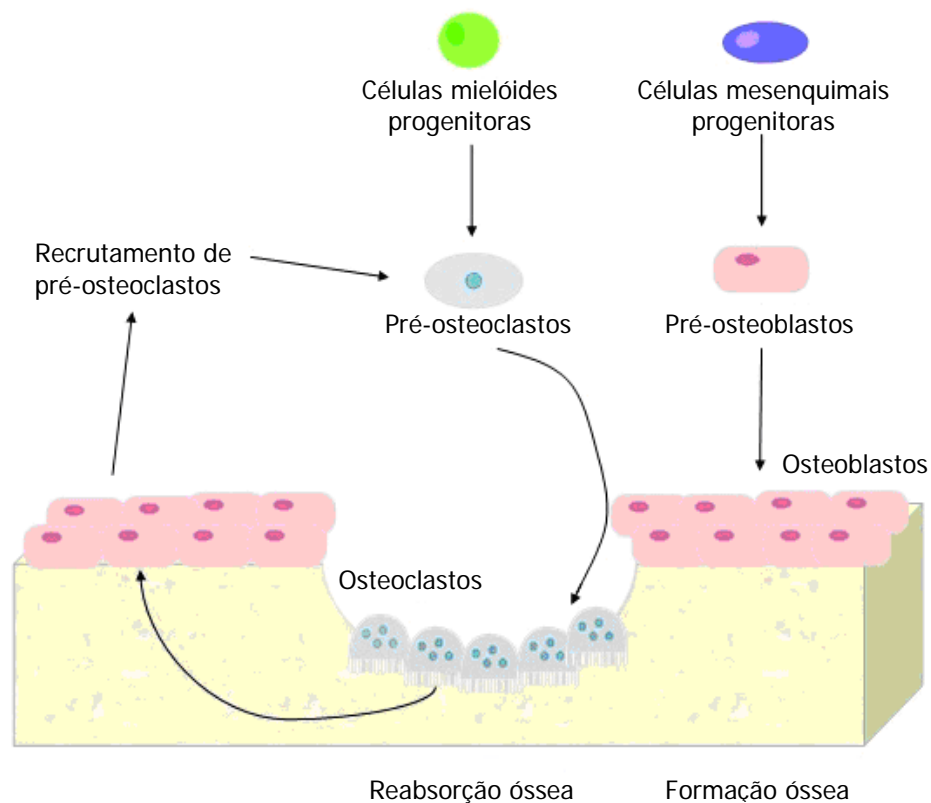
O osso trabecular compõe 20% da massa total do esqueleto e é uma estrutura altamente porosa encontrada nos corpos vertebrais e na parte final dos ossos longos. É constituído por trabéculas ósseas, que representam a parte metabolicamente mais ativa do esqueleto, com uma taxa de remodelamento e suprimento sanguíneo muito maior do que a do osso cortical. Possui uma porosidade considerada alta, sendo capaz de suportar alongamentos e deformações antes de fraturar (PARFIT, 2002; GENUTH, 2004).

### 1.2.2 Remodelação Óssea

As atividades celulares do tecido ósseo são de três tipos: atividade de modelamento associada ao crescimento, transformando osso do recém-nascido em osso adulto; atividade de reparo relacionada à reparação contínua da micro e da macro estrutura do esqueleto quando, danificadas por fadiga ou trauma; e atividade de remodelação relacionada à homeostasia mineral no sangue por meio de reabsorção de material e neoformação óssea (RAISZ, 2005).

A remodelação óssea (Figura 2) tem como principal função, o reparo de micro fraturas ocorridas no dia-dia por um contínuo ciclo de destruição e posterior renovação óssea, ou seja, a ativação dos osteoclastos leva a reabsorção óssea e as ações dos osteoblastos reconstróem a matriz óssea, levando a nova mineralização do tecido (YAMASHIRO & YAMAMOTO, 2001). Diferenças entre as ações dos osteoblastos e osteoclastos podem elevar ou reduzir a mineralização, sendo que é o equilíbrio dinâmico entre eles que possibilita a manutenção da DMO. A remodelação depende de três fatores: (1) a magnitude da força aplicada no osso; (2) a frequência com a qual as forças são aplicadas e (3) a direção de aplicação da força (BARROS *et al*, 2008).

O processo de remodelação óssea é contínuo e ocorre em vários locais do esqueleto, ao mesmo tempo, em unidades microscópicas chamadas de Unidades de Remodelação Óssea. É caracterizada pela seqüência: ativação, reabsorção, reversão e formação óssea; sendo todas as etapas do ciclo influenciadas por fatores sistêmicos. Uma unidade de remodelação criada dura de seis a nove meses. Durante os anos de crescimento do indivíduo, a formação é maior que a reabsorção e a massa esquelética aumenta. No final da puberdade, as placas de crescimento são fechadas por mecanismos endócrinos (NILSSON *et al*, 2005; RAISZ, 2005). Uma vez que a massa óssea adulta é atingida, taxas iguais de formação e reabsorção mantêm o pico de massa óssea até aproximadamente 40 anos. A partir desse momento o processo de reabsorção passa a exceder a formação óssea e a massa total começa a diminuir (KRAHE, 2003).



**Figura 2: Remodelação óssea.** O osso é constantemente reabsorvido por osteoclastos e formado por osteoblasto, garantindo assim a manutenção da função e da integridade tecidual. (Adaptada de: CAETANO-LOPES *et al*, 2007).

A remodelação óssea ocorre tanto no osso cortical quanto no esponjoso. É estimado que, no tecido ósseo de adultos, aproximadamente 25% do osso trabecular e 3% do osso cortical sejam renovados anualmente. Os osteoclastos, osteoblastos e os osteócitos são as células mais importantes envolvidas nesse processo (NILSSON *et al*, 2005).

Os osteoblastos são as células formadoras de osso que surgem a partir de células precursoras mesenquimais. Quando ativas, sintetizam e liberam colágeno para o espaço extracelular adjacente. As fibrilas de colágeno se alinham em arranjos regulares e produzem uma matriz orgânica, o osteóide. No interior do osteóide, o íon cálcio é depositado como massas amorfas de fosfato de cálcio. A



seguir, íons hidróxido e bicarbonato são gradualmente adicionados à fase mineral e cristais de hidroxiapatita maduros são formados lentamente. As proteínas ósseas participam ativamente deste processo: a osteocalcina, que contém resíduos de 3-carboxiglutamato, que tem afinidade pelo cálcio e forte afeição pela hidroxiapatita não cristalizada e a osteonectina que se fixa ao colágeno e forma cristais de hidroxiapatita. A fosfatase alcalina possui papel estabilizador dos cristais de cálcio em formação e mineralizadores do osso. Tanto a fosfatase alcalina quanto a osteocalcina circulam no plasma e seus níveis são marcadores da atividade osteoblástica (VANDERSCHUEREN *et al*, 2004).

À medida que o osso, completamente mineralizado, se acumula e cerca o osteoblasto, a célula diminui sua atividade e torna-se um osteócito. Os osteócitos são células existentes no interior da matriz óssea, ocupando lacunas das quais partem canalículos. Através desses canalículos os osteócitos permanecem conectados à superfície via prolongamentos celulares sinciciais, o que permite a transferência de cálcio do interior para o exterior das unidades ósseas e, daí, para o líquido extracelular. Este processo é denominado osteólise osteocítica (NILSSON *et al*, 2005).

Os osteoclastos são células que reabsorvem osso ou cartilagem calcificada, sendo ativados por um sinal parácrino que se origina dos osteoblastos, já que não possuem receptores para fatores estimuladores como paratormônio (PTH), vitamina D ou prostaglandinas (ROUSSELLE & HEYMANN, 2002).

A etapa inicial da remodelação, a ativação, compreende os mecanismos iniciais de diferenciação das células osteoprogenitoras em osteoclastos e sua migração para um determinado local da superfície óssea. Tem sido sugerido que os osteócitos são as células responsáveis pela determinação do local. Pois, funcionariam como sensores, que ativados teriam um aumento da atividade da fosfolipase C e uma cascata de eventos se desencadearia culminando com o aumento de PGE<sub>2</sub> (prostaglandina E<sub>2</sub>) (GENUTH, 2004).

A reabsorção tem início com a chegada dos osteoclastos ativados ao local determinado, durando cerca de dez dias. Quando aderidos à superfície do osso desenvolvem uma borda em escova e formam uma cavidade (lacuna de Howship).

Ocorre então a solubilização da matriz inorgânica pela liberação de prótons (H<sup>+</sup>), acidificando o meio, necessário para que a matriz orgânica seja degradada por enzimas (fosfatase ácida, catepsinas e colagenase) liberadas na lacuna (ROUSSELLE & HEYMANN, 2002).

Os mecanismos que controlam a quantidade de tecido a ser removido, ainda não são totalmente conhecidos. No entanto, na ausência de estrógeno, a erosão é mais profunda. O controle da reabsorção se dá através da regulação da formação e da atividade de osteoclastos (GENUTH, 2004; RAISZ, 2005).

A osteoclastogênese é regulada por alguns fatores locais produzidos por células estromais da medula óssea, osteoblastos e células T. Estudos têm demonstrado a presença de receptores para estrógenos (ER $\alpha$  e ER $\beta$ ) nessas células e sua capacidade em inibir a produção de fatores estimuladores da formação de osteoclastos como as interleucinas (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-11), o RANK-ligante (receptor activator of NF-kB ligand), PGE<sub>2</sub>, o TNF  $\alpha$  e  $\beta$  (tumoral necrose factor), GM-CSF (granulocyte macrophage-colony stimulating factor), o LIF (leucemia inhibitory factor) e o TRANCE (TNF-related activation-induced cytokine). Também estimulam a produção de fatores que aceleram a apoptose do osteoclasto, ou que bloqueiam sua diferenciação e ativação como TGF- $\beta$  (transforming growth factor), IFN- $\gamma$  (interferon gama), IL-4 e IL-8 e a OPG (osteoprotegerina) (RAMALHO *et al*, 2000; HOFBAUER *et al*, 2002; BORD *et al*, 2003; RAISZ, 2005).

A IL-6 é produzida por várias células incluindo osteoblastos, células do estroma da medula óssea, monócito-macrófagos, osteoclastos e em resposta a estimulação de vários hormônios sistêmicos, como PTH, peptídeo relacionado ao PTH (PTHrp) e 1,25 diidroxivitamina D<sub>3</sub>; de fatores de crescimento como TGF- $\beta$  e de outras citocinas como IL-1 e TNF. IL-6 induz a formação de osteoclasto à partir de precursores hematopoiéticos de osteoclasto, induzindo reabsorção óssea *in vitro*. A IL-1 é uma citocina que induz reabsorção óssea e formação de células osteoclasto-*simile* em cultura de medula óssea em animais e em humanos (AKALIN *et al*, 2002; TANAKA *et al*, 2002).

Tanto TNF- $\alpha$  quanto TNF- $\beta$  (linfotóxina) estimulam a formação de células multinucleadas osteoclasto-*simile* em cultura de medula óssea humana. O efeito de TNF em estimular o desenvolvimento de osteoclasto ocorre tanto através de um mecanismo direto mitogênico no osteoclasto, quanto indireto, induzindo células estromais e osteoblasto a secretar citocinas como GM-CSF (BORD *et al*, 2003; VANDERSCHUEREN *et al*, 2004).

O período entre o final da reabsorção e o início da formação óssea, dura aproximadamente duas semanas e é determinado pela presença de células mononucleares recobrando a superfície óssea e limpando-a. A formação óssea se inicia, provavelmente, por estímulo desencadeado por fatores liberados pelos osteoclastos, por mononucleares ou pela própria matriz óssea, como, por exemplo, TGF- $\beta$  e BMP-2 (bone morphogenetic protein-2), que recrutam células osteoprogenitoras e induzem a diferenciação de osteoblastos e osteócitos. Os osteoblastos recobrem a lacuna e iniciam seu preenchimento com matriz orgânica, na qual há predominância de colágeno tipo I. Expressam a fosfatase alcalina, sintetizam proteínas da matriz extracelular, osteocalcina e osteonectina e formam a matriz mineralizada. (LORMEAU *et al*, 2004; RAISZ, 2005).

### **1.2.3 Propriedades Mecânicas do Tecido Ósseo**

O crescimento ósseo começa no útero e continua durante a adolescência até a maturidade do esqueleto. Após esse período, o osso continua a se remodelar durante toda a vida e adapta suas propriedades materiais com o a carga mecânica aplicado sobre ele. Esse comportamento ósseo está de acordo com a Lei de Wolff que explica em parte o mecanismo celular e molecular através do qual o osso responde às tensões mecânicas. Sabe-se, atualmente, que o osso é um material piezelétrico, ou seja, um material que gera um potencial elétrico quando tensionado. Acredita-se que, de algum modo, esse processo é responsável pelo crescimento induzido por tensão. Uma vez que o osso não tem como prever a carga mecânica a qual será submetido, a resistência e a densidade são adaptadas de acordo com o passado e presente de uso mecânico, de modo

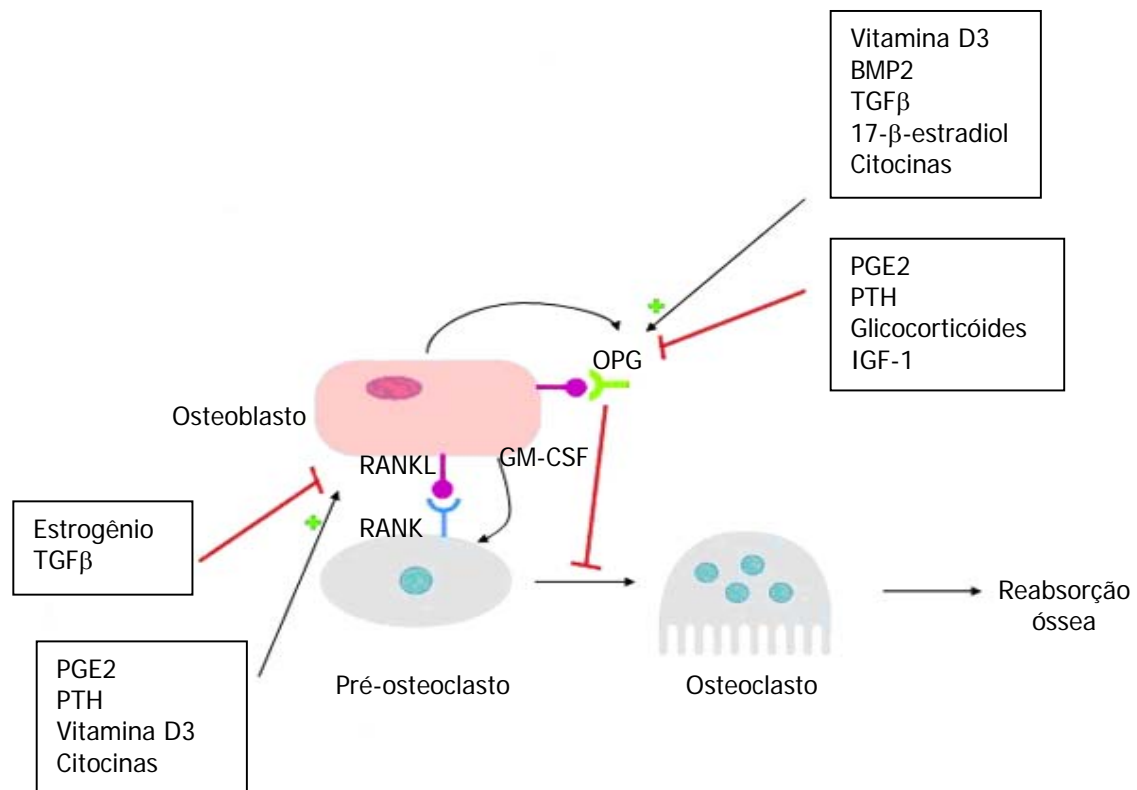
que a estrutura possa continuar a ser mantida por toda vida (LEE & TAYLOR, 2002).

A força que um osso pode suportar não depende somente da quantidade absoluta de seus vários componentes, mas também da forma como esses componentes se correlacionam. A qualidade e a interação entre todos os seus constituintes desempenham o principal papel na determinação do comportamento mecânico do osso. O colágeno e os cristais minerais são em geral orientados no osso na direção longitudinal. Desse modo, a resistência e rigidez do osso são sempre mais altas ao longo do eixo axial (ATHANASIOU *et al*, 2000).

As propriedades mecânicas dos ossos estão relacionadas com a sua formação orgânica e inorgânica. Os componentes inorgânicos são os responsáveis pela rigidez, ou seja, pela dureza que permite ao osso resistir à compressão. Os componentes orgânicos são responsáveis pela elasticidade (LIND *et al*, 2001). Quando sujeito a tensões externas, o comportamento do material depende de suas propriedades mecânicas. Desse modo, para a determinação das propriedades mecânicas do tecido ósseo, é necessário que ele seja submetido a ensaios mecânicos. A forma de resposta do osso a um estímulo mecânico estressante segue um padrão de modificações estruturais até que seja atingido o ponto de fratura. (LEE & TAYLOR, 2002).

#### **1.2.4 Mediadores químicos que atuam no Metabolismo Ósseo**

Para que as células ósseas assumam suas respectivas funções dentro do tecido é necessária a atuação de diversos mediadores químicos (Figura 3). Até os 5 anos de vida, é importante a atuação de hormônios tireoideanos. A partir dessa idade e nos próximos 8 anos, ganham relevância os hormônios esteróides andrógenos adrenais. Quando a puberdade se instala, assumem papel decisivo os hormônios gonadais, a testosterona no homem e o estrógeno na mulher. Há ainda atuação importante do GH (hormônio do crescimento), que influencia a deposição e formação de matriz óssea através de fatores de crescimento locais (NILSSON *et al*, 2005).



**Figura 3: Mediadores químicos que atuam no metabolismo ósseo.** A remodelação óssea é um processo mediado por diversos mediadores químicos (interleucinas, hormônios, fatores de crescimento) que atuam regulando a atividade das células ósseas. OPG (osteoprotegerina), GM-CSF (granulocyte macrophage-colony stimulating factor), RANK (Receptor activator of NF- $\kappa$ B), RANK-ligante (receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand), BMP-2 (Bone morphogenetic protein-2), TGF- $\beta$  (transforming growth factor). (Adaptada de: CAETANO-LOPES *et al*, 2007).

A homeostasia mineral é regulada pelo PTH, o 1,25-diidroxicalciferol e a calcitonina. Já os esteróides sexuais, T4 (tiroxina) e T3 (triiodotironina) influenciam o metabolismo ósseo controlando, de forma diferenciada, a reabsorção e a aposição óssea (BLAND, 2000).

T4 e T3 estimulam a expressão de genes, nos osteoblastos, para a produção de colágeno, osteocalcina e IGF (insulin like growth factor), importantes para a aposição óssea assim como atuam estimulando a síntese e atividade da fosfatase alcalina mediadora de aposição e mineralização ósseas (RIBEIRO, 2003). Apesar de existirem receptores para hormônios tireoidianos nos

osteoclastos, a reabsorção óssea estimulada por T3 parece ser indireta e mediada por mecanismos que ainda não foram bem elucidados (SERAKIDES *et al*, 2000; AKALIN *et al*, 2002). O hipertireoidismo parece aumentar a perda óssea na menopausa pois potencializa a diminuição de massa óssea desencadeada pela deficiência de esteróides sexuais (SCHINDLER, 2003). Este fato sugere que há interação entre tireóide e gônadas no controle do metabolismo ósseo e da homeostasia mineral (BONACCORSI, 2001; RIBEIRO, 2003).

Os esteróides sexuais possuem efeitos no desenvolvimento e maturação do esqueleto, como crescimento da placa de maturação e fechamento durante o crescimento longitudinal, regulação diferencial do metabolismo de ossos cortical e trabecular, estimulam o pico de massa óssea e inibem a perda óssea (LIBOUBAN *et al*, 2002). A ação estrogênica anti-reabsortiva está relacionada à sua capacidade de regular fatores modeladores da osteoclastogênese e não de uma ação direta no osteoclasto já que não foram evidenciados ERs nesta célula. Ultimamente, alguns estudos têm demonstrado que os andrógenos têm ação sobre os osteoclastos. Apesar dos esteróides femininos serem dominantes sobre a regulação da reabsorção óssea, foi evidenciado a presença de receptor androgênico (AR) em osteoclastos, osteócitos e osteoblastos; onde sua ação inibidora da osteoclastogênese pode acontecer de forma direta ou indireta, via o estímulo à produção de OPG nos osteoblastos, ou por inibir a expressão do gene da IL-6 (MANOLAGAS, 2000; KAWANO *et al*, 2003; VANDERSCHUEREN *et al*, 2004; WIREN, 2005). No entanto, em cultura de células da linhagem osteoblástica, a DHT (diidrotestosterona) causou a inibição da OPG, de maneira dose-dependente. Esses resultados tentam explicar, pelo menos em parte, porque os andrógenos são menos potentes que os estrógenos para diminuir a reabsorção óssea (HOFBAUER *et al*, 2002).

Andrógenos, assim como estrógenos, além de inibir a produção de IL-6, inibem IL-1 $\beta$  que é estimulador de IL-6 e inibem também a expressão de duas subunidades do receptor de IL-6. Os hormônios sexuais também regulam os marcadores de reabsorção (MANOLAGAS, 2000; VANDERSCHUEREN *et al*, 2004). Andrógenos e estrógenos modulam a expressão e a atividade de vários

fatores de crescimento e citocinas produzidos localmente durante o processo de mineralização. Atuam estimulando TGF- $\beta$ , um potente mitógeno para osteoblastos; IGF-1, que aumenta a diferenciação e mitogênese de osteoblastos; o receptor de IGF-2. O efeito de estimulação da BMP-6 e da síntese de colágeno I tem sido atribuído a estrógenos. Outros reguladores da formação são o PTH e a Vitamina D, que agindo diretamente no osteoblasto inibem a síntese de colágeno I. Os glicocorticóides exercem efeito anti-formação, facilitando os mecanismos que levam a fragilidade óssea, pelo menos em parte, por inibir IGF-1. No entanto, insulina e PGE2 (em baixa concentração) estimulam a função osteoblástica e a síntese de colágeno I. Todos os estudos deixam claro que esses mediadores representam o ponto final de várias cascatas de eventos envolvendo hormônios (CHEN *et al*, 2005; RAISZ, 2005).

O aumento da liberação das citocinas no estado de hipostrogenismo acelera a reabsorção óssea. Alguns estudos sugerem a participação de IL-1, IL-6 e TNF na perda óssea, já que seus níveis se encontraram aumentados em camundongos ooforectomizados e mulheres pós-menopausa; acreditando haver um aumento da secreção, pelos osteoblastos ou pelas células do estroma da medula óssea, capazes de estimular a osteoclastogênese e o conseqüente aumento da reabsorção óssea. Inversamente, a terapia de reposição hormonal suprime as citocinas, prevenindo a perda óssea (GRIZ, 2000; RAMALHO *et al*, 2000). A deficiência de androgênios resulta em diversas alterações do metabolismo ósseo. A presença de receptores para androgênio em várias células ósseas caracteriza o osso como tecido alvo direto desse hormônio (KAWANO *et al*, 2003; IWAMOTO *et al*, 2004; LORMEAU *et al*, 2004; AKINGBEMI, 2005).

