

**EMILIA ANGELA LOSCHIAVO ARISAWA**

**INFLUÊNCIA DA CALCITONINA NA  
REGENERAÇÃO ÓSSEA EM MANDÍBULAS DE  
RATAS OVARIECTOMIZADAS**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do título de **DOUTOR**, pelo Curso de Pós-Graduação em **ODONTOLOGIA**, Área de Concentração em Biopatologia Bucal.



Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rosilene Fernandes da Rocha

São José dos Campos

2000

D42  
A44 i  
t1483

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:

BELLINI, A.B; Silva, E. A. **Manual para elaboração de monografias: estrutura do trabalho científico.** São José dos Campos: FOSJC/UNESP, 2000. 81p.

ARISAWA, E.A.L. **Influência da calcitonina na regeneração óssea em mandíbulas de ratas ovariectomizadas.** 2000. 109f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos.

## HOMENAGEM ESPECIAL

*Por ter-me acolhido como amiga, filha e, ainda, como orientada, esclarecendo dúvidas, apontando caminhos e espalhando alegria e sabedoria por onde passou.*

*Jamais será esquecida.*

*À Prof. Dr<sup>a</sup>. Elisabete Moraes  
in memoriam*

## *Dedico este trabalho*

*Ao meu marido Shigue e aos meus filhos João Paulo, Luís Fernando e Ana Amélia, pelo amor, apoio e amizade constantes, compreensão pelas falhas e ausências, amparo nas horas difíceis e carinho em todos os momentos.*

*Francisco e Livia, pais que, embora ausentes deste momento, sempre primaram pelo exemplo de vida, por me ensinarem a ter força e coragem, sem nunca esquecer de amar e compreender.*

*À minha irmã, Caterina, exemplo de tenacidade, pelo incentivo e companheirismo em todos esses anos de convivência fraterna.*

## HOMENAGEIO

*A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosilene Fernandes da Rocha, pela sua amizade, por me incentivar a recomeçar, dar-me às mãos nos primeiros passos, pelo apoio durante toda a execução desta pesquisa e, finalmente, por acolher-me como orientada no término desta jornada, todo o meu carinho e respeito.*

**À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Aigotti Haberbeck Brandão,** pelo auxílio e sugestões, principalmente na leitura da parte histológica e preparo fotográfico, pelos conhecimentos, companhia e alegria compartilhados.

**À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Yasmin Rodarte Carvalho** pela atenção, ensinamentos e orientação segura, não só durante a elaboração desta pesquisa, mas por todo o tempo de convívio e amizade.

**À Profa. Janete Dias Almeida,** companheira de jornada, amiga incondicional de todas as horas e em todas as dificuldades, por ajudar-me a superar momentos difíceis.

## **Agradecimentos**

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa da Diretora da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, **Profa. Dra. Maria Amélia Máximo de Araújo**, pela oportunidade, qualidade e contribuição à minha formação científica.

Ao Departamento de Biopatologia e Diagnóstico, na pessoa de sua Coordenadora **Profa. Dra. Yasmin Rodarte Carvalho**, pela oportunidade e apoio dado durante a realização desta pesquisa.

À **todos os amigos** do Departamento de Biopatologia e Diagnóstico, pelas horas que passamos juntos, pelas conversas jogadas fora, pelo apoio em momentos difíceis, pelo café compartilhado, tenho certeza que nunca serão esquecidos.

Ao **Prof. Ivan Balducci** pela ajuda na elaboração da análise estatística e dos gráficos aqui apresentados.

Às amigas **Ana Lourdes da Silva Machado, Terezinha de Fátima Arantes de Mello e Sílvia Scarpel** pelo convívio alegre, paciência e disponibilidade.

Aos demais **colegas do Curso de Pós-Graduação**, pessoas solidárias que tornaram a convivência valiosa em todos os momentos.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP, nas pessoas dos **Prof. Dr. Francisco Haiter Netto** (Radiologia) e **Prof. Dr. José Merzel** (Histologia), que gentilmente disponibilizaram a utilização dos laboratórios e equipamentos, além de esclarecerem nossas dúvidas.

Ao **Laboratório Novartis S.A.**, por terem cedido, gentilmente, o medicamento utilizado nesta pesquisa.

À **Kodak S.A.** por ter cedido gentilmente as películas radiográficas utilizadas neste estudo.

Às secretárias do Curso de Pós-Graduação, Rose e Irena, meu reconhecimento pelo trabalho executado e pela preocupação em nos atender.

À todas as funcionárias da Biblioteca pela pronta colaboração.

Aos amigos **Lourival** e **Antônio**, funcionários do biotério, sempre prestativos e alegres, pelo eficiente auxílio durante a elaboração da fase experimental desta pesquisa.



Aos **colegas** da disciplina de **Patologia Geral** da **Universidade de Taubaté**, pelo apoio, incentivo e amizades sempre presentes.

À bibliotecária **Angela de Brito Bellini**, pela paciência e orientação na revisão das normas de apresentação deste trabalho, bem como à todas as funcionárias da Biblioteca pela presteza e atenção no transcorrer deste curso.

**Não terá sido em vão o sacrifício dos animais utilizados neste trabalho pois os resultados obtidos contribuirão para o avanço de pesquisas nesta área.**

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Estrutura óssea.....	16
2.2 Remodelação óssea.....	18
2.3 Deficiência hormonal e osteoporose.....	25
2.4 Calcitonina.....	30
2.5 Barreiras mecânicas.....	35
2.6 Densitometria e histomorfometria.....	40
3 PROPOSIÇÃO.....	43
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
4.1 Materiais.....	44
4.1.1 Animais.....	44
4.1.2 Materiais cirúrgicos.....	45
4.1.3 Barreira de politetrafluoretileno puro (MP).....	46
4.2 Métodos.....	46
4.2.1 Ovariectomia.....	47
4.2.2 Defeito ósseo.....	48
4.2.3 Tratamento farmacológico.....	55
4.2.4 Períodos de observação.....	55
4.2.5 Análise radiográfica.....	55
4.2.6 Análise anatomopatológica.....	58
4.2.7 Análise morfométrica.....	60
4.2.8 Análise estatística.....	61
5 RESULTADOS.....	62
5.1 Análise densitométrica.....	62
5.2 Análise histológica.....	66

5.2.1 Grupo de animais controle.....	66
5.2.2 Grupo de animais controle tratados com calcitonina.....	68
5.2.3 Grupo de animais ovariectomizados.....	70
5.2.4 Grupo de animais ovariectomizados tratados com calcitonina	76
5.3 Análise histomorfométrica.....	81
6 DISCUSSÃO.....	86
7 CONCLUSÕES.....	96
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
ANEXO A.....	107
RESUMO.....	108
<i>ABSTRACT</i> .....	109

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Procedimento cirúrgico para realização da ovariectomia.....	50
FIGURA 2- Procedimento cirúrgico para realização de defeito ósseo mandibular: a) tricotomia e assepsia local; b) incisão com bisturi.....	51
FIGURA 3- Procedimento cirúrgico para realização de defeito ósseo mandibular; a) exposição do osso mandibular na região do ângulo; b) defeito ósseo realizado.....	52
FIGURA 4- Procedimento cirúrgico para realização de defeito ósseo mandibular: a) e