A progesterona também é reconhecida como hormônio importante no metabolismo ósseo e mineral, mas sua ação no osso ainda é pouco conhecida. Ela estimula a proliferação e a diferenciação das células osteoprogenitoras e atua diretamente nos osteoblastos estimulando a aposição e a mineralização óssea (RIBEIRO, 2003)

O GH estimula a proliferação e diferenciação dos osteoblastos *in vitro* e aumenta a síntese de colágeno tipo I, fosfatase alcalina e a osteocalcina, produtos

dos osteoblastos ativos. Receptores de GH foram encontrados em cultura de osteoblastos de ratos e seres humanos, porém muitas das suas ações são mediadas pela produção local parácrina ou autócrina de IGF-1. Parece que o GH age na diferenciação das células mais primitivas e que a ação nos osteoblastos maduros se faz através do IGF-1. Outra evidência interessante é a demonstração de que o GH pode estimular os precursores dos osteoclastos, aumentando sua diferenciação e ativação (BORBA *et al*, 2003).

A calcitonina inibe a atividade e modifica a morfologia dos osteoclastos, por agir sobre o citoesqueleto. No entanto, a falta de calcitonina não é observada na osteoporose. (MOCHIZUKI & INOUE, 2000, KAVUNCU *et al* , 2003; JIANG *et al*, 2004)

Apesar de não elucidado por completo, admite-se, com base em dados clínicos e experimentais, que as ações mediadas pelo PTH no osso permitem o acoplamento entre osteoblastos e osteoclastos, aumentando o turn-over ósseo. Estimulando tanto a formação quanto a reabsorção do osso, pode ocorrer o predomínio de um ou outro processo, dependendo da concentração e tempo de exposição ao PTH. Doses intermitentes associam-se a um predomínio da formação, enquanto que a exposição prolongada e concentrações elevadas induzem a uma perda óssea por predomínio da reabsorção. O PTH age nos osteoblastos estimulando a produção de PGE2, que aumenta o número de osteoclastos, sendo essa ação inibida por andrógenos e estrógenos (GRACITELLI *et al*, 2002; IWAMOTO *et al*, 2003).

A Vitamina D atua diretamente nas células osteoprogenitoras estimulando a diferenciação dos osteoclastos (IWAMOTO *et al*, 2003; RAISZ, 2005).

### **1.3 A DEFICIÊNCIA DE ESTERÓIDES SEXUAIS E O RISCO PARA DESENVOLVIMENTO DE OSTEOPOROSE**

Durante um período da vida adulta, geralmente a partir da quarta década, são observados declínios graduais em todas as funções fisiológicas. Existe uma diminuição na capacidade de síntese protéica, na função imunológica, na força,



massa muscular e densidade mineral óssea. A redução da força e massa muscular é um dos fatores mais limitantes porque promove um estado de fragilidade física, determinando assim a perda de uma vida independente. Uma parte desse processo de envelhecimento que afeta a composição corporal, possivelmente, está relacionada a modificações no sistema endócrino (CAIROLI, 2004; CAULEY, 2006).

A partir dos 50 anos para as mulheres e dos 70 anos para os homens, aproximadamente, tem-se uma queda da quantidade de osso trabecular devido à alta invasividade dos osteoclastos, cuja atuação deixa de ser inibida devido deficiência de hormônios esteróides. Ocorre perda de tecido ósseo, pois os osteoblastos não são capazes de repor a massa perdida: a velocidade de remodelamento é aumentada e a reabsorção excede a formação. As trabéculas tendem a diminuir em espessura, com aumento dos espaços entre elas, causando osteopenia e podendo levar à osteoporose (IWAMOTO *et al*, 2004; LORMEAU *et al*, 2004).

O termo pós-menopausa implica num estado de deficiência hormonal secundário a falência gonadal. Para o diagnóstico de menopausa, deve existir um ano ou mais de amenorréia, e baixos níveis de estradiol e altos níveis de FSH e LH (KRAHE, 2003; WIREN, 2005).

Não existe idade predeterminada para a menopausa, mas geralmente ela ocorre entre os 45 e os 55 anos. Em alguns casos pode ser mais prematura ocorrendo a partir dos 40 anos, sem que isto seja um problema (BJARNASON *et al*, 2002; JIANG *et al*, 2004)

Os sintomas da menopausa decorrem, em sua grande maioria, da deficiência de estrogênio. Essa deficiência resulta em alterações ginecológicas (disfunções menstruais e urogenitais e alterações da genitália interna e externa), sintomas vasomotores, neuropsíquicos, alterações atróficas da pele e anexos, atrofia das mucosas nasais e oculares, diminuição da acuidade auditiva, gengivite e descalcificação dos dentes, comprometimento do sistema nervoso central e alterações do metabolismo ósseo e cardiovascular (HADJI *et al*, 2000)

O estrogênio é o maior regulador do desenvolvimento e da deposição de tecido adiposo. Este apresenta uma distribuição sexo-específica: nas mulheres a gordura subcutânea é mais extensiva, assim como a quantidade é maior do que em homens. No entanto, a presença de receptor androgênico no adipócito mostra que a resposta destas células aos esteróides sexuais, é determinada pelo tipo de receptor dominante nas várias regiões (COOKE & NAAZ ,2004).

No climatério, as modificações do biótipo feminino são atribuídas à tendência ao ganho ponderal com aumento médio do peso corpóreo de 1,5 kg/ano, estando associada ao aumento na deposição central de tecido adiposo, que pode ser atenuada pela reposição estrogênica (D' EON *et al*, 2005). Embora o tecido adiposo expresse os dois tipos de receptor estrogênico (E $\alpha$  e E $\beta$ ), o E $\alpha$  parece ser o mediador da deposição de tecido adiposo, já que em sua ausência animais machos e fêmeas desenvolveram aumento de tecido adiposo, resistência insulínica e intolerância a glicose (HEINE, 2000).

A menopausa é um fator de perda óssea, desencadeada pela falta da ação protetora do estrogênio, inibindo a reabsorção óssea (CAULIN *et al*, 2002; KRAHE, 2003; WIREN, 2005). Este fato caracteriza a osteoporose como a doença metabólica mais comum entre as mulheres na pós-menopausa (MATTSON *et al*, 2002; CAO *et al*, 2004).

A produção do hormônio testosterona costuma diminuir, de forma discreta, quando os homens ultrapassam os 50 anos. Isso é fisiológico e natural. Este hormônio começa a diminuir cerca de 1% ao ano, entretanto, quando essa queda é mais acentuada, o fenômeno leva o nome de deficiência androgênica no envelhecimento masculino (DAEM) (AUDRAN *et al*, 2001; CAIROLI, 2004; ADLER, 2006, CAULEY, 2006).

O DAEM foi descrito pela primeira vez em 1939, onde se caracterizou como o declínio da testosterona plasmática em homens acima de 50 anos. A partir dos anos sessenta, inúmeros trabalhos científicos confirmaram estas descobertas e identificaram uma redução da perfusão sanguínea nos testículos, com redução significativa da síntese de testosterona (CAIROLI, 2004; CAULEY, 2006). A etiologia deste declínio da testosterona dependente da idade é multifatorial e

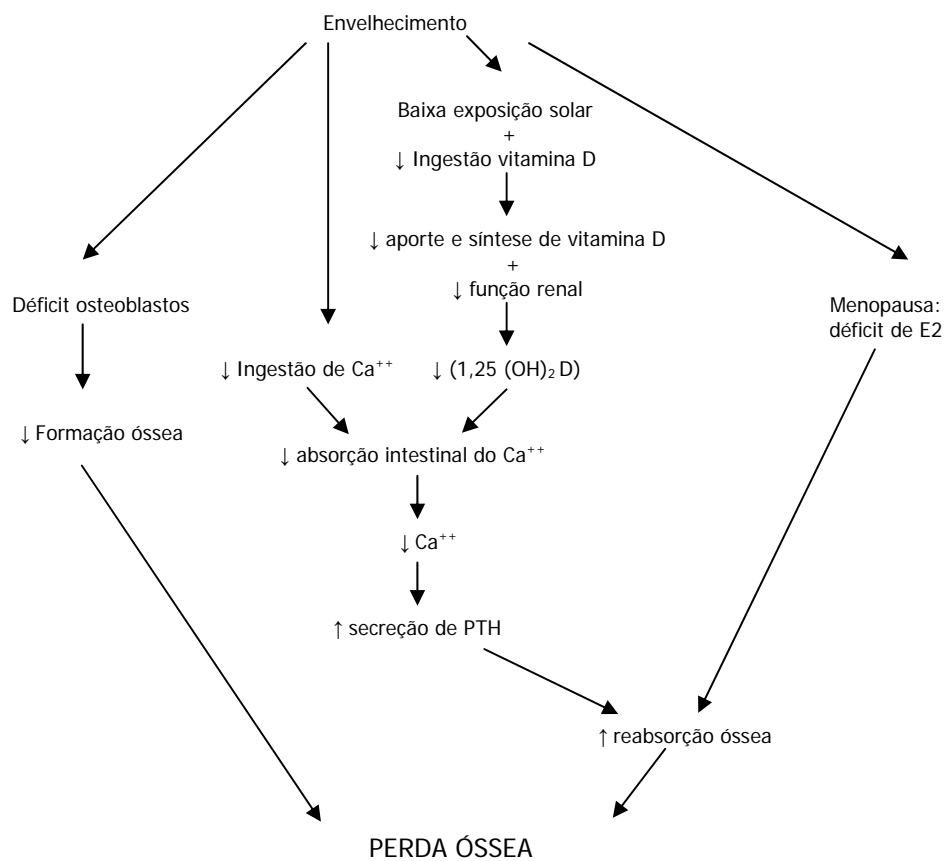
envolve alterações testiculares primárias, disfunção da regulação neuroendócrina das gonadotropinas, elevação das concentrações séricas de globulina ligadora de hormônios sexuais e redução da sensibilidade dos receptores androgênicos (BONACCORSI, 2001; FITTS *et al*, 2004; ADLER, 2006).

Por maior que seja a queda da testosterona no homem, ela não se compara à queda dos hormônios femininos na mulher, após a menopausa. No homem os sintomas se instalam lenta e progressivamente, diferentemente da mulher. Na DAEM, em 15% dos casos surgem sintomas como perda de interesse sexual, problemas de ereção, falta de concentração, queda de pêlos, aumento de peso, irritabilidade e insônia, aumento da proporção de gordura corporal, diminuição da massa muscular, tendência a anemia e osteoporose (BONACCORSI, 2001; WIREN, 2005).

Além da carência de esteróides sexuais, alterações na homeostase do  $\text{Ca}^{++}$  (cálcio), relacionadas ao processo de envelhecimento, também contribuem para a perda de massa óssea (Figura 4). As concentrações plasmáticas de PTH aumentam mais de 50% entre os 20 e os 80 anos de idade. Acredita-se que o aumento do PTH seria uma resposta a uma reduzida disponibilidade de  $\text{Ca}^{++}$ , seja por uma ingestão deficiente, comum em idosos com intolerância à lactose, seja por uma reduzida absorção intestinal de cálcio. A absorção ativa de cálcio pela mucosa intestinal está diretamente relacionada à presença da 1,25-dihidroxitamina D3. Em indivíduos idosos, essa carência é observada com frequência. Uma produção diminuída de colecalciferol na pele a partir de seus precursores na presença de raios ultravioleta ocorreria, especialmente, por uma baixa exposição solar. Além disto, uma diminuição na atividade 1- $\alpha$  hidroxilase renal também pode ser observada nos indivíduos idosos (MANOLAGAS, 2000; SINGER, 2001; KRAHE, 2003).

Outros fatores também contribuem para o desequilíbrio da homeostase do esqueleto, fragilidade óssea e o aparecimento de fraturas na senescência, como: tabagismo, alcoolismo, falta de estímulo mecânico pela diminuição de exercícios físicos, doses farmacológicas de hormônio tireóideo e glicocorticóides, fatores

nutricionais e determinantes genéticos do pico de massa óssea. (MANOLAGAS, 2000; SINGER, 2001; KRAHE, 2003).



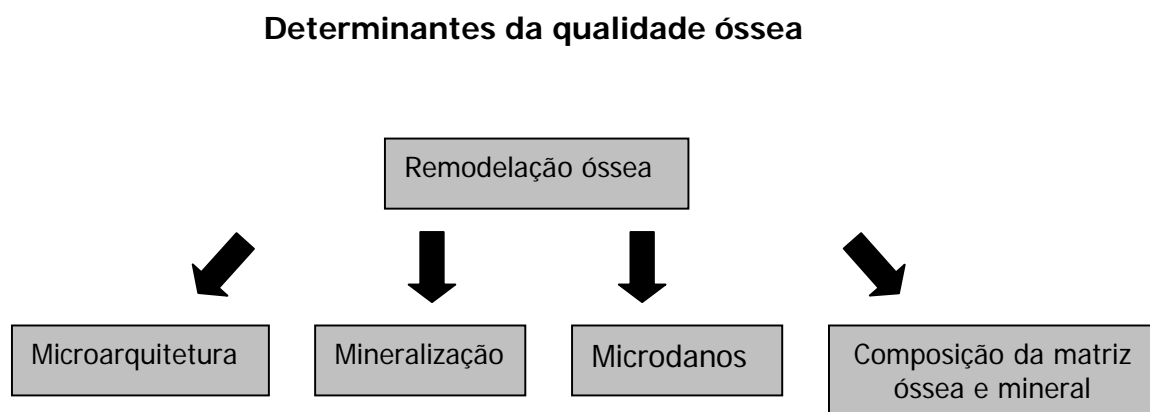
**Figura 4: Modificações hormonais e perda óssea ligadas a idade.** Com o envelhecimento, ocorre uma redução nos níveis de vitamina D secundária à baixa exposição solar e a uma redução da função renal. Como consequência, observa-se uma redução da calcemia e um hiperparatireoidismo secundário. A essas alterações adicionam-se ainda os efeitos do déficit de E2 (estrógeno 2) e uma diminuição da função osteoblástica. (Adaptada de: RAMALHO & LAZARETTI-CASTRO, 1999).

## 1.4 PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA ÓSSEA

### 1.4.1 Parâmetros Biomecânicos

A resistência óssea é determinada por componentes estáticos e dinâmicos. Dentre os primeiros estão a estrutura óssea (arquitetura) e o material ósseo (tamanho dos cristais e qualidade do colágeno). O componente dinâmico que, por sua vez, atua sobre os componentes estáticos, é determinado por um nível ótimo de remodelação óssea (BRAZ & SALLES, 2001; LINDSAY, 2001).

A qualidade do osso compreende os aspectos da composição e estrutura óssea que contribuem para sua força, independentemente da densidade mineral óssea, as quais incluem: *turnover* ósseo, microarquitetura, mineralização, microdanos e a composição da matriz óssea e mineral (Figura 5). Novas técnicas para avaliar estes componentes da qualidade óssea têm sido desenvolvidas e devem proporcionar importantes avanços para determinação do risco de fraturas nas doenças tratadas e não tratadas (AUDRAN *et al*, 2001; COMPSTON, 2006).



**Figura 5: Determinantes da qualidade óssea.** A qualidade do osso compreende os aspectos da composição e estrutura óssea que contribuem para sua força, independentemente da densidade mineral óssea. (Adaptada de: COMPSTON, 2006.)

A força mecânica do osso é provavelmente o parâmetro mais relevante em relação ao risco de fraturas. Quando os ossos são sujeitos a condições de carga experimentais ou fisiológicas, seu comportamento mecânico é dependente não somente da massa do tecido ósseo, mas também de sua geometria e arquitetura. Sendo assim, faz-se necessário avaliar as propriedades biomecânicas ósseas a fim de inferir a qualidade óssea. (LEGRAND *et al*, 2000; LIND *et al*, 2001; WARDEN & TURNER, 2004).

O osso caracteriza-se por ser viscoelástico, ou seja, as propriedades mecânicas variam de acordo com a velocidade de aplicação da carga. Este fenômeno decorre do fato da estrutura óssea escoar internamente de acordo com a carga aplicada. Um aumento na velocidade de aplicação da carga aumenta o módulo de elasticidade e a resistência máxima do osso cortical, enquanto ocorre decréscimo da deformação máxima. As propriedades mecânicas do osso variam não somente com a natureza da força aplicada, mas também com a direção e a velocidade de aplicação desta força. Materiais ideais são homogêneos e sempre se comportam da mesma maneira, independentemente da orientação, mas os ossos mostram máximas propriedades materiais em uma orientação com o mínimo peso. Eles possuem diferentes propriedades em diferentes direções, um fenômeno conhecido como anisotropia, enquanto que outros materiais são isotrópicos, isto é, independentemente da direção da carga aplicada, suas propriedades mecânicas serão sempre as mesmas (HOLANDA *et al*, 1999; BRAZ & SALLES, 2001).

Em situações clínicas, normalmente existe uma dificuldade em avaliar a competência biomecânica dos ossos. Por isso, a utilização de equipamentos para avaliar as propriedades mecânicas de ossos de ratos tem demonstrado relevância clínica na avaliação dos efeitos da presença ou ausência de hormônios e fatores farmacológicos, já que ratos e seres humanos respondem de forma similar a estes eventos (IKEDA *et. al*, 2001; LEE & TAYLOR, 2002).

As propriedades biomecânicas são obtidas através de ensaios específicos, sendo o teste de flexão a três pontos em fêmur, tíbia e o teste de compressão em vértebras os mais empregados (IKEDA *et. al*, 2001; LIND *et al*, 2001; ITO *et al*,

2002). Recentemente, OLIVERA *et al* (2003) e ALLIPI *et al* (2006) também padronizaram o teste de flexão a três pontos para mandíbulas, favorecendo os estudos de avaliação da qualidade óssea em benefício da saúde bucal.

No teste de flexão de três pontos, utilizado com frequência para se verificar quantitativamente a fragilidade do osso de animais castrados, é aplicada uma força sobre a estrutura óssea até provocar fratura. Dessa forma, tem-se a carga máxima suportada pelo osso, além de ser possível analisar sua deformação até o momento da fratura na região da diáfise óssea ou na região do colo femoral (epífise). A deformação é a quantidade de deflexão do osso como resultado da aplicação da carga, registrada por unidade de comprimento. A resistência de um osso é governada por uma combinação das propriedades do tecido ósseo e geometria da secção transversa (HOLANDA *et al*, 1999; LIND *et al*, 2001).

As fraturas do corpo vertebral resultam, predominantemente, da ação de cargas compressivas no eixo axial. A redução da capacidade de suportar carga das vértebras está relacionada às suas propriedades materiais e a forma como a estrutura trabecular é modificada pelos processos de perda óssea após menopausa ou relacionada ao envelhecimento (BRAZ & SALLES, 2001; LIND *et al*, 2001).

#### **1.4.2 Parâmetros Bioquímicos**

Os exames laboratoriais bioquímicos são úteis para o diagnóstico diferencial, pois permitem avaliar o status nutricional do paciente e o metabolismo na osteoporose, auxiliando na escolha da terapêutica adequada (OLIVEIRA *et al*, 2000; SARAIVA & LAZARETTI-CASTRO, 2002; FARES *et al*, 2003).

O uso de marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo na prática clínica tem se expandido de maneira considerável. Isto se deve ao surgimento de novos métodos e de um melhor conhecimento sobre a fisiopatologia das doenças ósteo-metabólicas, em especial a osteoporose. Os marcadores podem ser divididos em marcadores de formação, que refletem a atividade dos osteoblastos, e os de

reabsorção, que refletem a atividade dos osteoclastos (SARAIVA & LAZARETTI-CASTRO, 2002; FARES *et al*, 2003; SEIBEL, 2006).

O cálcio é o cátion mais abundante no organismo, totalizando 2% do peso de um adulto. Tal quantidade equivale a 1300 gramas de cálcio, dos quais 99% se localizam no esqueleto e 1% restante participa de inúmeros processos metabólicos nos meios intra e extracelulares. Devido ao fato de atuar em diversas funções vitais no organismo, a dosagem de cálcio tem grande valor na prática médica diária. O fósforo também é um íon que ao ser dosado fornece dados sobre o equilíbrio entre reabsorção e formação. O balanço hormonal do sistema endócrino atua mantendo as concentrações séricas de fosfato normais (OLIVEIRA *et al*, 2000; SARAIVA & LAZARETTI-CASTRO, 2002; IWAMOTO *et al*, 2003).

A fosfatase alcalina contida no plasma humano é fisiologicamente a somatória de várias isoenzimas que provêm do osso, fígado, intestino e placenta, durante a gravidez. A fosfatase alcalina óssea é marcador da atividade osteoblástica, podendo haver redução da síntese desta substância na osteoporose. Já as concentrações séricas de osteocalcina e pró-colágeno tipo I parecem não ser alteradas durante a osteoporose. A piridinolina tem seus níveis urinários aumentados durante a osteoporose. Em estudos sobre osteoporose, este marcador pode ser usado para estimar a taxa de turnover ósseo e verificar os efeitos de tratamento específico (GUNDBERG *et al*, 2002; LORMEAU *et al*, 2004; SEIBEL, 2006).

Outro marcador que possibilita o estudo do metabolismo ósseo normal ou em condições patológicas é o ácido 3-carboxiglutâmico (Gla), cuja concentração urinária está diminuída em pacientes com hiperparatireoidismo. Ainda, a partir da degradação do colágeno, tem-se aumento dos níveis de hidroxiprolina, principal aminoácido constituinte do colágeno, nos fluidos corporais (VIEIRA, 1999; FARES *et al*, 2003).

O PICP (Propeptídeo carboxiterminal do pró-colágeno tipo I) é uma das porções terminais da molécula de pró-colágeno, liberado na corrente sanguínea durante a síntese do colágeno tipo I. O PINP (Propeptídeo aminoterminal do pró-colágeno tipo I) também é liberado na circulação sanguínea durante o processo de



síntese de matriz óssea. Uma pequena porção desse fragmento terminal pode ser incorporada durante a formação da matriz óssea e liberada, posteriormente, durante a sua degradação. O Telo-peptídeo carboxiterminal cross-linked do colágeno tipo I, demonstrou *in vivo* e *in vitro*, que apresenta uma correlação significativa entre a taxa de degradação da matriz óssea por meio de histomorfometria. Em mulheres pós-menopáusicas, situação caracterizada por uma elevada reabsorção óssea, observa-se uma diminuição de seus níveis depois do tratamento com estrogênio (VIEIRA, 1999; AKALIN *et al*, 2002)

### 1.4.3 Densitometria Óssea

Estudos publicados durante décadas confirmaram a relação entre a massa óssea e as propriedades mecânicas do tecido ósseo. Segundo Faulkner (2000), o risco de fratura se relaciona principalmente com a medida da densidade mineral óssea, confirmando assim a correlação entre densidade mineral óssea e resistência óssea.

O osso é um tecido que possui grande capacidade de regeneração, com características específicas e dependentes da conformação organizacional das matérias que as compõe. Porém, o estudo dos mecanismos de modelagem e remodelagem óssea é de difícil realização, haja vista a natureza rígida do osso, impossibilitando uma análise direta, sem a utilização de técnicas invasivas (LEE & TAYLOR, 2002; BARROS *et al*, 2008).

A análise da densidade mineral óssea (DMO) utilizando a técnica de dupla emissão de fontes de Raios-X (DXA) é o exame de referência para o diagnóstico de osteoporose. Segundo critérios propostos pela OMS, o diagnóstico é realizado pela avaliação da coluna lombar, do fêmur proximal, do colo femoral e/ou do fêmur total e do antebraço (ZANETTE *et al*, 2003; LEROUXEL *et al*, 2004).

Este exame permite analisar os pacientes com alto risco de doença metabólica óssea, de estimar a severidade da perda óssea, verificar o risco de fraturas e de acompanhar a evolução dos tratamentos. Ela só deve ser indicada quando seu resultado for influenciar a decisão clínica (SZEJNFELD, 2004).

A DXA depende da absorção da radiação pelo esqueleto, provendo medidas quantitativas da massa óssea. Sua acurácia é medida em termos do coeficiente de variação entre o peso das cinzas ósseas e peso do conteúdo mineral ósseo registrado pelo densitômetro (LIBOUBAN *et al*, 2002; ZANETTE *et al*, 2003).

Os resultados da DXA são apresentados por:

Valores absolutos: densidade mineral óssea -DMO (g/cm<sup>2</sup>)

1- T-Score: calculado em desvio padrão (DP), tomando como referência o valor da DMO média do pico de massa óssea em adultos jovens.

- NORMAL: DMO até - 1,0 DP
- OSTEOPENIA: DMO entre - 1,1 e 2,5 DP
- OSTEOPOROSE: DMO abaixo de - 2,5 DP
- OSTEOPOROSE ESTABELECIDADA: DMO abaixo de - 2,5 DP na presença de fratura

2- Z-Score: calculado em desvios-padrão (DP), tomando como referência a DMO média esperada para indivíduos da mesma idade, etnia e sexo. Resultados exibindo Z-Scores - 2,0 DP ou abaixo podem sugerir causas secundárias de osteoporose. Em crianças utiliza-se o Z-Score para avaliação de massa óssea.

## **1.5 TRATAMENTO DO HIPOGONADISMO E SUA AÇÃO SOBRE A ESTRUTURA ÓSSEA**

A conduta terapêutica na osteoporose inclui, além de medidas gerais, o uso de medicamentos. O tratamento é prescrito à base de drogas inibidoras de reabsorção óssea, que não repõe a massa perdida, mas que apenas ajudam a deter o processo. Deve-se considerar que é mais viável a prevenção do que o tratamento. Ganhar massa óssea não deve ser o único objetivo da prevenção da osteoporose, o que se busca é a prevenção da fratura (FERNANDES *et al*, 2001).

Baseadas na correlação estabelecida entre densidade mineral óssea, resistência óssea e risco de fraturas, as terapias para redução da incidência de fraturas ora disponíveis visam reverter à perda e aumentar a resistência ósseas, sendo que os efeitos das mesmas têm sido mais consistentes em relação a fraturas do quadril do que em relação às vértebras (FAULKNER, 2000; VEDI *et al*, 2003).

Em mulheres, o estrogênio é considerado o fator chave para a prevenção da osteoporose e das fraturas. Entretanto, em todo o mundo, menos de 20% das mulheres após a menopausa o utilizam. Este tratamento ajuda a evitar no início da menopausa doenças ósseas e cardíacas, além de aliviar os sintomas associados com a menopausa, como depressão e fogachos. No entanto, a terapia só deve ser seguida na ausência de contra-indicações, como predisposição ao câncer e anomalias uterinas (BJARNASON *et al*, 2002; CAULIN *et al*, 2002; VEDI *et al*, 2003)

Estudos de Ramalho *et al*, (2000) sobre o mecanismo de ação anti-reabsortivo ósseo do estrógeno sugerem que este hormônio promova a diminuição da formação de células osteoclasto -*simile* de medula óssea humana. Também foi observado a redução dose dependente no número de células multinucleares TRAP+ (precursores de osteoclasto) após tratamento com estrógeno *in vitro*. Existem evidências de que o efeito do estrógeno na osteoclastogênese é mediado por célula do estroma e/ou osteoblasto baseado na expressão de ER  $\alpha$  e  $\beta$  nessas células.

Nos homens, o objetivo do tratamento hormonal é o alívio dos sintomas relacionados à insuficiência androgênica. Se possível, alcançar níveis de testosterona sérica que se assemelhem aos níveis e variações próprios dos adultos jovens (FITTS *et al*, 2004). Sendo o gonadostato do idoso muito sensível ao retro-controle negativo pelos esteróides sexuais, torna-se difícil aumentar os níveis de testosterona para limites fisiológicos não inibidores dos níveis de LH, o que seria o ideal. Os riscos do tratamento hormonal vão depender do produto usado, da sua dosagem e, por fim, da via de administração (CAIROLI, 2004; ADLER, 2006; CAULEY, 2006).

Entre os benefícios da reposição hormonal têm sido descritos uma melhora da sensação geral de bem estar, da libido e da força muscular e uma discreta diminuição da gordura tissular. Não existem ainda dados conclusivos acerca destes efeitos benéficos sobre a densidade óssea mineral do homem idoso (CAULEY, 2006).

## 1.6 MODELO EXPERIMENTAL DA PERDA OSSÉA POR HIPOGONADISMO

A castração em ratos é o modelo utilizado com maior freqüência para o estudo de eventos associados à osteopenia, pois mimetiza perda óssea por hipogonadismo (LIBOUBAN *et al*, 2002; IWAMOTO *et al*, 2004; BORST & CONOVER, 2006).

Os principais mecanismos biológicos responsáveis pelo ganho e perda óssea durante o crescimento normal e a vida adulta são os mesmos em seres humanos e ratos. Sabe-se também que ratos e humanos respondem similarmente à terapia hormonal. Por isso, murinos são ideais para a avaliação do agente terapêutico para a prevenção da osteoporose (OLIVERA *et al*, 2003; FITTS *et al*, 2004)

Antes de realizar a castração em fêmeas é importante acompanhar as modificações na citologia vaginal para verificar se as ratas estão apresentando funcionamento normal ovariano. Roedores de laboratório, como camundongos, ratos e hamsters, são espécies poliestrais, em que o estro ocorre regularmente a cada 4-5 dias (MARCONDES *et al*, 2002).

A concentração sérica dos hormônios sexuais apresenta variações ao longo do ciclo estral, decorrentes de modificações morfo-funcionais dos ovários, induzidas pelas gonadotrofinas hipofisárias, hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH). As variações hormonais cíclicas repercutem na morfologia e funcionalidade dos órgãos do aparelho reprodutor. No epitélio vaginal ocorrem alterações decorrentes da ação de estrogênio e de progesterona, que podem ser avaliadas à microscopia de luz (TEBAR *et al*, 1995). Pode-se evidenciar quatro etapas que, normalmente, se sucedem a cada quatro ou cinco dias e que possuem relações com a concentração de hormônio gonadal presente.

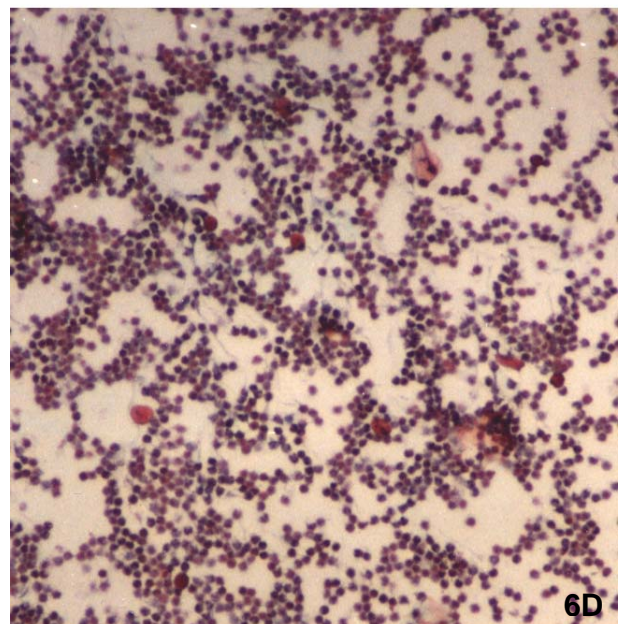
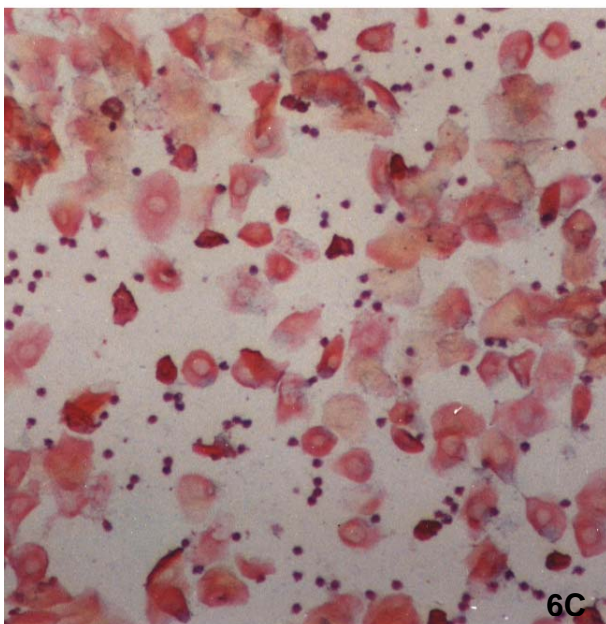
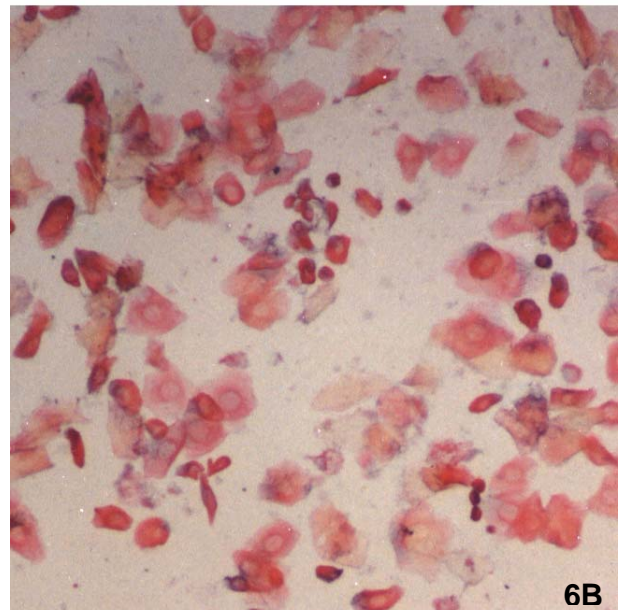
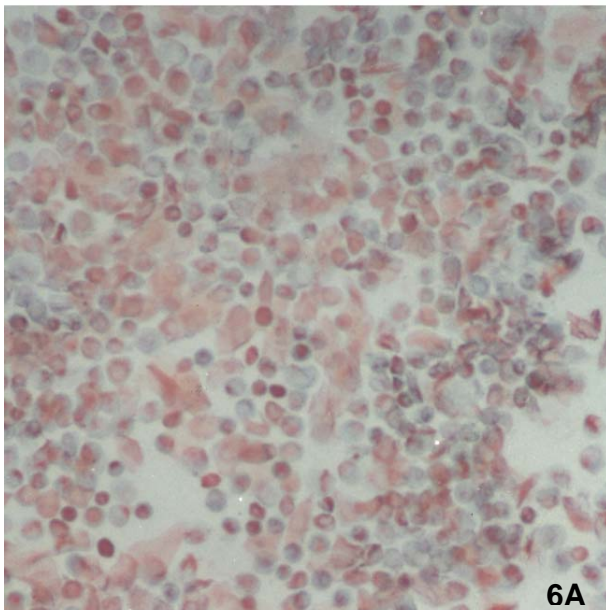
Estas fases são denominadas: proestro; estro; metaestro e diestro. (MARCONDES *et al*, 2002).

O proestro tem duração aproximada de doze horas. É o período pré-ovulatório, no qual ocorre aumento exponencial do folículo ovariano. Na manhã de proestro, a concentração sérica de estradiol é máxima promovendo na tarde do proestro o pico de LH, que é responsável pela ovulação e que é sucedido por um pico de secreção de progesterona. Caracteriza-se, no esfregaço vaginal, pela presença de células redondas e nucleadas (MARCONDES *et al*, 2001) (Figura 6A).

A fase seguinte, denominada de estro, tem duração aproximada de vinte quatro horas, quando ocorre a maturação final do folículo de DeGraaf e ovulação. Os níveis séricos de estradiol, progesterona e LH são baixos. No esfregaço vaginal observa-se células queratinizadas anucleadas, decorrentes de um estímulo estrogênico proveniente da fase anterior e ausência de leucócitos. Este é o período de receptibilidade sexual (TEBAR *et al*, 1995; MARCONDES *et al*, 2001). (Figura 6B).

O período consecutivo, metaestro, dura de vinte quatro a trinta e seis horas. Nesta fase, ocorre o crescimento do corpo lúteo que passa a secretar quantidades crescentes de estradiol e progesterona, com queda brusca do estradiol, ao final do período. A análise microscópica do epitélio vaginal revela três tipos celulares: células nucleadas, células queratinizadas e leucócitos (MARCONDES *et al*, 2002). (Figura 6C).

O Diestro, que dura em torno de vinte e quatro horas, pode se estender a quarenta e oito horas em algumas ratas. Caracteriza-se pela involução do corpo lúteo e nova fase de proliferação folicular, que ocorre caso o óvulo não seja fecundado. O estradiol sérico está baixo, porém ascendente; progesterona e LH apresentam concentração sérica baixa. A citologia vaginal mostra células nucleadas, mas a característica desta fase é a predominância de leucócitos (MARCONDES *et al*, 2002). (Figura 6D).



**Figura 6:** Fotomicrografias de lâminas de esfregaço vaginal de ratas controle, nas diferentes fases do Ciclo Estral, coradas pelo método tricrômico de Shoor (40x). Fases do Ciclo Estral: 6A: Proestro, 6B: Estro, 6C: Metaestro, 6D: Diestro.

## 1.7 RELEVÂNCIA DO ESTUDO SOBRE O EFEITO DO HIPOGONADISMO NO OSSO MANDÍBULAR

Propiciar um envelhecimento saudável a toda população é objetivo dos Gerontólogos e neste propósito também se destacam os Odontogeriatras. A Odontogeriatría é uma área da Odontologia que destina atenção à saúde bucal das pessoas idosas, ao processo de envelhecimento fisiológico dos componentes da cavidade bucal assim como às principais alterações patológicas que afetam estes indivíduos. Esta especialidade revela a necessidade de proporcionar qualidade de vida e saúde a todos da terceira idade. A prevenção e a educação em saúde são fatores fundamentais no trabalho com pacientes idosos (BRUNETTI & MONTENEGRO, 2002).

Sendo a osteoporose uma doença característica da terceira idade, comum entre as mulheres e cada vez mais freqüente em homens, é essencial que sua fisiopatologia seja esclarecida aos profissionais especializados. Estudos experimentais realizados anteriormente no nosso laboratório (ARMADA *et al*, 2006) comprovaram, através de análise morfométrica, a presença de alterações na remodelação óssea em mandíbulas de animais castrados a partir de 30 dias em fêmeas e de 90 dias em machos.

Muitos são os sinais clínicos e radiográficos que podem ser observados a partir da cavidade bucal e que podem sugerir a ocorrência de osteoporose como o número de dentes presentes, embora não haja um número estatístico que possa indicar tal ocorrência, doença periodontal progressiva, reabsorção do osso alveolar, reabsorção endosteal do córtex inferior mandibular, além de alterações no padrão do trabeculado ósseo, a espessura da cortical mandibular observada em radiografias panorâmicas, e a morfologia do córtex mandibular inferior (CAO *et al*, 2004; SANTIAGO *et al*, 2006).

A necessidade de tratamento odontológico é uma das conseqüências da sobrevivida prolongada dos pacientes com osteoporose, e exodontias são parte das opções terapêuticas freqüentemente adotadas por dentistas. São poucas as pesquisas que avaliam o efeito da doença no reparo alveolar pós-exodontia

(TANAKA *et al*, 2001). Ozawa *et al*, (2002) realizaram estudos com ooforectomizados que apresentaram atraso no processo de reparo alveolar, com diminuição da formação de colágeno e de osso. Estudos em animais ovariectomizados com osteoporose demonstram redução das cristas alveolares decorrente de aumento na reabsorção das mesmas (WOWERN, 2001; JHONSON *et al*, 2002; CAO *et al*, 2004)

Sendo a osteoporose uma doença sistêmica, as alterações na densidade óssea que são comuns a esta desordem, também podem afetar os ossos da maxila e mandíbula. Estas alterações resultam em dificuldades na mastigação, fala e estética, pois interferem no grau de reabsorção óssea bucal comprometendo a permanência dos dentes naturais e implantes e no uso de próteses. As perdas dentárias e as próteses inadequadas diminuem a capacidade de mastigação em 75% a 85% e ocasionam menor consumo de alimentos, além de provocarem alterações nutricionais e conseqüentemente a saúde fica comprometida. A digestão começa na cavidade bucal e nestas condições a motilidade gástrica fica sobrecarregada, podendo levar ao surgimento de doenças estomacais, acarretando no comprometimento do bem estar e da qualidade de vida do paciente. (TANAKA *et al*, 2002; MONTENEGRO *et al*, 2007).

Todos estes dados constituem argumentos suficientes para que o cirurgião-dentista conheça a influência da osteoporose nos ossos que constituem a cavidade bucal e contribua no exercício de sua atividade para o reconhecimento de sinais clínicos que podem ajudar a esclarecer os pacientes a respeito da osteoporose e o risco de fraturas a que estão sujeitos (SANTIAGO *et al*, 2006).

É de fundamental importância que o profissional tenha pleno conhecimento da real situação clínica do paciente, valorizando todas as informações possíveis para que o tratamento possa ser conduzido de forma consciente e segura, sempre baseado em relatos científicos consistentes (WOWERN, 2001).



# OBJETIVOS



## **2- OBJETIVOS**

### **2.1-GERAIS**

- Avaliar de que forma a deficiência de esteróides sexuais, induzida por ovariectomia ou orquiectomia, influencia o processo de remodelação óssea da mandíbula de ratos por períodos experimentais crônicos quando comparada com fêmur e vértebra.

### **2.2-ESPECÍFICOS**

- Avaliar parâmetros biométricos: massa corporal e dimensão dos ossos (mandíbulas, fêmures e vértebras).
- Analisar as concentrações séricas de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina.
- Avaliar as concentrações séricas dos esteróides sexuais.
- Avaliar a densidade mineral óssea de mandíbulas, fêmures e vértebras, através de densitometria óssea.
- Avaliar a qualidade óssea através de ensaios biomecânicos, de flexão e compressão.
- Avaliar as propriedades físicas ósseas de: volume ósseo, percentual ósseo de água, material orgânico e material mineral.

# **MATERIAL E MÉTODOS**



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 TRATAMENTO DAS FÊMEAS

Foram utilizadas ratas adultas, da linhagem Wistar, isogênicas e virgens, com 3 meses de idade, mantidas em gaiolas, com temperatura ambiente controlada (25 a 27°C), umidade constante e ciclo claro/escuro de 12 horas (6:00 h às 18:00 h), sendo a água e ração (Nuvilab) fornecidas *ad libitum*.

Antes de dar início a cada experimento, as fêmeas eram avaliadas, diariamente, por duas semanas consecutivas através de citologia vaginal e somente as ratas com ciclos regulares foram utilizadas. Após esta etapa de avaliação, 2/3 das ratas foram submetidas à remoção bilateral dos ovários, sob anestesia com tiopenthal (0,1ml/100gPC), enquanto as ratas restantes, grupo controle, sofreram estresse cirúrgico (pseudo-operadas). Metade das fêmeas ovariectomizadas, 3 dias após a castração, passou a receber 0,7µg de benzoato de estradiol (BE) (Sigma, MO, EUA), via subcutânea, dissolvido em veículo oleoso (óleo de milho) (Moreira *et al*, 1997), diariamente, por períodos de 90, 120 e 150 dias, sendo a última injeção 24hs antes do sacrifício. Os grupos Controle e Ovariectomizado receberam injeção do veículo. Formaram-se assim 3 grupos experimentais:

- Grupo Controle (C)
- Grupo Ovariectomizado (OVX)
- Grupo Ovariectomizado tratado com Benzoato de Estradiol (OVX+BE)

Em relação ao grupo Controle, só foram incluídas no estudo as ratas que estavam na fase de metaestro, do ciclo estral, no momento do sacrifício.

Todos os animais foram pesados no início e ao final de cada experimento.

Ao final de cada período experimental (90, 120 e 150 dias), os animais foram sacrificados por exsanguinação, sob anestesia com tiopenthal (0,2ml/100gPC), sendo removidos sangue e ossos (mandíbula, fêmures e coluna).

### 3.1.1 Determinação das Fases do Ciclo Estral

Coletas diárias de esfregaço vaginal foram realizadas entre 9:00 e 10:00 horas, com a finalidade de selecionar aquelas que apresentavam ciclo estral regular. A coleta do fluido vaginal foi feita com auxílio de ponteira plástica contendo solução de cloreto de sódio a 0.9%, que era depositado em lâminas de vidro e analisado a fresco em microscópio óptico, com objetiva 10x.

## 3.2 TRATAMENTO DOS MACHOS

Foram utilizados ratos machos, da linhagem Wistar, com 3 meses de idade, que estavam sob as mesmas condições ambientais e alimentares que as fêmeas. Parte dos animais (2/3) foi submetida à excisão bilateral dos testículos, sob anestesia com tiopental (0,1ml/100g PC), enquanto o grupo controle sofreu estresse cirúrgico (pseudo-operados). Metade dos machos orquiectomizados, 3 dias após a castração, passou a receber 0,4mg/100g PC de propionato de testosterona (PT) (Durateston), via intramuscular, dissolvido em veículo oleoso (óleo de milho) (BORGES *et al*, 1998), diariamente, por períodos de 90, 120 e 150 dias, sendo a última injeção 24hs antes do sacrifício. Os grupos Controle e Orquiectomizados receberam injeção do veículo. Formaram-se assim 3 grupos experimentais:

- Grupo Controle (C)
- Grupo Orquiectomizado (ORQ)
- Grupo Orquiectomizado tratado com Propionato de Testosterona (ORQ + PT)

Ao final de cada período experimental (90, 120 e 150 dias), os animais foram sacrificados por exsanguinação, sob anestesia com tiopental (0,2ml/100gPC), sendo removidos sangue e ossos (mandíbula, fêmures e coluna).

### **3.3 PARÂMETROS BIOMÉTRICOS**

#### **3.3.1 Massa Corporal**

No decorrer de cada período experimental foram verificados, semanalmente, os valores da massa corporal dos animais para que a dose da solução injetada fosse ajustada e a massa controlada.

#### **3.3.2 Medida das dimensões dos ossos**

A altura das vértebras (L4), o comprimento dos fêmures direitos e o diâmetro do côndilo das hemi-mandíbulas direitas foram medidos antes dos ensaios biomecânicos, com o auxílio de um paquímetro. Foram realizadas duas medidas do côndilo mandibular: no sentido vestíbulo lingual (VL) e no sentido mesio-distal (MD).

### **3.4 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS**

O sangue dos animais foi coletado por punção cardíaca e centrifugado a 4°C em centrífuga Hermle a 2500 rpm por 20 minutos. Após a obtenção do soro, foram analisadas as concentrações de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina através de testes colorimétricos. Para isso, foi utilizado kit comercial da marca Bioclin (Quibasa, Belo Horizonte, BR). As concentrações séricas de testosterona (sensibilidade: 0,18 pg/ml, coeficiente de variação intra-ensaio: 5,2%) e estradiol (sensibilidade: 10 pg/ml, coeficiente de variação intra-ensaio: 5,5%) foram dosadas através de radioimunoensaio (RIA) utilizando kit MP Biomedicals (ICN, New York, USA).

### 3.5 DENSITOMETRIA ÓSSEA

Os ossos dos animais foram extraídos, dissecados e mantidos em solução salina (NaCl 9%) a uma temperatura de  $-20^{\circ}$  C. Foi realizada a análise densitométrica do corpo da hemi-mandíbula direita (região próxima aos molares-R1), do fêmur direito total (epífises- R1/ R2 e diáfise -R3) e da quarta vértebra lombar (L4- R1).

A análise da densidade mineral óssea (DMO) foi feita no Densitômetro Hologic QDR 2000, utilizando a técnica de dupla emissão de fontes de Raios-X (DXA). O software empregado foi o "Small Animal", fornecido pelo próprio fabricante no modo "High Resolution". O coeficiente de variação (CV) do aparelho foi de: coluna lombar = 1,1%; fêmur total =1,9% e hemimandíbula = 0,88%. Os resultados foram expressos em  $\text{g}/\text{cm}^2$ .

Após a realização da densitometria os ossos foram novamente congelados.

### 3.6 ENSAIO BIOMECÂNICO

Doze horas antes dos ensaios, os ossos foram descongelados à temperatura ambiente e mantidos em solução salina até o momento imediatamente anterior ao teste. Os ensaios mecânicos foram realizados numa máquina de ensaio universal Instron, modelo 4444 em temperatura ambiente (PENG *et al*, 1994). (Figura 7).



**Figura 7: Máquina universal de ensaio biomecânico.** Instron, modelo 4444, mostra ensaio mecânico de flexão de três pontos em mandíbula.

Os valores das cargas aplicadas plotados em função das deformações foram registrados pelo software Instron Series IX, produzindo as curvas carga-deformação (Figura 8). Estas curvas apresentam duas regiões bem distintas, a região de deformação elástica, correspondendo à fase linear da curva e a região de deformação plástica, correspondendo à fase de comportamento variável, onde ocorrem deformações permanentes no tecido ósseo (TURNER & BURR, 1993).

A deformação na qual a força e o deslocamento são proporcionais, fornece uma curva linear, denominada fase elástica da deformação. Esta deformação não é permanente, o que significa que quando a carga aplicada é retirada, o material retorna à sua forma original e permanece não lesado. Se a força continuar a ser aplicada, ocorre uma deformação permanente (fase plástica), que por uma perspectiva atômica, corresponde a quebra de ligações de átomos vizinhos; e



mesmo com a remoção da força eles não retornam às suas posições originais, conduzindo a lesões estruturais. A rigidez de uma estrutura indica a quantidade de força necessária para deformar um material, e é definida como inclinação da curva força deformação na fase elástica (CALLISTER, 1994).

A partir de tais curvas foram determinadas as principais propriedades biomecânicas explicitadas a seguir:

### ***Força máxima***

Corresponde à maior carga aplicada durante o ensaio até provocar a fratura óssea, expressa em Newton (N).

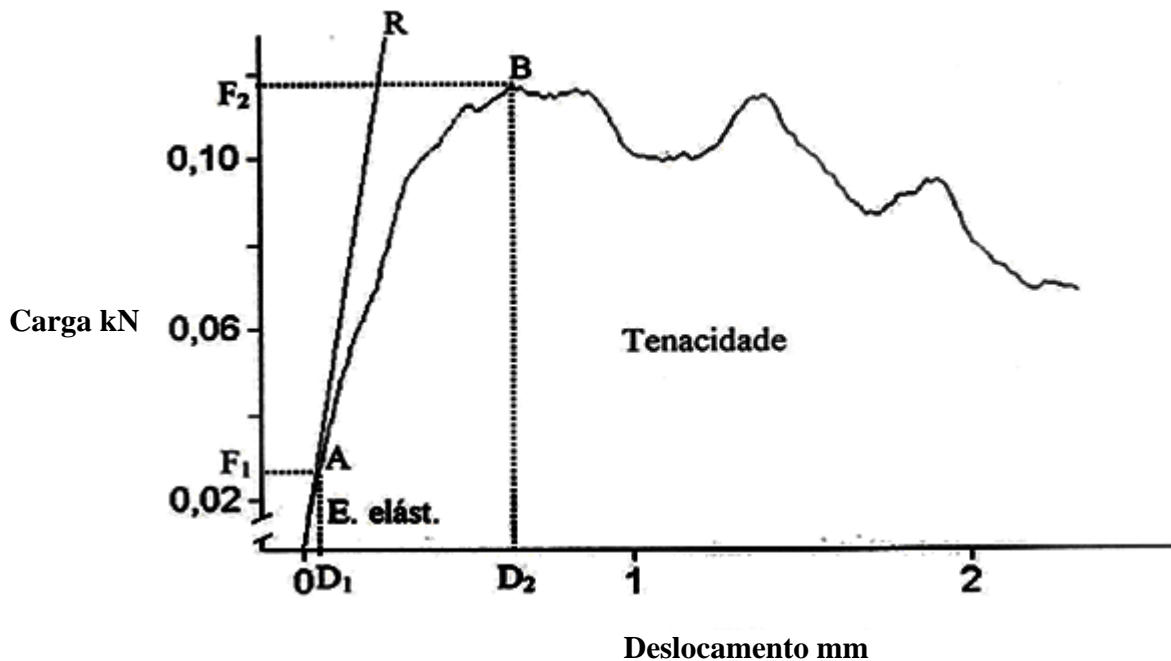
### ***Resiliência***

É a capacidade de um material absorver energia quando deformado elasticamente e então, com a retirada da carga, tem sua energia recuperada. A capacidade de absorver energia é a medida da quantidade de energia que o osso é capaz de absorver até o ponto da força máxima, antes de ocorrer a fratura.

Corresponde à área sob a curva carga-deformação até o limite elástico (último ponto correspondente à fase elástica da curva), obtido através de integração numérica, também conhecida como energia absorvida na fase elástica, expressa em Joule (J).

### ***Tenacidade***

É a medida da habilidade de um material absorver energia até a fratura. Corresponde à área total sob a curva carga-deformação (região elástica + região plástica), obtida através de integração numérica expressa em megapascal (Mpa).



**Figura 8: Curva carga-deformação.** Exemplo da **curva carga-deformação**, apresentando os diversos parâmetros biomecânicos: A, limite elástico; B, ponto de carga máxima; R, reta ajustada à fase elástica da curva; F<sub>1</sub>, força (carga) no limite elástico; D<sub>1</sub>, deformação no limite elástico; F<sub>2</sub>, força (carga) máxima; D<sub>2</sub>, deformação no ponto de força (carga) máxima.

### 3.6.1 Ensaio biomecânico de compressão em vértebra (L4)

Para realização dos ensaios mecânicos de compressão das vértebras (L4), os processos transversos, o processo espinhoso e o arco vertebral foram retirados de modo a obter somente o corpo vertebral. As extremidades deste corpo foram aplainadas com lixa d'água (Norton 180) e a porção cranial foi identificada com caneta marcadora. Os ensaios foram realizados utilizando uma célula de carga com capacidade máxima de 100kgf. Foi aplicada uma pré-carga de 10 N para estabilizar a vértebra (SAMNEGARD *et al*, 2001). A velocidade de aplicação de carga, durante o ensaio, foi constante de 2mm/min no eixo crânio-caudal (MOSEKILDE *et al*, 1993; KATSUMATA *et al*, 1995; IKEDA *et al*, 2001) até o esmagamento parcial da vértebra (2/3 da altura média da vértebra).

### 3.6.2 Ensaio biomecânico de flexão de três pontos em fêmur

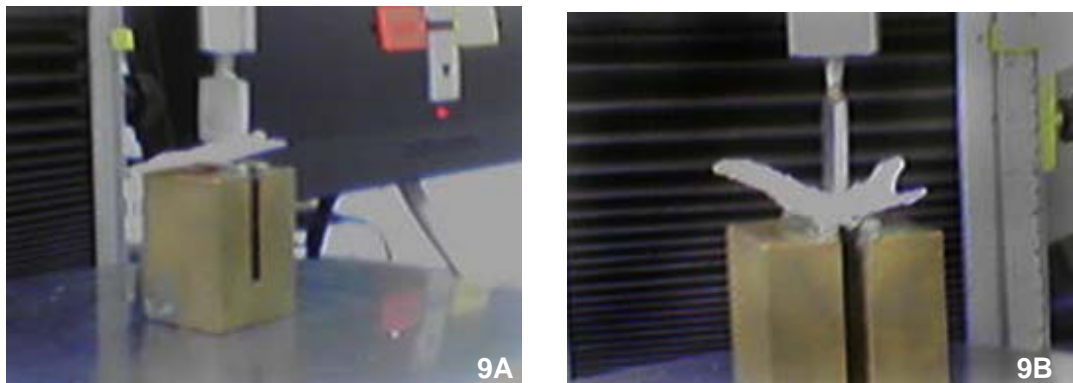
As extremidades dos fêmures direitos foram apoiadas em dois roletes com diâmetro de 3.0 mm, suportados por apoios distanciados de 21.70 mm. A força foi aplicada e o deslocamento do travessão da máquina foi monitorado em um registrador x-t.

Utilizou-se a célula carga Instron, modelo CM, de capacidade máxima de 500 kgf, com fundos de escala variando de 10 e 500 kgf. Este tipo de célula fornece uma precisão na leitura de carga de 2% do fundo de escala utilizado. Neste estudo, foram utilizados os fundos de escala 10 kgf e 20 kgf. Foi aplicada uma pré-carga de 5 N para estabilizar o fêmur (MOSEKILDE *et al.* 1999). A velocidade de aplicação de carga, durante o ensaio, foi constante de 1mm/min até a fratura do osso (SOGAARD *et al.* 1994).

### 3.6.3 Ensaio biomecânico de flexão de três pontos em mandíbula

As extremidades das hemi-mandíbulas direitas foram apoiadas em dois roletes com diâmetro de 1.0 mm, suportados por apoios distanciados de 6 mm (Figura 9A). Os molares encontravam-se voltados para cima e terceiro ponto foi inserido imediatamente após o terceiro molar (Figura 9B). A força foi aplicada e o deslocamento do travessão da máquina foi monitorado em um registrador x-t.

Os ensaios foram realizados utilizando uma célula de carga com capacidade máxima de 100kgf. Foi aplicada uma pré-carga de 10 N para estabilizar a hemi-mandíbula. A velocidade de aplicação de carga, durante o ensaio, foi constante de 2mm/min até a fratura do osso. Essa metodologia foi baseada nos trabalhos de Olivera *et al* (2003) e Alippi *et al* (2006).



**Figura 9: Ensaio biomecânico de flexão de três pontos em mandíbula.** 9A: as extremidades da hemi-mandíbula direita foi apoiada em dois roletes com diâmetro de 1.0 mm, suportados por apoios distanciados de 6 mm. 9B: os molares encontravam-se voltados para cima e terceiro ponto foi inserido imediatamente após o terceiro molar.

### 3.7 PROPRIEDADES FÍSICAS ÓSSEAS

Os ossos (fêmur direito, hemi-mandíbula direita e vértebra - L4) foram inseridos em água destilada e colocados no dessecador por 24 horas para retirada de ar dos poros ósseos. Em seguida, foram imersos com auxílio de um fio de cobre, em recipiente contendo água destilada e pesados para a obtenção do peso imerso ( $P_i$ ). Depois, os ossos foram retirados do recipiente, o excesso de água foi removido e o peso úmido ( $P_u$ ) foi quantificado. Tais procedimentos foram realizados no momento anterior ao teste biomecânico, visto que levam a alterações na forma óssea, as quais dificultariam a pesagem.

Após a realização dos ensaios biomecânicos, os ossos foram desidratados em estufa (Funbec) a  $100^{\circ}$  C por 24 horas e pesados, para obtenção do peso seco ( $P_s$ ). Em seguida, os ossos foram deixados em mufla a  $800^{\circ}$  C por 24 horas, obtendo-se as cinzas para quantificação do peso das cinzas ( $P_c$ ). Todas as medidas foram feitas em balança eletrônica (Chyo).

Com base nestes dados, o volume ósseo foi calculado seguindo o princípio de Arquimedes e a partir deste as densidades óssea e mineral puderam ser encontradas. Além destes parâmetros, foram calculados os percentuais ósseos de

água, material orgânico e material mineral, segundo as fórmulas que seguem (MARTIN *et al*, 1993):

$$\text{Volume ósseo (VO)} = \frac{P_u - P_i}{\rho} \text{ (cm}^3\text{)}$$

$$\text{Densidade óssea} = \frac{P_u}{\text{VO}} \text{ (g/cm}^3\text{)}$$

$$\text{Densidade mineral} = \frac{P_c}{\text{VO}} \text{ (g/cm}^3\text{)}$$

$$\text{Percentual ósseo de água} = 100 \times \frac{(P_u - P_s)}{P_u} \text{ (\%)}$$

$$\text{Percentual ósseo de material orgânico} = 100 \times \frac{(P_s - P_c)}{P_u} \text{ (\%)}$$

$$\text{Percentual ósseo de material mineral} = 100 \times \frac{P_c}{P_u} \text{ (\%)}$$

Onde:

$P_u$  – Peso do osso úmido (g)

$P_i$  – Peso do osso imerso (g)

$P_s$  – Peso do osso desidratado (g)

$P_c$  – Peso das cinzas ósseas (g)

$\rho$  – Densidade da água (g/cm<sup>3</sup>)

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos vários resultados foi realizada por análise bivariada comparando os períodos experimentais (90, 120 e 150 dias) com os diferentes grupos (Controle, Castrado, Tratado), utilizando o teste de comparação múltipla de Bonferroni, sendo o nível de significância  $p < 0,05$ . Os resultados são mostrados com média  $\pm$  erro padrão da média.

# RESULTADOS



## 4. RESULTADOS

### 4.1 PARÂMETROS BIOMÉTRICOS

#### 4.1.1 Massa corporal

Nos machos foi possível observar que os animais ORQ tiveram um ganho de massa ( $\Delta$ ) significativamente inferior aos do grupo C em todos os períodos experimentais. No entanto, os animais ORQ+PT apresentaram menor ganho de massa, nos grupos estudados (Figura 10).

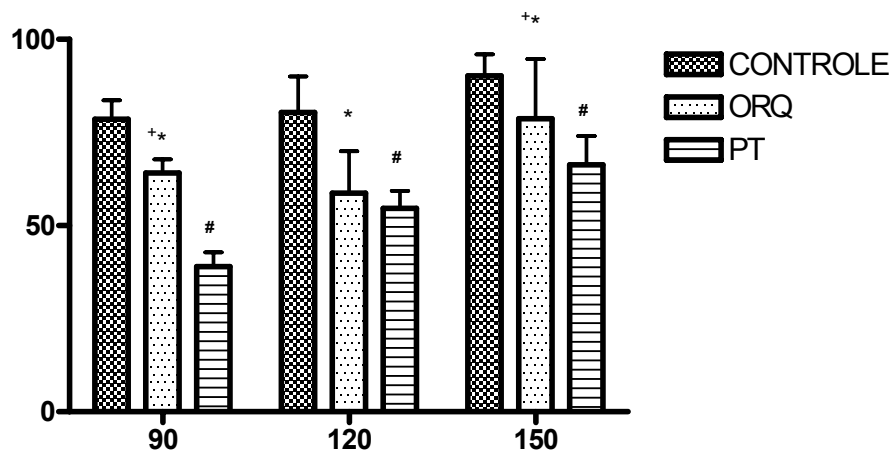
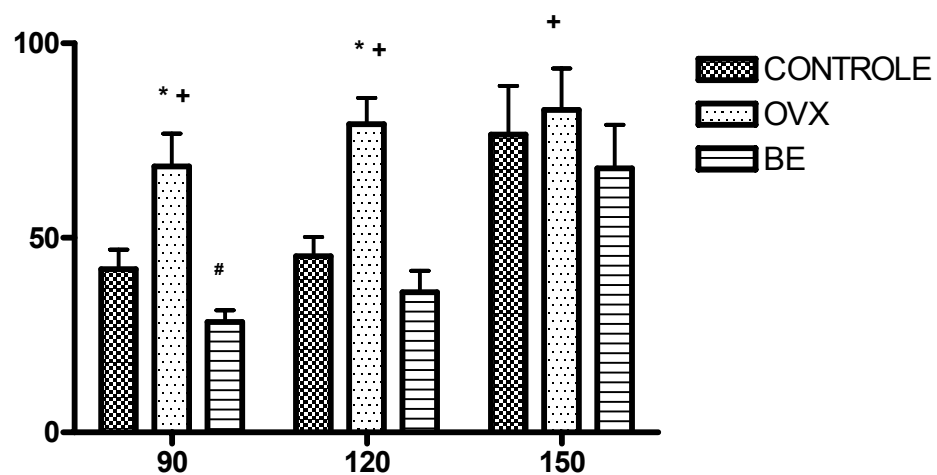


Figura 10. Valores de  $\Delta$  (massa corporal final- massa corporal inicial) em machos após 90, 120, 150 dias de castração. Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs ORQ, #  $p < 0,05$  C vs ORQ+PT, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT.

Nas fêmeas, o grupo que apresentou o maior ganho de massa corporal ( $\Delta$ ) em todos os períodos experimentais foi o OVX, enquanto o grupo OVX+BE foi o que apresentou menor ganho. Aos 150 dias, a diferença de massa corporal entre fêmeas OVX e C não foi estatisticamente significativa. Esses resultados são apresentados na Figura 11.



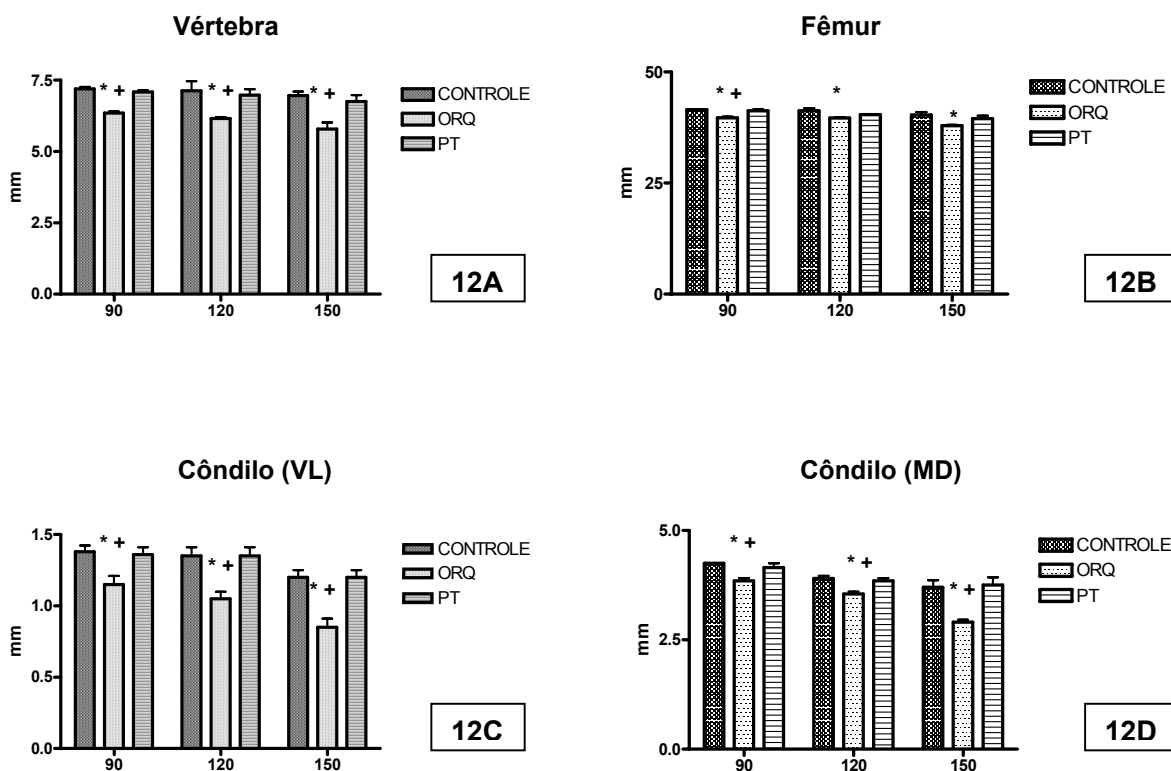
**Figura 11. Valores de  $\Delta$  ( massa corporal final- massa corporal inicial) em fêmeas após 90, 120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs OVX, #  $p < 0,05$  C vs OVX+BE, +  $p < 0,05$  OVX vs OVX+BE.



#### 4.1.2 Medida das dimensões dos ossos

Nos machos, os animais ORQ apresentaram as medidas de todos os ossos estudados menores quando comparados com os demais grupos, em todos os períodos experimentais, sendo essas diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). As dimensões dos ossos de animais dos grupos C e ORQ+PT foram semelhantes em todos os períodos experimentais.

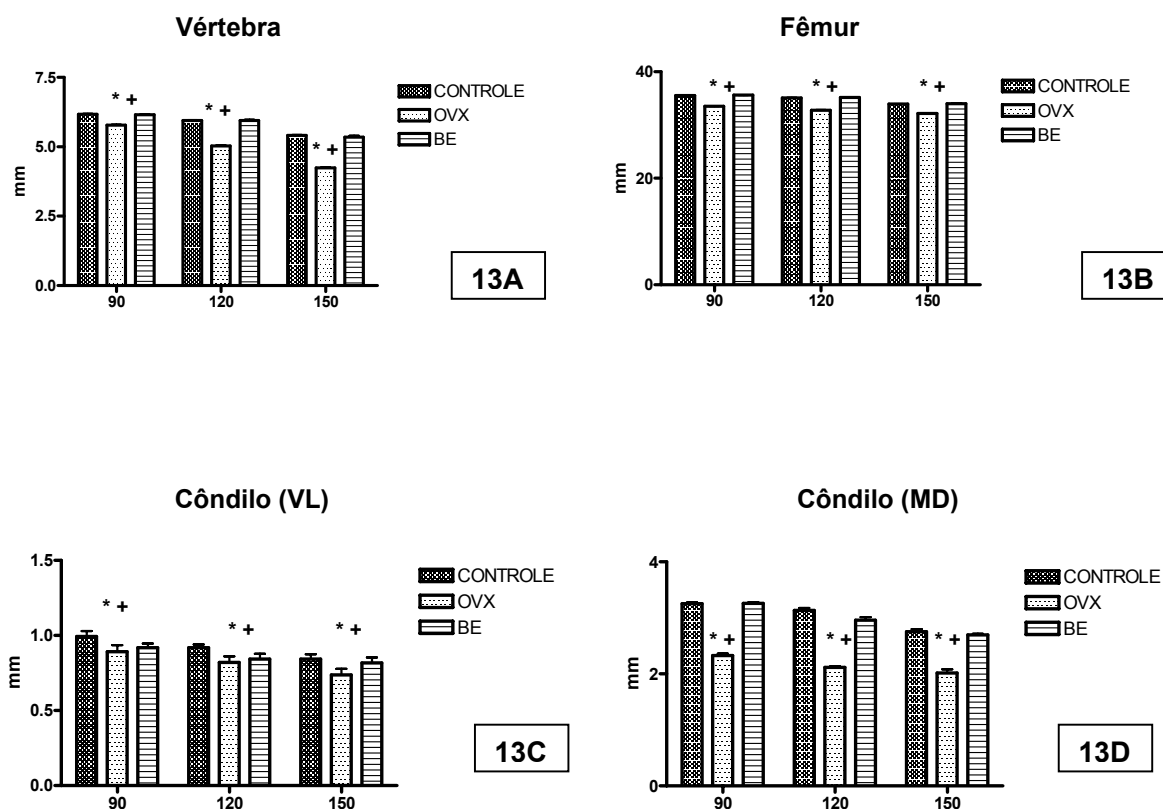
Também foi observado, em todos os grupos, menores dimensões ósseas com o aumento do período experimental, ou seja, animais avaliados ao final de 150 dias apresentaram ossos com dimensões menores do que os animais avaliados aos 90 dias, para todos os ossos analisados. Esses valores são apresentados na Figura 12.



**Figura 12. Valores das dimensões dos ossos (mm) de machos após 90, 120, 150 dias de castração. 12A:** altura da vértebra L4; **12B:** comprimento do fêmur; **12C:** largura do côndilo da mandíbula no sentido VL; **12D:** largura do côndilo da mandíbula no sentido MD. Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs ORQ, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT.

Nas fêmeas, foi possível observar medidas significativamente ( $p < 0,05$ ) menores nos ossos das OVX quando comparadas com os demais grupos, em todos os períodos experimentais. As dimensões dos ossos dos grupos C e OVX+BE foram sempre semelhantes.

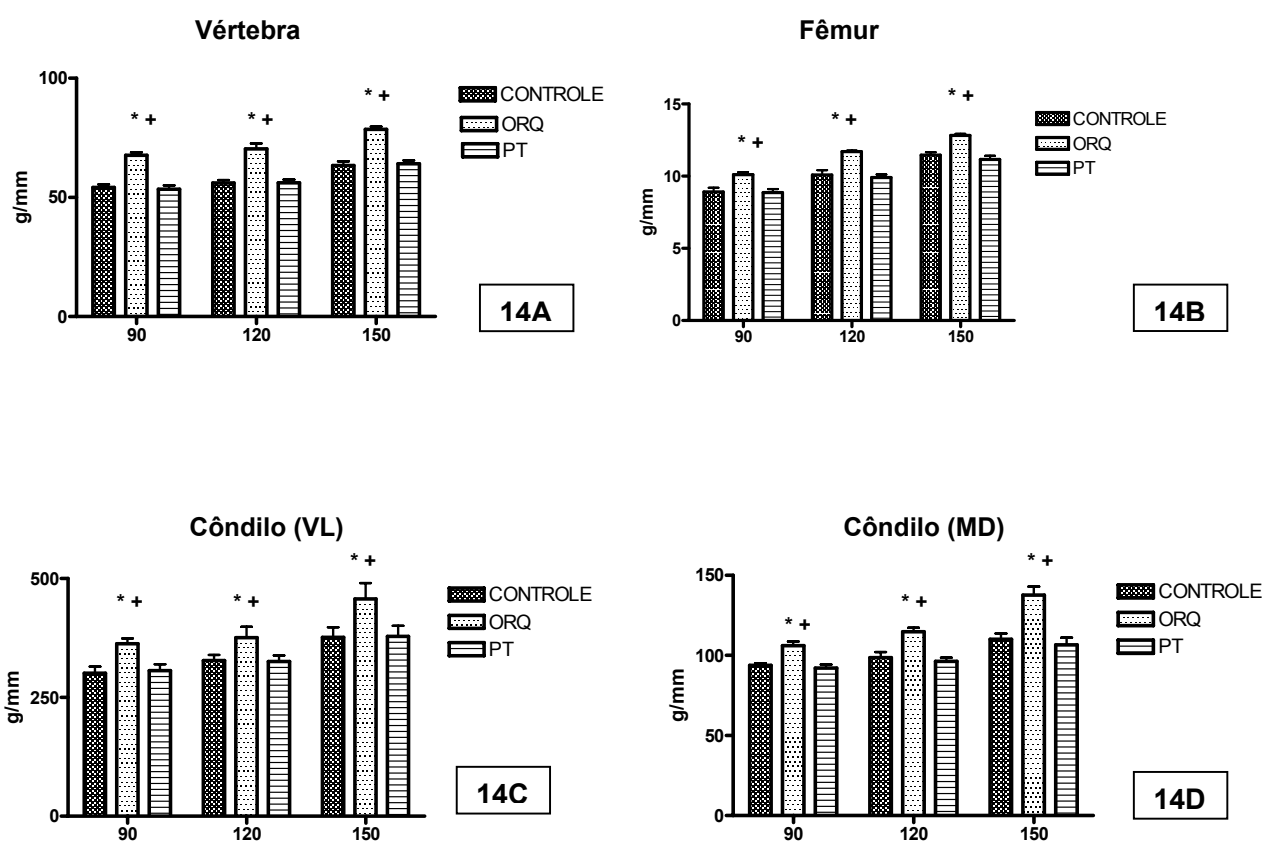
Com o aumento do período experimental ocorreu diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) nas dimensões ósseas. Esses valores são apresentados na Figura 13.



**Figura 13. Valores das dimensões dos ossos (mm) de fêmeas após 90, 120, 150 dias de castração. 13A:** altura da vértebra L4; **13B:** comprimento do fêmur; **13C:** largura do côndilo da mandíbula no sentido VL; **13D:** largura do côndilo da mandíbula no sentido MD. Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs OVX, +  $p < 0,05$  OVX vs OVX+BE.

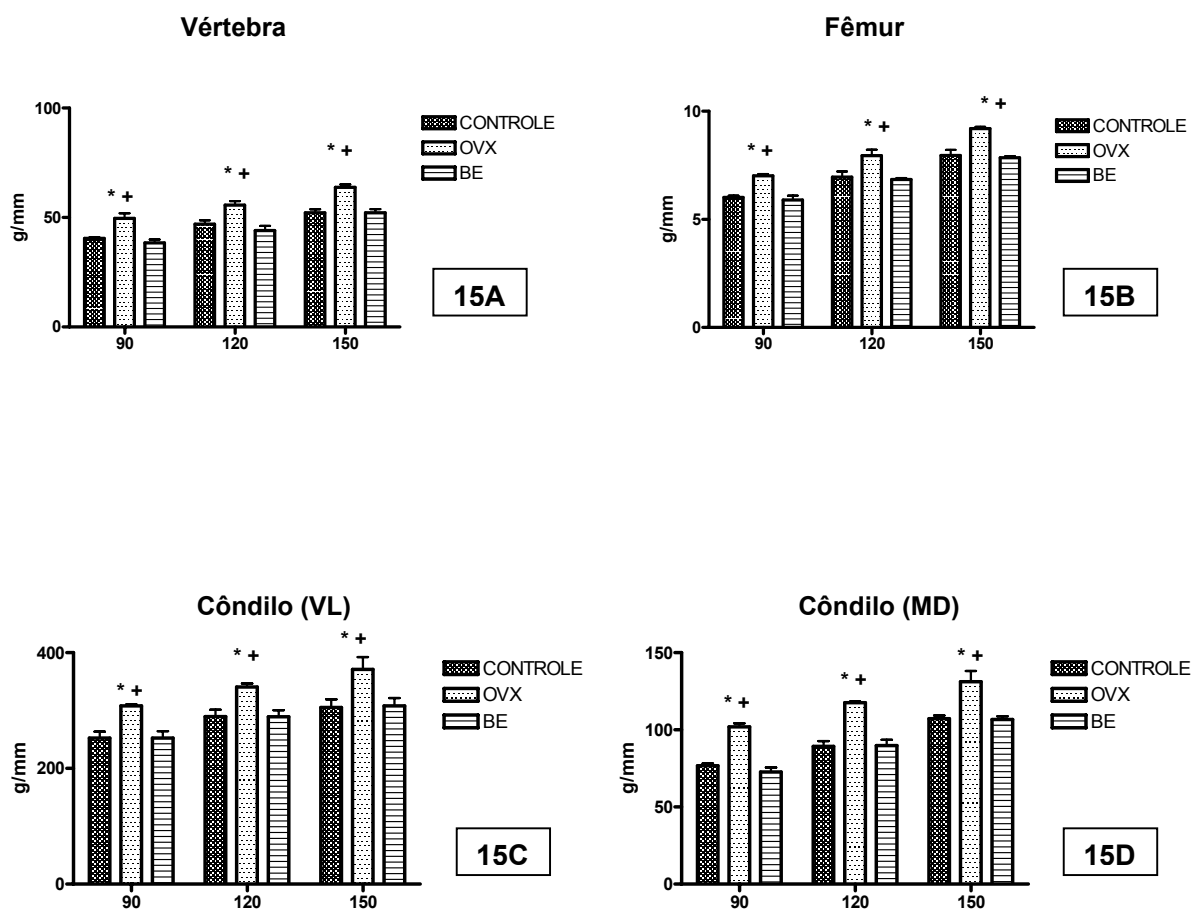
#### 4.1.3 Relação massa corporal/dimensão dos ossos

O resultado da relação entre a massa corporal e a dimensão dos ossos (massa/dimensão) dos machos demonstrou valores estatisticamente maiores nos animais ORQ. Essa relação ocorreu para todos os ossos avaliados. (Figura 14) Com o aumento do período experimental, os valores referentes a essa relação tornaram-se significativamente maiores ( $p < 0,05$ ).



**Figura 14. Relação entre a massa corporal (g) e dimensão dos ossos (mm) de machos após 90, 120, 150 dias de castração. 14A:** massa corporal/altura vértebra L4; **14B:** massa corporal/comprimento do fêmur; **14C:** massa corporal/largura do côndilo da mandíbula no sentido VL; **14D:** massa corporal/largura do côndilo da mandíbula no sentido MD. Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs ORQ, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT.

Nas fêmeas a relação entre a massa corporal e a dimensão dos ossos (massa/dimensão) também apresentou valores estatisticamente maiores nos animais OVX, para todos os ossos avaliados. (Figura 15) Com o aumento do período experimental, os valores referentes a essa relação tornaram-se significativamente maiores ( $p < 0,05$ ).

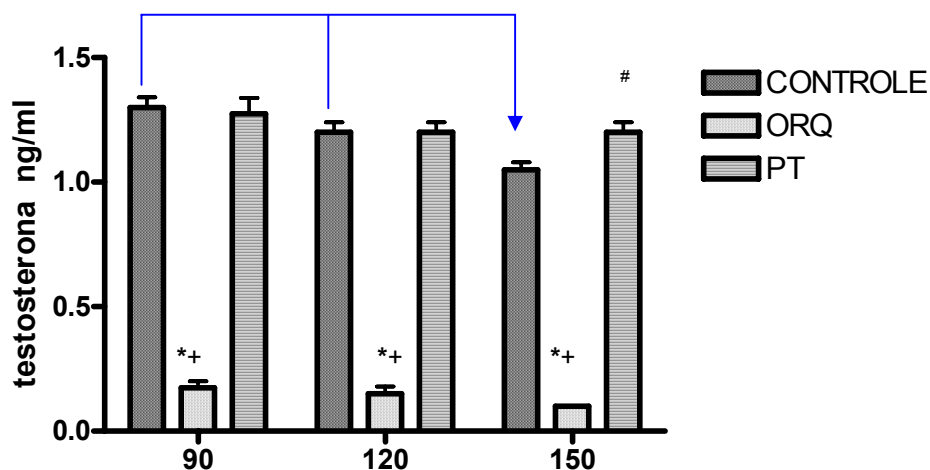


**Figura 15. Relação entre a massa corporal (g) e dimensão dos ossos (mm) de fêmeas após 90, 120, 150 dias de castração. 15A:** massa corporal/altura vértebra L4; **15B:** massa corporal/comprimento do fêmur; **15C:** massa corporal/largura do côndilo da mandíbula no sentido VL; **15D:** massa corporal/largura do côndilo da mandíbula no sentido MD. Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs OVX, +  $p < 0,05$  OVX vs OVX+BE.

## 4.2 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

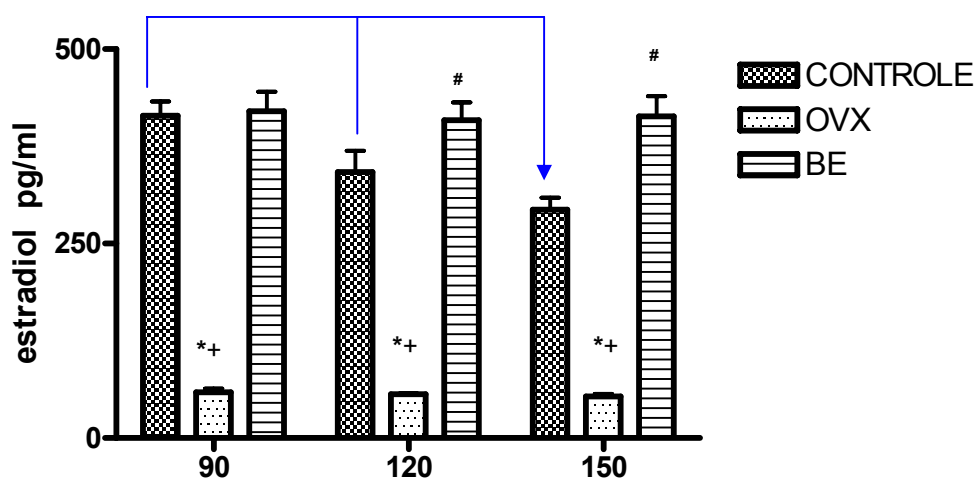
### 4.2.1 Concentrações séricas de esteróides sexuais

As concentrações séricas de testosterona nos grupos ORQ apresentaram-se menores quando comparados ao C e ORQ+PT ( $p < 0,05$ ). Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos C e ORQ+PT apenas em 150 dias. Ao comparar os grupos C, foi possível observar diferenças estatisticamente significativas entre os períodos de 90d vs 150d e 120d vs 150d. (Figura 16)



**Figura 16. Concentrações séricas de testosterona (ng/ml) em machos após 90, 120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs ORQ, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT, #  $p < 0,05$  C vs ORQ+PT, →  $p < 0,05$  C vs C.

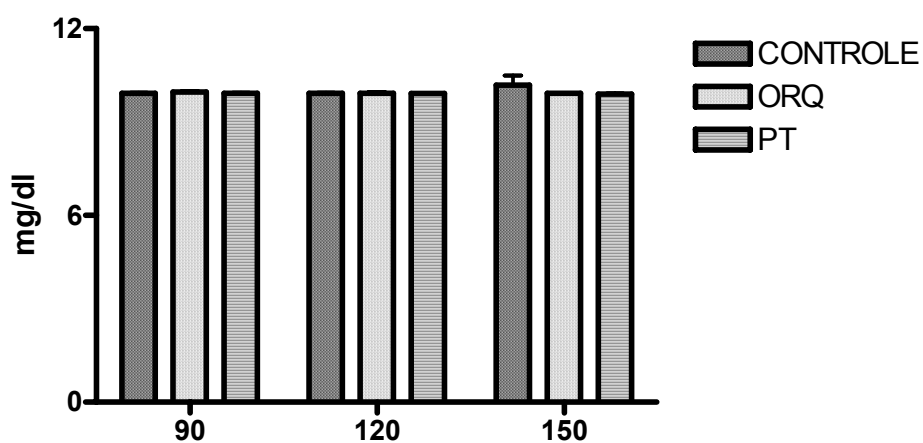
Nas fêmeas, as concentrações séricas de estradiol apresentaram-se menores nos grupos OVX quando comparados ao C e OVX+BE ( $p < 0,05$ ). A partir de 120 dias foram observadas diferenças significativas entre C e OVX+BE. Ao longo dos períodos experimentais, foi possível observar uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) no grupo C 90d vs 150d e 120d vs 150d . (Figura 17).



**Figura 17. Concentrações séricas de estradiol (pg/ml) em fêmeas após 90, 120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs OVX, +  $p < 0,05$  OVX vs OVX+BE, #  $p < 0,05$  C vs OVX+BE,  $\rightarrow$   $p < 0,05$  C vs C.

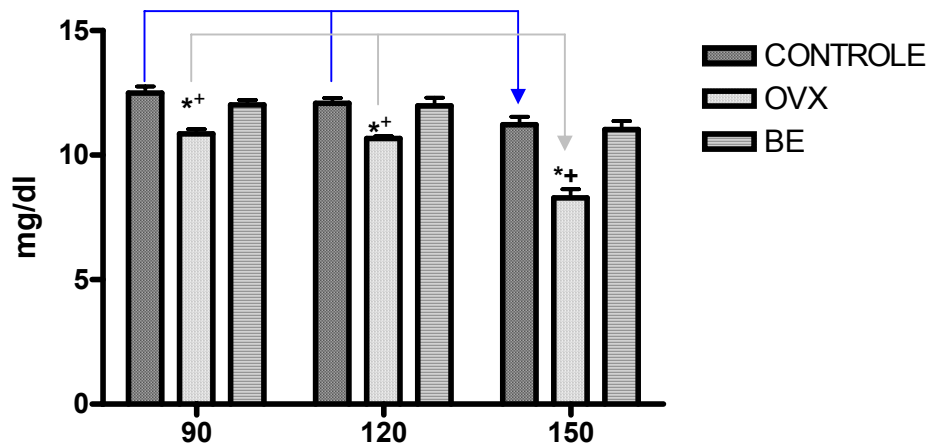
#### 4.2.2 Concentrações séricas de cálcio

Nos machos, não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações séricas de cálcio entre os grupos C, ORQ e ORQ+PT, nos diferentes períodos experimentais estudados. A comparação entre os grupos semelhantes também não apresentou diferenças relevantes. (Figura 18)



**Figura 18. Concentrações séricas de cálcio (mg/dl) em machos após 90, 120, 150 dias de castração. Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM.**

Nas fêmeas, as concentrações séricas de cálcio foram significativamente menores no grupo OVX, em todos os períodos experimentais, quando comparadas aos grupos C e OVX+BE. Ao comparar os grupos semelhantes, foi possível observar diferenças significativas entre os grupos C (90d vs 150d; 120d vs 150d) e OVX (90d vs 150d; 120d vs 150d). O grupo OVX+BE sempre apresentou semelhança com o grupo C. (Figura 19).

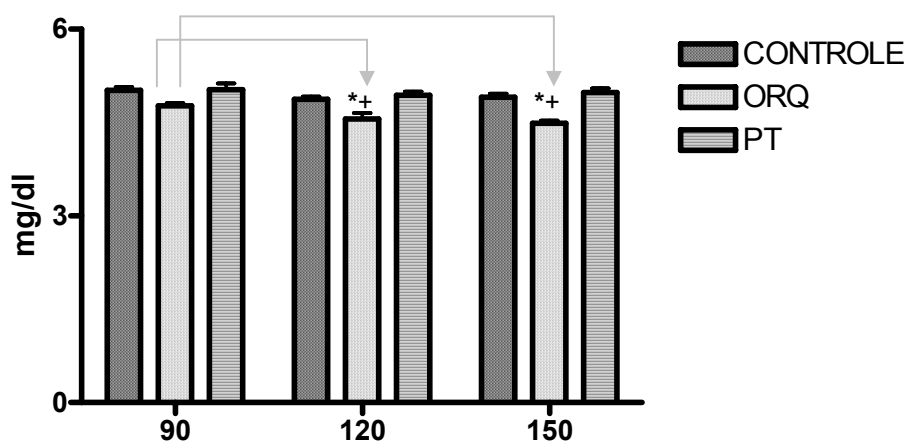


**Figura 19. Concentrações séricas de cálcio (mg/dl) em fêmeas após 90, 120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs OVX, +  $p < 0,05$  OVX vs OVX+BE,  $\rightarrow$   $p < 0,05$  C vs C,  $\rightarrow$   $p < 0,05$  OVX vs OVX.



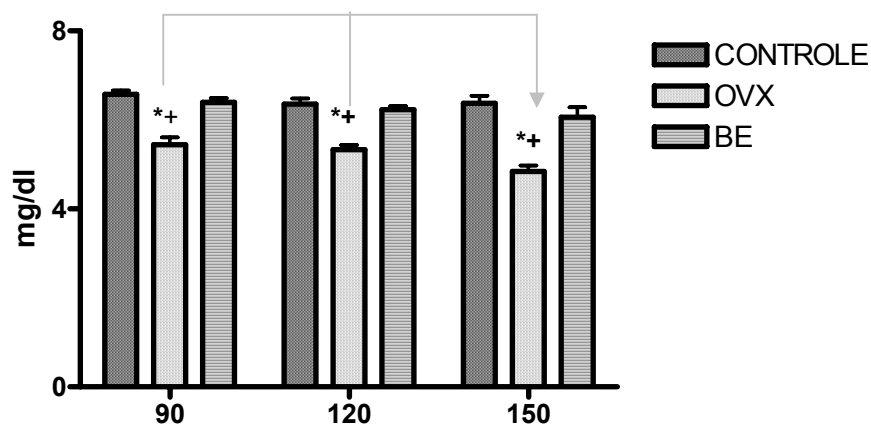
#### 4.2.3 Concentrações séricas de fósforo

As concentrações séricas de fósforo, em machos, apresentaram-se menores ( $p < 0,05$ ) nos grupos ORQ, nos períodos experimentais de 120 e 150 dias. Ao comparar os grupos ORQ, foi possível observar diferenças estatisticamente significativas entre os períodos de 90d vs 150d e 90d vs 120d. (Figura 20).



**Figura 20. Concentrações séricas de fósforo (mg/dl) em machos após 90, 120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs ORQ, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT,  $\rightarrow$   $p < 0,05$  ORQ vs ORQ.

Em fêmeas, as concentrações séricas de fósforo estavam menores nos grupos OVX ( $p < 0,05$ ), em todos os períodos experimentais. Ao comparar os grupos semelhantes, foi possível observar diferenças estatisticamente significativas entre os animais OVX 90d vs 150d e 120d vs 150d. O grupo OVX+BE apresentou semelhança com o grupo C em todos os períodos experimentais. (Figura 21).



**Figura 21. Concentrações séricas de fósforo (mg/dl) em fêmeas após 90, 120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM.

\*  $p < 0,05$  C vs OVX, +  $p < 0,05$  OVX vs OVX+BE,  $\rightarrow$   $p < 0,05$  OVX vs OVX.

#### 4.2.4 Concentrações séricas de fosfatase alcalina

Nos machos, a fosfatase alcalina sérica foi menor nos grupos ORQ, quando comparados com os grupos C e ORQ+PT ( $p < 0,05$ ). A comparação entre os grupos ORQ apresentou diferenças estatisticamente significativas entre todos os períodos (90d vs 150d; 90d vs 120d; 120d vs 150d). (Figura 22)

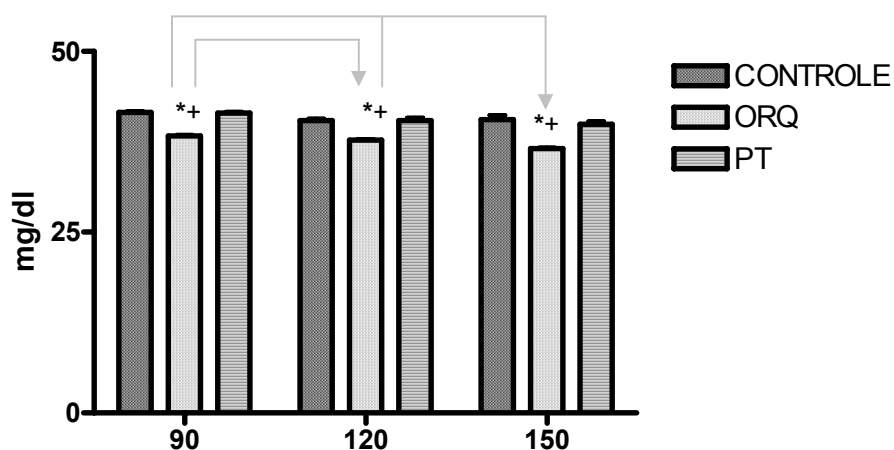
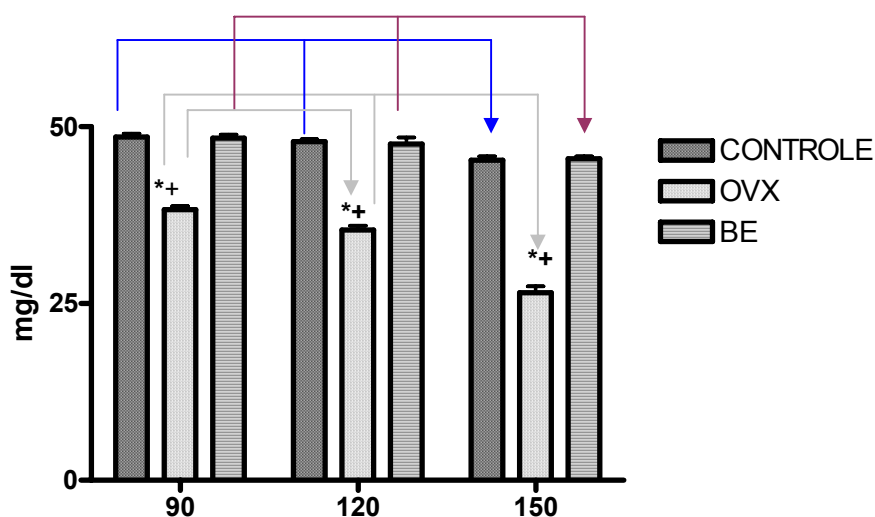


Figura 22. Concentrações séricas de fosfatase alcalina (mg/dl) em machos após 90, 120, 150 dias de castração. Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \* $p < 0,05$  C vs ORQ, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT,  $\rightarrow$   $p < 0,05$  ORQ vs ORQ.

Em fêmeas, os valores de fosfatase alcalina foram menores nas OVX ( $p < 0,05$ ), em todos os períodos experimentais, quando comparados aos grupos C e OVX+BE. A comparação entre os grupos semelhantes mostrou que há diminuição significativa entre os animais dos grupos C (90d vs 150d; 120d vs 150d), OVX (90d vs 150d; 90d vs 120d; 120d vs 150d) e OVX+BE (90d vs 150d; 120d vs 150d), sendo a diminuição melhor evidenciada nos grupos OVX. (Figura 23)

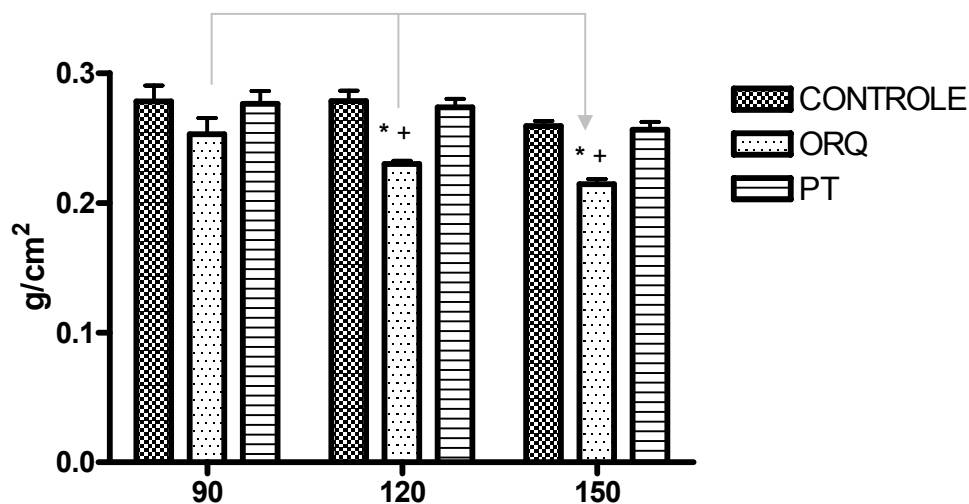


**Figura 23. Concentrações séricas de fosfatase alcalina (mg/dl) em fêmeas após 90,120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs OVX, +  $p < 0,05$  OVX vs OVX+BE,  $\rightarrow$   $p < 0,05$  C vs C,  $\rightarrow$   $p < 0,05$  OVX vs OVX,  $\rightarrow$   $p < 0,05$  OVX+BE vs OVX+BE

### 4.3 DENSITOMETRIA ÓSSEA

#### 4.3.1 Vértebra (L4)

Em machos, foi verificada menor DMO ( $p < 0,05$ ) da vértebra L4 em animais ORQ aos 120 e 150 dias, quando comparados com os grupos C e ORQ+PT. A comparação entre os grupos semelhantes mostrou uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) entre os animais do grupo ORQ 90d vs 150d e 120d vs 150d. (Figuras 24, 25).



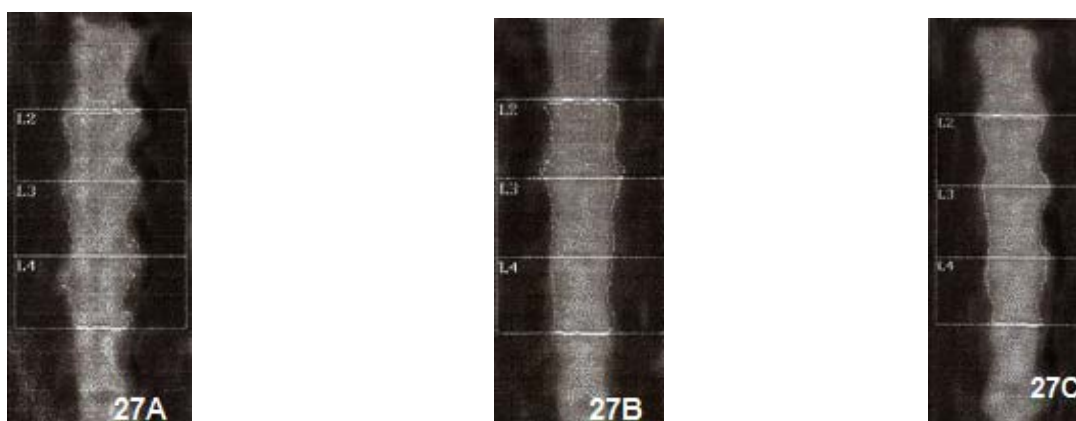
**Figura 24. Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de vértebra (L4) em machos após 90, 120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM.  $p < 0,05$  C vs ORQ, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT,  $\rightarrow p < 0,05$  ORQ vs ORQ.



**Figura 25. Densitometria óssea de coluna em machos 150 dias:** 25A - controle, 25B - orquiectomizados, 25C - orquiectomizados tratados com propionato de testosterona.

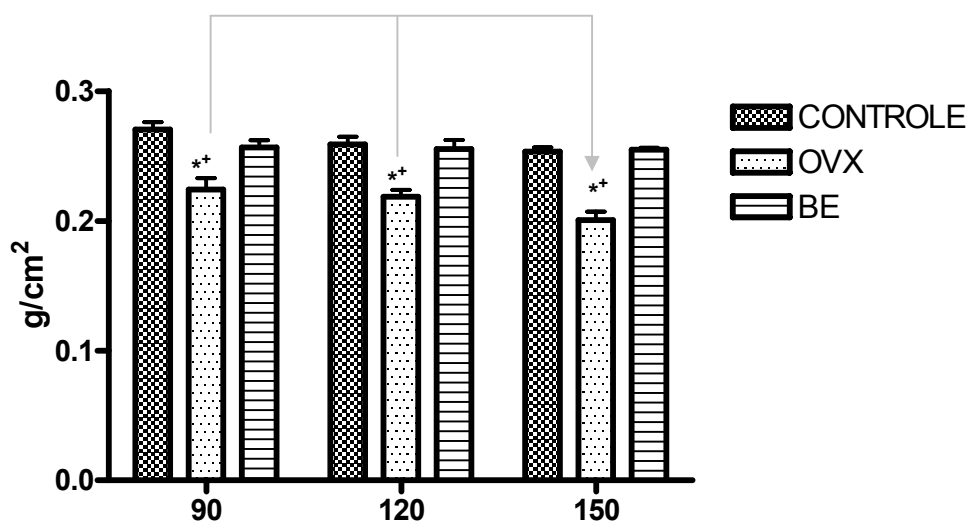


**Figura 26. Densitometria óssea de coluna em machos 120 dias:** 26A - controle, 26B - orquiectomizados, 26C - orquiectomizados tratados com propionato de testosterona.



**Figura 27. Densitometria óssea de coluna em machos 90 dias:** 27A - controle, 27B - orquiectomizados, 27C - orquiectomizados tratados com propionato de testosterona.

Nas fêmeas foi observado que a vértebra L4 das ratas OVX, de todos os períodos experimentais, apresentaram a DMO menor quando comparadas aos grupos C e OVX+BE. A DMO de L4 decresceu em todos os grupos, com o aumento do tempo, mas apenas mostrou uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) entre os animais do grupo OVX 90d vs 150d e 120d vs 150d. (Figuras 28, 29, 30 e 31).



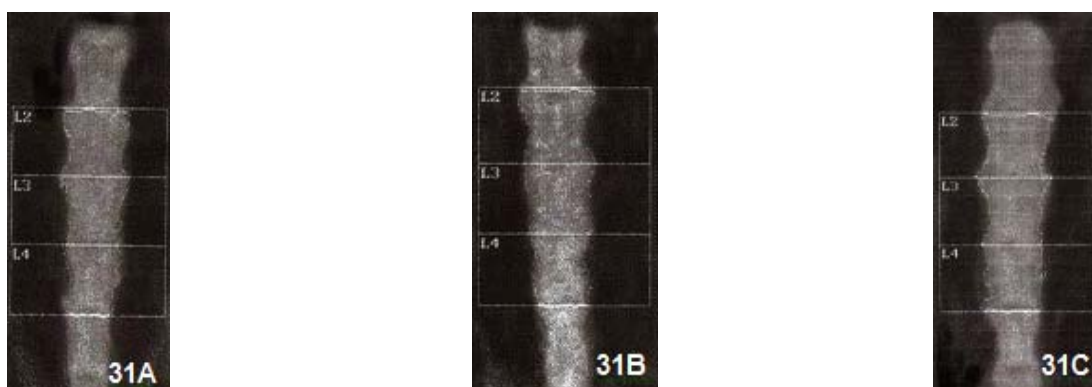
**Figura 28. Densitometria óssea (g/cm<sup>2</sup>) de vértebra (L4) em fêmeas após 90, 120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs OVX, +  $p < 0,05$  OVX vs OVX+BE,  $\rightarrow$   $p < 0,05$  OVX vs OVX.



**Figura 29:** Densitometria óssea de coluna em fêmeas 150 dias: 29A - controle, 29B - ovariectomizadas, 29C - ovariectomizadas tratadas com benzoato de estradiol.



**Figura 30:** Densitometria óssea de coluna em fêmeas 120 dias: 30A - controle, 30B - ovariectomizadas, 30C - ovariectomizadas tratadas com benzoato de estradiol.

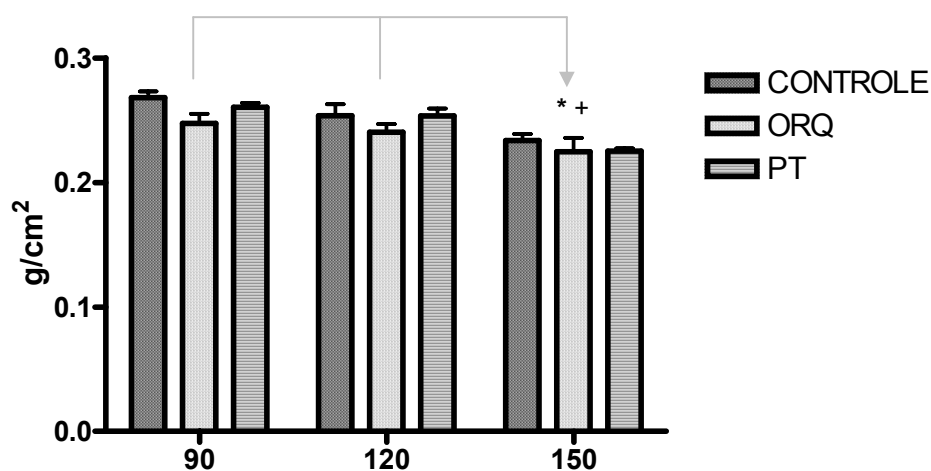


**Figura 31:** Densitometria óssea de coluna em fêmeas 90 dias: 31A - controle, 31B - ovariectomizadas, 31C - ovariectomizadas tratadas com benzoato de estradiol.



### 4.3.2 Fêmur

Em fêmures de machos, apenas no período experimental de 150 dias, foi encontrada redução significativa da DMO no grupo ORQ em relação aos grupos C e ORQ+PT. A comparação entre os grupos semelhantes, nos diferentes períodos experimentais, mostrou uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) entre os animais do grupo ORQ (90 vs 150; 120 vs 150). Os grupos C e ORQ+PT apresentaram padrão densitométrico equivalente aos 90 e 120 dias e uma redução aos 150 dias. (Figuras 32, 33, 34 e 35)



**Figura 32. Densitometria óssea ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de fêmur em machos após 90, 120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs ORQ, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT,  $\longrightarrow$   $p < 0,05$  ORQ vs ORQ.



**Figura 33. Densitometria óssea de fêmur em machos 150 dias:** 33A - controle, 33B - orquiectomizados, 33C - orquiectomizados tratados com propionato de testosterona.

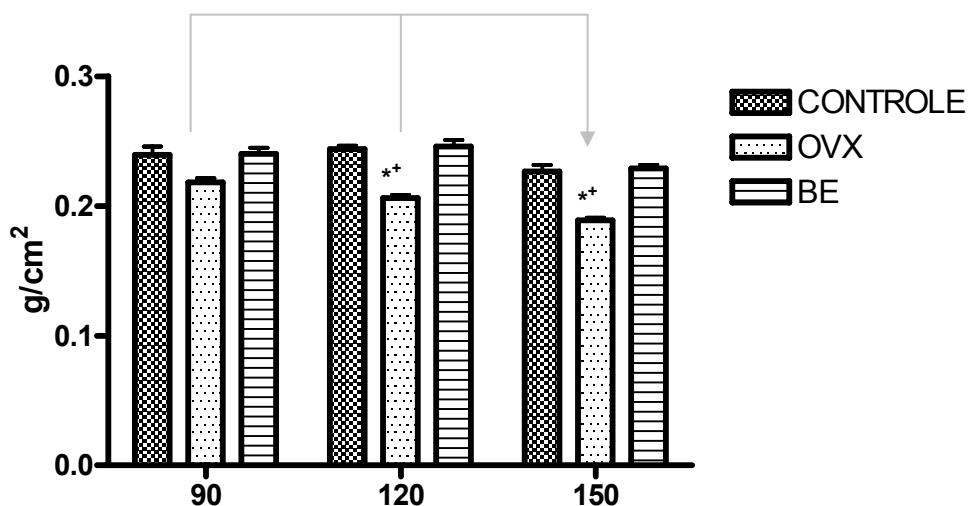


**Figura 34. Densitometria óssea de fêmur em machos 120 dias:** 34A - controle, 34B - orquiectomizados, 34C - orquiectomizados tratados com propionato de testosterona.

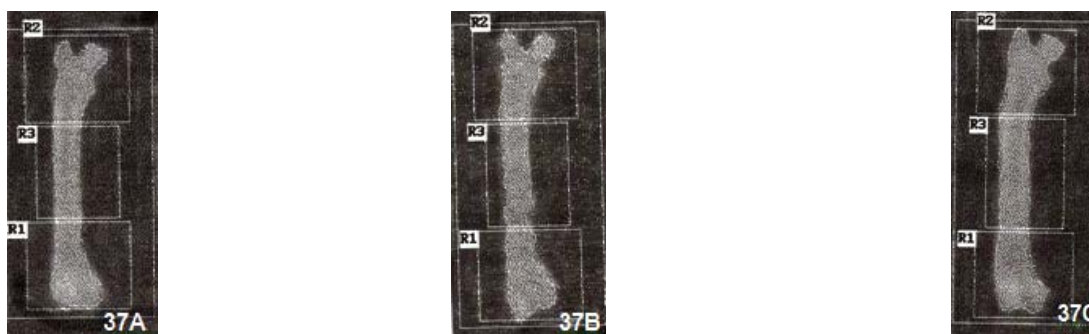


**Figura 35. Densitometria óssea de fêmur em machos 90 dias:** 35A - controle, 35B - orquiectomizados, 35C - orquiectomizados tratados com propionato de testosterona.

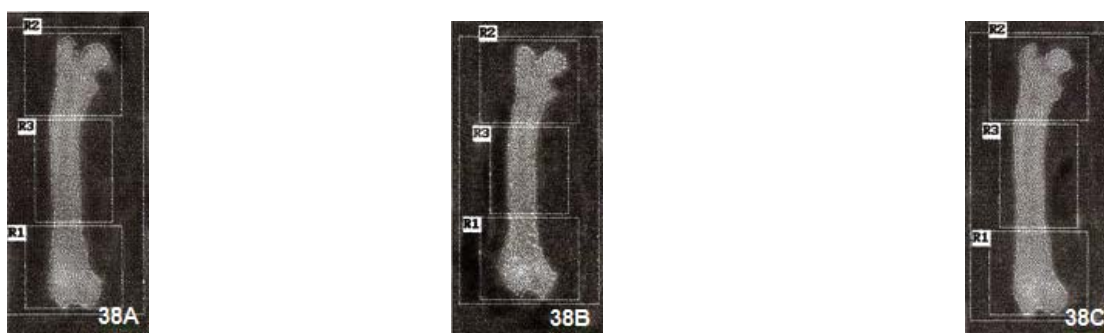
Em fêmures de fêmeas, DMO no grupo OVX foi menor a partir de 120 dias, em relação aos grupos C e OVX+BE. A comparação entre os grupos semelhantes, mostrou diferenças significativas entre os animais OVX de 90d vs 150d e dias 120 vs 150dias. Os grupos C e OVX+BE apresentaram padrão densitométrico equivalente aos 90 e 120 dias e uma redução aos 150 dias (Figuras 36, 37, 38 e 39).



**Figura 36. Densitometria óssea (g/cm<sup>2</sup>) de fêmur em fêmeas após 90, 120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM.  
\* p<0,05 C vs OVX, + p<0,05 OVX vs OVX+BE,  $\longrightarrow$  p<0,05 OVX vs OVX.



**Figura 37. Densitometria óssea de fêmur em fêmeas 150 dias:** 37A - controle, 37B - ovariectomizadas, 37C - ovariectomizadas tratadas com benzoato de estradiol.



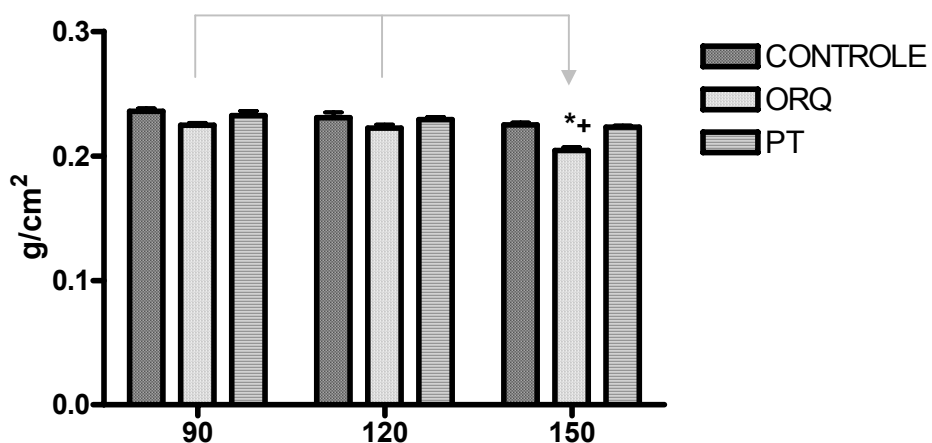
**Figura 38: Densitometria óssea de fêmur em fêmeas 120 dias:** 38A - controle, 38B - ovariectomizadas, 38C - ovariectomizadas tratadas com benzoato de estradiol.



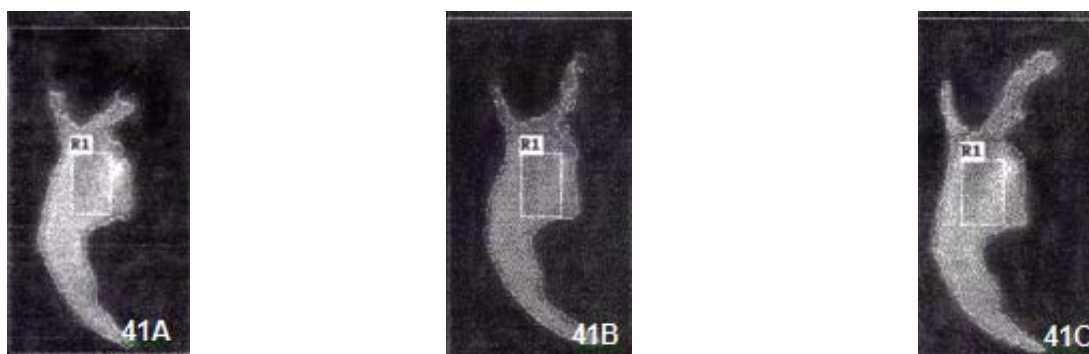
**Figura 39: Densitometria óssea de fêmur em fêmeas 90 dias:** 39A - controle, 39B - ovariectomizadas, 39C - ovariectomizadas tratadas com benzoato de estradiol.

### 4.3.3. Mandíbula

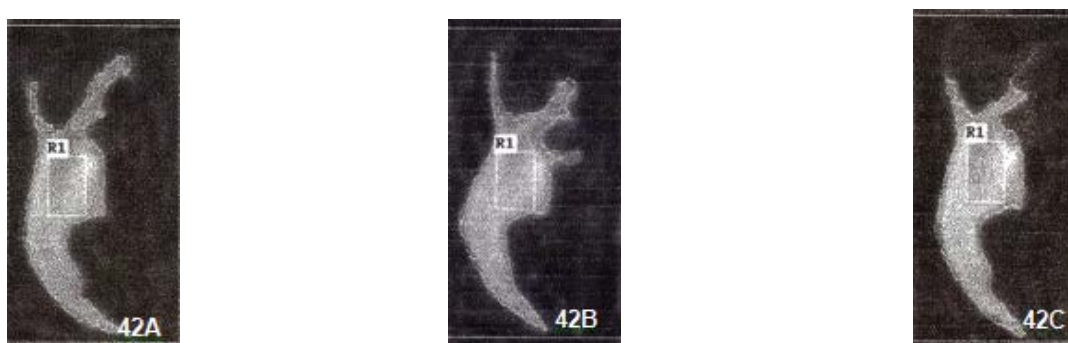
A DMO de mandíbulas de machos foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) no grupo ORQ, apenas aos 150 dias, quando comparado aos grupos C e ORQ+PT. A comparação entre os grupos semelhantes, mostra uma tendência a diminuição da DMO em todos os grupos, com o aumento do período experimental. Mas, essa diminuição só é significativa entre os grupos ORQ nos períodos: 90 vs 150 d e 120 vs 150 dias (Figuras 40, 41, 42 e 43)



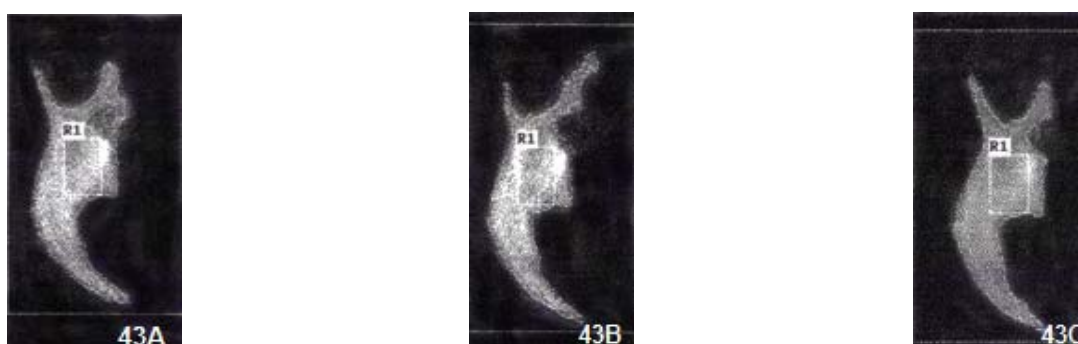
**Figura 40. Densitometria óssea (g/cm<sup>2</sup>) de mandíbula em machos após 90, 120, 150 dias de castração.** Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM. \*  $p < 0,05$  C vs ORQ, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT,  $\rightarrow$   $p < 0,05$  ORQ vs ORQ.



**Figura 41. Densitometria óssea de mandíbula em machos 150 dias:** 41A - controle, 41B - orquiectomizados, 41C - orquiectomizados tratados com propionato de testosterona.



**Figura 42. Densitometria óssea de mandíbula em machos 120 dias:** 42A - controle, 42B - orquiectomizados, 42C - orquiectomizados tratados com propionato de testosterona.



**Figura 43. Densitometria óssea de mandíbula em machos 90 dias:** 43A - controle, 43B - orquiectomizados, 43C - orquiectomizados tratados com propionato de testosterona.

Em fêmeas, a DMO não apresentou diferenças entre os grupos, podendo ser observada uma diminuição (não significativa) no período de 150 dias, comparado aos períodos de 90 e 120 dias. (Figuras 44, 45, 46 e 47).

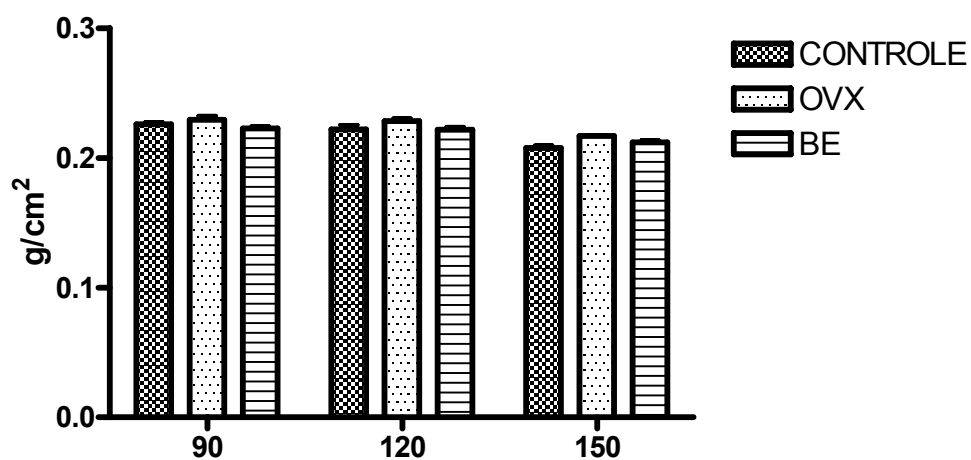
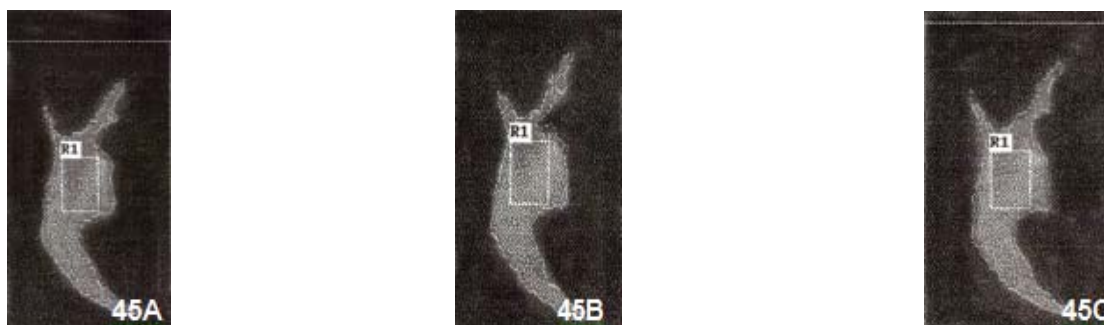
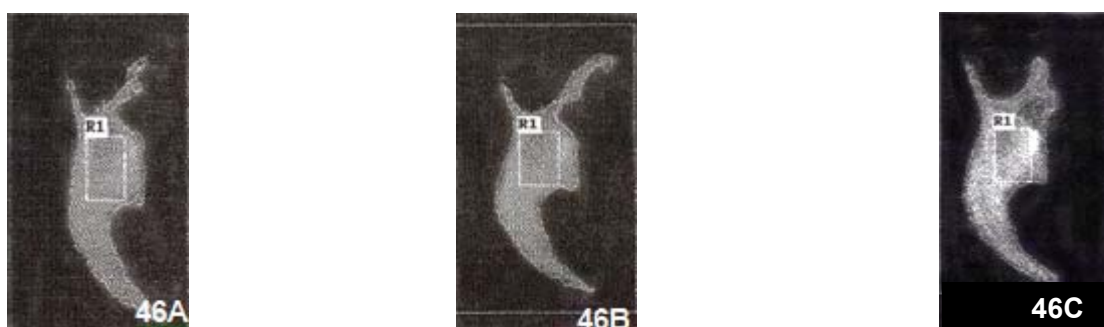


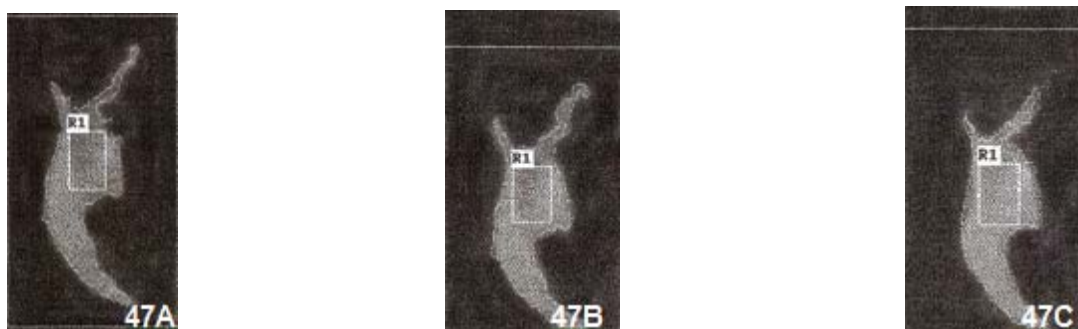
Figura 44. Densitometria óssea (g/cm<sup>2</sup>) de mandíbula em fêmeas após 90, 120, 150 dias de castração. Os valores são expressos por média  $\pm$  EPM.



**Figura 45:** Densitometria óssea de mandíbula em fêmeas 150 dias: 45A - controle, 45B - ovariectomizadas, 45C - ovariectomizadas tratadas com benzoato de estradiol.



**Figura 46:** Densitometria óssea de mandíbula em fêmeas 120 dias: 46A - controle, 46B - ovariectomizadas, 46C - ovariectomizadas tratadas com benzoato de estradiol.



**Figura 47:** Densitometria óssea de mandíbula em fêmeas 90 dias: 47A - controle, 47B - ovariectomizadas, 47C - ovariectomizadas tratadas com benzoato de estradiol.



## 4.4 ENSAIO BIOMECÂNICO

### 4.4.1 Ensaio biomecânico de compressão em vértebra (L4)

No ensaio de compressão, foram avaliados os parâmetros força máxima e deslocamento máximo.

Em machos, a avaliação da força máxima demonstrou, em todos os períodos, que a fratura do corpo vertebral L4, dos grupos C e ORQ+PT, ocorreu com o uso de cargas maiores do que aquelas utilizadas nos grupos ORQ. O deslocamento máximo da célula de carga até a fratura do corpo vertebral, também foi maior em animais dos grupos C e ORQ+PT. A fratura do corpo vertebral de animais ORQ ocorreu com um deslocamento menor. A diferença foi significativa ( $p < 0,05$ ) nos períodos experimentais de 120 e 150 dias, para os parâmetros avaliados.

Foi observado em todos os parâmetros que os grupos C e ORQ+PT mantiveram similaridade de resposta e que quanto mais longo o período experimental, menores são os valores obtidos para os parâmetros avaliados. (Tabela 1)

**Tabela 1.** Parâmetros biomecânicos de compressão em vértebra (L4) de machos.

Período experimental ♂	Grupos	Força máxima (N)	Deslocamento máximo (mm)
90 dias	C	215.0 ± 0.004	1.016 ± 0.002
	ORQ	186.2 ± 0.001	0.998 ± 0.001
	ORQ+PT	213.0 ± 0.03	1.014 ± 0.003
120 dias	C	197.0 ± 0.003	1.009 ± 0.001
	ORQ	141.0 ± 0.002* <sup>+</sup>	0.821 ± 0.002* <sup>+</sup>
	ORQ+PT	195.4 ± 0.002	1.002 ± 0.002
150 dias	C	164.2 ± 0.002	0.940 ± 0.002
	ORQ	106.6 ± 0.003* <sup>+</sup>	0.688 ± 0.001* <sup>+</sup>
	ORQ+PT	163.8 ± 0.002	0.944 ± 0.001

C= controle, ORQ = orquiectomizados, ORQ+PT = orquiectomizados tratados com Propionato de testosterona. N: Newton, mm: Milímetros. Os resultados são expressos por média ± EPM. \*  $p < 0,05$  C vs ORQ, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT.

Nas fêmeas, a avaliação da força máxima também demonstrou, em todos os períodos, que a fratura do corpo vertebral L4 dos grupos C e OVX+BE ocorreu com o uso de cargas maiores do que aquelas utilizadas em animais do grupo OVX. O deslocamento máximo da célula de carga até a fratura do corpo vertebral foi maior em animais dos grupos C e OVX+BE. A fratura do corpo vertebral de animais OVX ocorreu com um deslocamento menor. A diferença foi significativa ( $p < 0,05$ ) em todos os períodos experimentais, para os parâmetros avaliados.

Foi observado em todos os parâmetros que os grupos C e OVX+BE mantiveram similaridade de resposta e que quanto mais longo o período experimental, menores são os valores obtidos para os parâmetros avaliados. (Tabela 2)

**Tabela 2.** Parâmetros biomecânicos de compressão em vértebra (L4) de fêmeas.

Período experimental ♀	Grupos	Força máxima (N)	Deslocamento máximo (mm)
90 dias	C	171.8 ± 0.003	0.846 ± 0.001
	OVX	106.7 ± 0.001* <sup>+</sup>	0.615 ± 0.001* <sup>+</sup>
	OVX+BE	173.4 ± 0.001	0.851 ± 0.001
120 dias	C	155.7 ± 0.001	0.748 ± 0.001
	OVX	91.3 ± 0.002* <sup>+</sup>	0.544 ± 0.003* <sup>+</sup>
	OVX+BE	153.2 ± 0.001	0.0753 ± 0.001
150 dias	C	138.6 ± 0.001	0.694 ± 0.002
	OVX	88.81 ± 0.001* <sup>+</sup>	0.496 ± 0.003* <sup>+</sup>
	OVX+BE	137.7 ± 0.002	0.697 ± 0.001

C= controle, OVX = ovariectomizadas, OVX+PT = ovariectomizadas tratadas com Benzoato de Estradiol. N: Newton, mm: Milímetros. Os resultados são expressos por média ± EPM. \*  $p < 0,05$  C vs OVX, +  $p < 0,05$  OVX vs OVX+BE.

#### 4.4.2 Ensaio biomecânico de flexão de três pontos em fêmur

No ensaio de flexão de três pontos, foram avaliados os parâmetros força máxima, resiliência e tenacidade.

Em machos foi verificado através da avaliação da força máxima, em todos os períodos, que a fratura de fêmures de animais dos grupos C e ORQ+PT ocorreu com o uso de cargas maiores do que as utilizadas em animais ORQ. Em relação à resiliência e tenacidade, também houve uma tendência a redução no grupo ORQ. A diferença só foi significativa ( $p < 0,05$ ) aos 150 dias, para todos os parâmetros avaliados.

Os grupos C e ORQ+PT mantiveram similaridade de resposta, e quanto mais longo o período experimental, menores foram os valores obtidos. (Tabela 3)

**Tabela 3.** Parâmetros biomecânicos de flexão de fêmur de machos.

Período experimental	Grupos	Força máxima (N)	Resiliência (J)	Tenacidade (MPa)
90 dias	C	168,5 ± 0.33	0.0691 ± 0.004	0.0162 ± 0.009
	ORQ	154,4 ± 6.51	0.0560 ± 0.005	0.0146 ± 0.002
	ORQ+PT	168,1 ± 0.33	0.0672 ± 0.004	0.0156 ± 0.001
120 dias	C	166.2 ± 1.24	0.0609 ± 0.006	0.0151 ± 0.001
	ORQ	142.3 ± 6.87	0.0522 ± 0.003	0.0125 ± 0.003
	ORQ+PT	163.4 ± 1.54	0.0600 ± 0.001	0.0136 ± 0.005
150 dias	C	130.2 ± 9.01	0.0542 ± 0.004	0.0111 ± 0.002
	ORQ	101.5 ± 2.22* <sup>+</sup>	0.0375 ± 0.001* <sup>+</sup>	0.0086 ± 0.001* <sup>+</sup>
	ORQ+PT	127.3 ± 5.60	0.0556 ± 0.001	0.0107 ± 0.002

C= controle, ORQ = orquiectomizados, ORQ+PT = orquiectomizados tratados com Propionato de testosterona. .J: Joule. N: Newton, Mpa: Megapascal Os resultados são expressos por média ± EPM. \*  $p < 0,05$  C vs ORQ, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT.

Em fêmeas, também foi verificado, através da avaliação da força máxima, que a fratura de fêmures de animais dos grupos C e OVX+BE ocorreu com o uso de cargas maiores do que as utilizadas em animais OVX, em todos os períodos. Em relação à resiliência e tenacidade, houve uma tendência a redução destes parâmetros nos grupos OVX quando comparados aos demais. A diferença foi significativa ( $p < 0,05$ ) a partir dos 120 dias, para todos os parâmetros avaliados.

Foi observado em todos os parâmetros que os grupos C e OVX+BE mantiveram similaridade de resposta, e quanto mais longo o período experimental, menores são os valores obtidos. (Tabela 4)

**Tabela 4.** Parâmetros biomecânicos de flexão de fêmur de fêmeas.

Período experimental	Grupos	Força máxima (N)	Resiliência (J)	Tenacidade (MPa)
90 dias	C	125.4 ± 2.94	0.0491 ± 0.002	0.0098 ± 0.001
	OVX	119.8 ± 3.75	0.0428 ± 0.002	0.0087 ± 0.002
	OVX+BE	126.2 ± 2.47	0.0489 ± 0.001	0.0101 ± 0.001
120 dias	C	106.8 ± 2.11	0.0437 ± 0.001	0.0091 ± 0.001
	OVX	92.4 ± 5.91 <sup>+</sup>	0.0340 ± 0.002 <sup>+</sup>	0.0069 ± 0.001 <sup>+</sup>
	OVX+BE	104.9 ± 4.27	0.0439 ± 0.001	0.0094 ± 0.002
150 dias	C	95.9 ± 6.26	0.0394 ± 0.006	0.0082 ± 0.002
	OVX	79.4 ± 2.11 <sup>+</sup>	0.0281 ± 0.003 <sup>+</sup>	0.0057 ± 0.003 <sup>+</sup>
	OVX+BE	93.7 ± 4.75	0.0388 ± 0.002	0.0083 ± 0.001

C= controle, OVX = ovariectomizadas, OVX+PT = ovariectomizadas tratadas com Benzoato de Estradiol. .J: Joule. N: Newton, Mpa: Megapascal Os resultados são expressos por média ± EPM. \*  $p < 0,05$  C vs OVX, +  $p < 0,05$  OVX vs OVX+BE.

#### 4.4.3 Ensaio biomecânico de flexão de três pontos em mandíbula

No ensaio de flexão de três pontos, foram avaliados os parâmetros força máxima, resiliência e tenacidade.

A avaliação biomecânica das mandíbulas de machos apresentou redução estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) da força máxima, resiliência e tenacidade no grupo ORQ quando comparado aos grupos C e ORQ+PT, apenas no período de 150 dias.

Foi observado em todos os parâmetros que os grupos C e ORQ+PT mantiveram similaridade de resposta e que quanto mais longo o período experimental, menores são os valores obtidos para os parâmetros avaliados. (Tabela 5)

**Tabela 5.** Parâmetros biomecânicos de flexão da mandíbula de machos.

Período experimental ♂	Grupos	Força máxima (N)	Resiliência (J)	Tenacidade (MPa)
90 dias	C	252.8 ± 0.4	0.0811 ± 0.003	0.0202 ± 0.001
	ORQ	246.0 ± 0.15	0.0793 ± 0.008	0.0191 ± 0.003
	ORQ+PT	249.8 ± 0.1	0.0817 ± 0.005	0.0200 ± 0.001
120 dias	C	248.8 ± 0.54	0.0761 ± 0.005	0.0197 ± 0.001
	ORQ	239.8 ± 0.85	0.0750 ± 0.003	0.0189 ± 0.009
	ORQ+PT	245.2 ± 0.97	0.0758 ± 0.003	0.0195 ± 0.007
150 dias	C	235.4 ± 0.54	0.0731 ± 0.002	0.0168 ± 0.002
	ORQ	194.4 ± 0.5 <sup>+</sup>	0.0630 ± 0.006 <sup>+</sup> *	0.0111 ± 0.001 <sup>+</sup> *
	ORQ+PT	230.4 ± 0.97	0.0728 ± 0.003	0.0180 ± 0.002

C= controle, ORQ = orquiectomizados, ORQ+PT = orquiectomizados tratados com Propionato de testosterona. J: Joule. N: Newton, Mpa: Megapascal. Os resultados são expressos por média ± EPM. \*  $p < 0,05$  C vs ORQ, +  $p < 0,05$  ORQ vs ORQ+PT.

Nas fêmeas, a avaliação biomecânica das mandíbulas não apresentou diferença significativa nos parâmetros estudados (carga máxima, tenacidade e resiliência). Os grupos C e OVX+BE mantiveram similaridade de resposta, e quanto mais longo o período experimental, menores foram os valores obtidos para os parâmetros avaliados. Nos grupos OVX houve uma tendência ao aumento dos valores para os parâmetros avaliados. (Tabela 6)

**Tabela 6.** Parâmetros biomecânicos de flexão da mandíbula de fêmeas.

Período experimental ♀	Grupos	Força máxima (N)	Resiliência (J)	Tenacidade (MPa)
90 dias	C	201.7 ± 0.01	0.0801 ± 0.004	0.0188 ± 0.002
	OVX	205.3 ± 0.003	0.0803 ± 0.001	0.0192 ± 0.002
	OVX+BE	202.1 ± 0.008	0.0798 ± 0.002	0.0187 ± 0.001
120 dias	C	175.2 ± 0.005	0.0750 ± 0.002	0.0169 ± 0.001
	OVX	177.9 ± 0.003	0.0755 ± 0.001	0.0173 ± 0.001
	OVX+BE	176.0 ± 0.004	0.0751 ± 0.001	0.0170 ± 0.003
150 dias	C	149.0 ± 0.002	0.0626 ± 0.001	0.0120 ± 0.001
	OVX	151.9 ± 0.002	0.0631 ± 0.001	0.0123 ± 0.001
	OVX+BE	149.7 ± 0.003	0.0627 ± 0.001	0.0119 ± 0.001

C= controle, OVX = ovariectomizadas, OVX+PT = ovariectomizadas tratadas com Benzoato de Estradiol. J: Joule. N: Newton, Mpa: Megapascal Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs OVX, + p<0,05 OVX vs OVX+BE.

## 4.5 PROPRIEDADES FÍSICAS ÓSSEAS

### 4.5.1 Vértebra (L4)

A Tabela 7 (partes I e II) apresenta os valores das propriedades físicas encontradas em machos. Os resultados da comparação entre os grupos de cada período não foram estatisticamente significativos. Mesmo assim, pode-se observar em todos os períodos experimentais, que os grupos ORQ apresentam valores menores que C e ORQ+PT. Exceto em relação aos percentuais de água e material orgânico, que desde o período de 90 dias se apresentam maiores no grupo ORQ.

**Tabela 7.** Parâmetros físicos da vértebra (L4) de machos (parte I).

Períodos experimentais ♂	Grupos	Peso imerso (g)	Peso úmido (g)	Peso seco (g)	Peso cinzas (g)	Volume Ósseo (cm <sup>3</sup> )
90 dias	C	0.085 ± 0.010	0.112 ± 0.029	0.066 ± 0.017	0.043 ± 0.012	0.026 ± 0.020
	ORQ	0.075 ± 0.003	0.109 ± 0.008	0.053 ± 0.008	0.033 ± 0.004	0.034 ± 0.008
	ORQ+PT	0.080 ± 0.002	0.111 ± 0.004	0.062 ± 0.004	0.042 ± 0.003	0.031 ± 0.002
120 dias	C	0.077 ± 0.013	0.101 ± 0.016	0.056 ± 0.013	0.034 ± 0.009	0.023 ± 0.013
	ORQ	0.074 ± 0.001	0.085 ± 0.004	0.044 ± 0.003	0.027 ± 0.006	0.010 ± 0.002
	ORQ+PT	0.077 ± 0.002	0.098 ± 0.004	0.053 ± 0.002	0.031 ± 0.001	0.021 ± 0.002
150 dias	C	0.072 ± 0.006	0.098 ± 0.017	0.054 ± 0.017	0.030 ± 0.016	0.025 ± 0.011
	ORQ	0.070 ± 0.003	0.084 ± 0.001	0.040 ± 0.006	0.025 ± 0.004	0.014 ± 0.004
	ORQ+PT	0.074 ± 0.001	0.094 ± 0.003	0.050 ± 0.001	0.035 ± 0.001	0.019 ± 0.001

C= controle, ORQ = orquiectomizados, ORQ+PT = orquiectomizados tratados com Propionato de testosterona. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs ORQ, # p< 0,05 C vs ORQ+PT, + p<0,05 ORQ vs ORQ+PT.

**Tabela 7.** Parâmetros físicos da vértebra (L4) de machos (parte II).

Períodos experimentais ♂	Grupos	Densidade óssea (g/cm <sup>3</sup> )	Densidade mineral (g/cm <sup>3</sup> )	% Água	% Material orgânico	% Material mineral
90 dias	C	6.987 ± 1.926	2.768 ± 1.956	40.132 ± 5.763	20.592 ± 1.608	39.274 ± 1.230
	ORQ	4.092 ± 0.496	2.026 ± 0.213	48.683 ± 2.597	18.572 ± 0.759	30.891 ± 1.876
	ORQ+PT	3.745 ± 0.212	1.392 ± 0.168	44.006 ± 4.33	17.997 ± 0.517	37.957 ± 1.461
120 dias	C	6.523 ± 4.766	2.182 ± 1.560	44.493 ± 1.924	21.840 ± 3.014	33.660 ± 1.285
	ORQ	4.021 ± 1.673	3.395 ± 0.793	47.214 ± 2.589	21.893 ± 0.493	31.539 ± 0.794
	ORQ+PT	4.994 ± 0.756	1.671 ± 0.373	46.083 ± 2.248	21.631 ± 0.539	32.315 ± 1.720
150 dias	C	4.212 ± 1.069	1.524 ± 1.031	43.034 ± 5.897	23.847 ± 2.733	33.117 ± 3.256
	ORQ	3.350 ± 0.194	1.105 ± 0.148	52.084 ± 0.766	17.892 ± 1.297	30.201 ± 4.907
	ORQ+PT	5.540 ± 0.233	2.229 ± 0.125	46.957 ± 1.091	15.722 ± 1.488	37.299 ± 1.534

C= controle, ORQ = orquiectomizados, ORQ+PT = orquiectomizados tratados com Propionato de testosterona. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs ORQ, # p< 0,05 C vs ORQ+PT, + p<0,05 ORQ vs ORQ+PT.

Em fêmeas, a comparação entre os grupos não foi significativa, nos períodos estudados. Mesmo assim, pode-se observar que os grupos OVX apresentam valores menores que C e OVX+BE. Exceto, em relação aos percentuais de água e material orgânico (Tabela 8, partes I e II).

**Tabela 8.** Parâmetros físicos da vértebra (L4) de fêmeas (parte I)

Períodos experimentais ♀	Grupos	Peso imerso (g)	Peso úmido (g)	Peso seco (g)	Peso cinzas (g)	Volume Ósseo (cm <sup>3</sup> )
90 dias	C	0.036 ± 0.166	0.068 ± 0.013	0.042 ± 0.012	0.026 ± 0.010	0.035 ± 0.164
	OVX	0.027 ± 0.001	0.081 ± 0.004	0.050 ± 0.015	0.017 ± 0.004	0.027 ± 0.001
	OVX+BE	0.032 ± 0.026	0.082 ± 0.035	0.056 ± 0.003	0.031 ± 0.004	0.049 ± 0.003
120 dias	C	0.034 ± 0.008	0.095 ± 0.008	0.063 ± 0.008	0.021 ± 0.005	0.061 ± 0.012
	OVX	0.025 ± 0.002	0.063 ± 0.002	0.057 ± 0.005	0.016 ± 0.003	0.038 ± 0.003
	OVX+BE	0.031 ± 0.001	0.076 ± 0.005	0.048 ± 0.001	0.015 ± 0.001	0.048 ± 0.001
150 dias	C	0.032 ± 0.011	0.070 ± 0.018	0.045 ± 0.011	0.030 ± 0.016	0.036 ± 0.020
	OVX	0.022 ± 0.002	0.061 ± 0.002	0.037 ± 0.001	0.020 ± 0.004	0.038 ± 0.003
	OVX+BE	0.028 ± 0.002	0.079 ± 0.004	0.051 ± 0.003	0.023 ± 0.004	0.051 ± 0.005

C= controle, OVX = ovariectomizadas, OVX+BE = ovariectomizadas tratadas com Benzoato de Estradiol. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs OVX, # p< 0,05 C vs OVX+BE, + p<0,05 OVX vs OVX+BE.

**Tabela 8.** Parâmetros físicos da vértebra (L4) de fêmeas (parte II).

Períodos experimentais ♀	Grupos	Densidade óssea (g/cm <sup>3</sup> )	Densidade mineral (g/cm <sup>3</sup> )	% Água	% Material orgânico	% Material mineral
90 dias	C	2.195 ± 2.557	1.310 ± 0.024	38.669 ± 1.159	20.110 ± 2.896	41.220 ± 2.274
	OVX	1.526 ± 0.029	0.337 ± 0.026	37.521 ± 1.926	40.211 ± 1.401	20.961 ± 1.245
	OVX+BE	1.683 ± 0.090	0.605 ± 0.07	30.861 ± 4.845	31.291 ± 2.771	38.236 ± 4.549
120 dias	C	1.600 ± 0.304	0.357 ± 0.078	33.007 ± 5.630	44.248 ± 5.395	22.743 ± 5.848
	OVX	1.762 ± 0.136	0.465 ± 0.042	42.655 ± 1.421	40.679 ± 1.355	26.2203 ± 0.694
	OVX+BE	1.590 ± 0.039	0.295 ± 0.029	35.778 ± 1.573	45.2538 ± 1.004	19.775 ± 1.531
150 dias	C	2.144 ± 0.063	1.079 ± 0.771	33.765 ± 1.877	33.676 ± 1.960	30.708 ± 3.070
	OVX	1.647 ± 0.130	0.527 ± 0.108	39.331 ± 0.521	28.593 ± 5.448	32.739 ± 5.945
	OVX+BE	1.617 ± 0.132	0.464 ± 0.052	36.154 ± 1.847	34.364 ± 2.786	28.961 ± 1.453

C= controle, OVX = ovariectomizadas, OVX+BE = ovariectomizadas tratadas com Benzoato de Estradiol. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs OVX, # p< 0,05 C vs OVX+BE, + p<0,05 OVX vs OVX+BE.



#### 4.5.2 Fêmur

Em machos, as propriedades físicas avaliadas mostraram uma tendência a redução nos grupos ORQ, em relação aos C e ORQ+PT. Os animais dos grupos ORQ apenas apresentaram resultados maiores em relação aos percentuais de água e de material orgânico. Apesar disso, nenhuma diferença foi estatisticamente significativa. Os grupos ORQ+PT foram semelhantes aos C. (Tabela 9, partes I e II)

**Tabela 9.** Parâmetros físicos do fêmur de machos (parte I)

Períodos experimentais ♂	Grupos	Peso imerso (g)	Peso úmido (g)	Peso seco (g)	Peso cinzas (g)	Volume Ósseo (cm <sup>3</sup> )
90 dias	C	0.424 ± 0.038	1.170 ± 0.101	0.680 ± 0.082	0.463 ± 0.057	0.746 ± 0.084
	ORQ	0.387 ± 0.009	1.091 ± 0.017	0.623 ± 0.006	0.424 ± 0.007	0.704 ± 0.007
	ORQ+PT	0.418 ± 0.009	1.160 ± 0.013	0.673 ± 0.014	0.474 ± 0.010	0.742 ± 0.004
120 dias	C	0.419 ± 0.033	1.143 ± 0.141	0.663 ± 0.057	0.458 ± 0.036	0.724 ± 0.114
	ORQ	0.367 ± 0.032	1.079 ± 0.043	0.618 ± 0.033	0.420 ± 0.023	0.711 ± 0.018
	ORQ+PT	0.418 ± 0.010	1.139 ± 0.011	0.662 ± 0.017	0.459 ± 0.016	0.721 ± 0.014
150 dias	C	0.394 ± 0.037	1.052 ± 0.126	0.604 ± 0.045	0.432 ± 0.033	0.658 ± 0.112
	ORQ	0.367 ± 0.024	1.001 ± 0.003	0.557 ± 0.02	0.381 ± 0.010	0.633 ± 0.035
	ORQ+PT	0.391 ± 0.031	1.051 ± 0.102	0.611 ± 0.04	0.423 ± 0.03	0.659 ± 0.071

C= controle, ORQ = orquiectomizados, ORQ+PT = orquiectomizados tratados com Propionato de testosterona. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs ORQ, # p< 0,05 C vs ORQ+PT, + p<0,05 ORQ vs ORQ+PT.

**Tabela 9.** Parâmetros físicos do fêmur de machos (parte II).

Períodos experimentais ♂	Grupos	Densidade óssea (g/cm <sup>3</sup> )	Densidade mineral (g/cm <sup>3</sup> )	% Água	% Material orgânico	% Material mineral
90 dias	C	1.573 ± 0.068	0.627 ± 0.110	41.534 ± 8.525	18.666 ± 2.750	39.799 ± 6.089
	ORQ	1.549 ± 0.009	0.603 ± 0.017	42.724 ± 1.597	18.288 ± 0.316	38.880 ± 1.301
	ORQ+PT	1.595 ± 0.010	0.644 ± 0.010	41.835 ± 0.648	17.911 ± 0.194	40.231 ± 0.458
120 dias	C	1.582 ± 0.053	0.636 ± 0.100	41.953 ± 7.791	17.889 ± 2.617	40.156 ± 5.230
	ORQ	1.519 ± 0.027	0.592 ± 0.026	42.674 ± 1.479	18.410 ± 0.372	38.902 ± 1.106
	ORQ+PT	1.582 ± 0.019	0.634 ± 0.022	41.921 ± 1.168	17.841 ± 0.234	40.2368 ± 0.975
150 dias	C	1.613 ± 0.119	0.669 ± 0.106	42.158 ± 4.956	16.494 ± 1.225	41.346 ± 3.809
	ORQ	1.583 ± 0.064	0.603 ± 0.380	44.370 ± 0.944	17.524 ± 0.753	38.105 ± 0.893
	ORQ+PT	1.610 ± 0.024	0.646 ± 0.035	42.864 ± 1.833	17.009 ± 0.328	40.087 ± 1.554

C= controle, ORQ = orquiectomizados, ORQ+PT = orquiectomizados tratados com Propionato de testosterona. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs ORQ, # p< 0,05 C vs ORQ+PT, + p<0,05 ORQ vs ORQ+PT.

Em fêmeas, houve uma tendência à redução dos valores nos grupos OVX, em relação aos C e OVX+BE. Porém, nenhuma diferença foi estatisticamente significativa. Os animais dos grupos OVX apenas apresentaram resultados maiores em relação aos percentuais de água e de material orgânico. Apesar disso, nenhuma diferença foi estatisticamente significativa. Os grupos OVX+BE foram semelhantes aos C. (Tabela 10, partes I e II)

**Tabela 10.** Parâmetros físicos do fêmur de fêmeas (parte I)

Períodos experimentais	Grupos	Peso imerso (g)	Peso úmido (g)	Peso seco (g)	Peso cinzas (g)	Volume Ósseo (cm <sup>3</sup> )
90 dias	C	0.268 ± 0.034	0.755 ± 0.074	0.477 ± 0.055	0.232 ± 0.042	0.486 ± 0.049
	OVX	0.224 ± 0.015	0.766 ± 0.097	0.450 ± 0.028	0.181 ± 0.010	0.441 ± 0.104
	OVX+BE	0.266 ± 0.004	0.778 ± 0.016	0.487 ± 0.015	0.243 ± 0.010	0.512 ± 0.012
120 dias	C	0.256 ± 0.020	0.780 ± 0.069	0.484 ± 0.045	0.258 ± 0.065	0.524 ± 0.067
	OVX	0.228 ± 0.018	0.693 ± 0.057	0.418 ± 0.021	0.181 ± 0.202	0.465 ± 0.052
	OVX+BE	0.263 ± 0.080	0.784 ± 0.007	0.481 ± 0.016	0.241 ± 0.030	0.521 ± 0.006
150 dias	C	0.243 ± 0.005	0.693 ± 0.016	0.440 ± 0.024	0.263 ± 0.057	0.449 ± 0.024
	OVX	0.208 ± 0.031	0.619 ± 0.067	0.374 ± 0.015	0.184 ± 0.007	0.411 ± 0.013
	OVX+BE	0.239 ± 0.012	0.670 ± 0.035	0.418 ± 0.018	0.254 ± 0.030	0.431 ± 0.030

C= controle, OVX = ovariectomizadas, OVX+BE = ovariectomizadas tratadas com Benzoato de Estradiol. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs OVX, # p< 0,05 C vs OVX+BE, + p<0,05 OVX vs OVX+BE.

**Tabela 10.** Parâmetros físicos do fêmur de fêmeas (parte II)

Períodos experimentais	Grupos	Densidade óssea (g/cm <sup>3</sup> )	Densidade mineral (g/cm <sup>3</sup> )	% Água	% Material orgânico	% Material mineral
90 dias	C	1.554 ± 0.060	0.482 ± 0.090	36.830 ± 4.188	32.150 ± 6.261	31.019 ± 5.449
	OVX	1.430 ± 0.100	0.346 ± 0.080	40.434 ± 7.795	35.501 ± 4.748	24.063 ± 4.005
	OVX+BE	1.519 ± 0.006	0.476 ± 0.012	37.266 ± 1.038	31.188 ± 1.733	31.208 ± 0.963
120 dias	C	1.495 ± 0.071	0.496 ± 0.060	37.944 ± 2.984	28.881 ± 6.414	33.173 ± 3.603
	OVX	1.496 ± 0.066	0.393 ± 0.035	39.507 ± 3.438	34.251 ± 2.775	26.240 ± 1.584
	OVX+BE	1.508 ± 0.017	0.466 ± 0.020	38.720 ± 1.795	30.365 ± 1.081	30.727 ± 1.069
150 dias	C	1.543 ± 0.063	0.581 ± 0.101	36.403 ± 4.011	25.747 ± 1.767	37.849 ± 7.651
	OVX	1.505 ± 0.006	0.441 ± 0.012	39.705 ± 0.349	31.087 ± 1.317	29.728 ± 0.977
	OVX+BE	1.569 ± 0.046	0.606 ± 0.047	37.148 ± 1.249	24.353 ± 2.849	37.908 ± 2.676

C= controle, OVX = ovariectomizadas, OVX+BE = ovariectomizadas tratadas com Benzoato de Estradiol. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs OVX, # p< 0,05 C vs OVX+BE, + p<0,05 OVX vs OVX+BE.

### 4.5.3 Mandíbula

A Tabela 11 (partes I e II) apresenta os valores das propriedades físicas avaliados em macho. Os resultados obtidos através da comparação dos grupos não foram significativos.

**Tabela 11.** Parâmetros físicos da mandíbula de machos (parte I).

Períodos experimentais ♂	Grupos	Peso imerso (g)	Peso úmido (g)	Peso seco (g)	Peso cinzas (g)	Volume Ósseo (cm <sup>3</sup> )
90 dias	C	0.337 ± 0.023	0.652 ± 0.057	0.469 ± 0.001	0.354 ± 0.029	0.315 ± 0.034
	ORQ	0.319 ± 0.002	0.618 ± 0.004	0.450 ± 0.003	0.324 ± 0.002	0.299 ± 0.003
	ORQ+PT	0.339 ± 0.001	0.649 ± 0.001	0.466 ± 0.001	0.357 ± 0.003	0.310 ± 0.001
120 dias	C	0.325 ± 0.023	0.631 ± 0.017	0.453 ± 0.017	0.330 ± 0.021	0.306 ± 0.008
	ORQ	0.310 ± 0.001	0.605 ± 0.006	0.436 ± 0.001	0.312 ± 0.012	0.295 ± 0.005
	ORQ+PT	0.324 ± 0.001	0.633 ± 0.001	0.454 ± 0.008	0.332 ± 0.010	0.308 ± 0.001
150 dias	C	0.306 ± 0.012	0.619 ± 0.007	0.441 ± 0.017	0.321 ± 0.026	0.313 ± 0.012
	ORQ	0.301 ± 0.003	0.597 ± 0.001	0.410 ± 0.006	0.306 ± 0.029	0.295 ± 0.003
	ORQ+PT	0.305 ± 0.004	0.617 ± 0.001	0.439 ± 0.008	0.320 ± 0.005	0.312 ± 0.004

C= controle, ORQ = orquiectomizados, ORQ+PT = orquiectomizados tratados com Propionato de testosterona. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs ORQ, # p< 0,05 C vs ORQ+PT, + p<0,05 ORQ vs ORQ+PT.

**Tabela 11.** Parâmetros físicos da mandíbula de machos (parte II).

Períodos experimentais ♂	Grupos	Densidade óssea (g/cm <sup>3</sup> )	Densidade mineral (g/cm <sup>3</sup> )	% Água	% Material orgânico	% Material mineral
90 dias	C	2.075 ± 0.047	1.128 ± 0.036	27.654 ± 1.195	17.976 ± 2.422	54.369 ± 0.596
	ORQ	2.068 ± 0.013	1.083 ± 0.013	27.244 ± 0.447	20.358 ± 0.125	52.388 ± 0.331
	ORQ+PT	2.094 ± 0.007	1.151 ± 0.010	28.195 ± 0.017	16.829 ± 0.469	54.973 ± 0.486
120 dias	C	2.066 ± 0.100	1.082 ± 0.090	28.351 ± 2.824	19.333 ± 1.022	52.315 ± 2.071
	ORQ	2.051 ± 0.014	1.059 ± 0.058	28.034 ± 0.543	20.382 ± 2.161	51.493 ± 2.556
	ORQ+PT	2.050 ± 0.006	1.075 ± 0.032	28.244 ± 1.262	19.314 ± 1.089	52.441 ± 1.582
150 dias	C	1.982 ± 0.078	1.027 ± 0.102	28.784 ± 2.833	19.418 ± 0.429	51.797 ± 0.596
	ORQ	1.975 ± 0.002	1.017 ± 0.100	31.307 ± 1.045	20.367 ± 0.754	50.743 ± 1.973
	ORQ+PT	1.988 ± 0.033	1.035 ± 0.038	28.919 ± 1.399	19.269 ± 0.467	51.812 ± 0.952

C= controle, ORQ = orquiectomizados, ORQ+PT = orquiectomizados tratados com Propionato de testosterona. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs ORQ, # p< 0,05 C vs ORQ+PT, + p<0,05 ORQ vs ORQ+PT.

Nas fêmeas, não houve diferença significativa entre os grupos. Mesmo assim, pode-se observar em todos os períodos experimentais, que os grupos OVX+BE apresentaram valores menores quando comparados aos demais. Os grupos OVX apresentaram, para a maioria dos parâmetros, valores compatíveis aos grupos C. Tabela 12 (partes I e II)

**Tabela 12.** Parâmetros físicos da mandíbula de fêmeas (parte I)

Períodos experimentais	Grupos	Peso imerso (g)	Peso úmido (g)	Peso seco (g)	Peso cinzas (g)	Volume Ósseo (cm <sup>3</sup> )
90 dias	C	0.245 ± 0.015	0.569 ± 0.013	0.402 ± 0.003	0.132 ± 0.010	0.344 ± 0.015
	OVX	0.249 ± 0.006	0.609 ± 0.099	0.417 ± 0.032	0.132 ± 0.012	0.359 ± 0.005
	OVX+BE	0.238 ± 0.018	0.559 ± 0.033	0.404 ± 0.028	0.130 ± 0.021	0.341 ± 0.017
120 dias	C	0.237 ± 0.006	0.560 ± 0.002	0.419 ± 0.008	0.120 ± 0.005	0.303 ± 0.047
	OVX	0.233 ± 0.061	0.560 ± 0.040	0.401 ± 0.033	0.121 ± 0.026	0.326 ± 0.038
	OVX+BE	0.223 ± 0.017	0.515 ± 0.006	0.373 ± 0.038	0.106 ± 0.029	0.291 ± 0.005
150 dias	C	0.231 ± 0.011	0.538 ± 0.011	0.388 ± 0.005	0.124 ± 0.024	0.307 ± 0.007
	OVX	0.226 ± 0.006	0.520 ± 0.007	0.368 ± 0.008	0.157 ± 0.031	0.294 ± 0.034
	OVX+BE	0.218 ± 0.037	0.499 ± 0.051	0.345 ± 0.034	0.154 ± 0.029	0.280 ± 0.023

C= controle, OVX = ovariectomizadas, OVX+BE = ovariectomizadas tratadas com Benzoato de Estradiol. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs OVX, # p< 0,05 C vs OVX+BE, + p<0,05 OVX vs OVX+BE.

**Tabela 12.** Parâmetros físicos da mandíbula de fêmeas (parte II).

Períodos experimentais	Grupos	Densidade óssea (g/cm <sup>3</sup> )	Densidade mineral (g/cm <sup>3</sup> )	% Água	% Material orgânico	% Material mineral
90 dias	C	1.770 ± 0.046	0.411 ± 0.036	29.190 ± 1.120	47.605 ± 1.900	23.178 ± 1.777
	OVX	1.695 ± 0.017	0.311 ± 0.035	31.528 ± 0.713	50.014 ± 2.686	18.375 ± 2.219
	OVX+BE	1.699 ± 0.031	0.381 ± 0.047	30.314 ± 1.242	47.235 ± 2.671	22.450 ± 2.719
120 dias	C	1.850 ± 0.034	0.397 ± 0.024	25.219 ± 1.287	53.385 ± 0.975	21.4107 ± 0.965
	OVX	1.722 ± 0.008	0.370 ± 0.070	28.382 ± 2.635	50.074 ± 1.875	21.542 ± 4.175
	OVX+BE	1.769 ± 0.066	0.351 ± 0.096	27.403 ± 0.945	52.673 ± 5.366	20.712 ± 5.398
150 dias	C	1.755 ± 0.073	0.409 ± 0.007	27.819 ± 0.545	48.923 ± 0.527	23.0724 ± 0.327
	OVX	1.768 ± 0.024	0.534 ± 0.010	29.212 ± 0.608	40.522 ± 1.597	30.155 ± 0.988
	OVX+BE	1.779 ± 0.116	0.550 ± 0.093	30.883 ± 0.796	38.169 ± 5.095	30.946 ± 4.845

C= controle, OVX = ovariectomizadas, OVX+BE = ovariectomizadas tratadas com Benzoato de Estradiol. Os resultados são expressos por média ± EPM. \* p<0,05 C vs OVX, # p< 0,05 C vs OVX+BE, + p<0,05 OVX vs OVX+BE.

# 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](#)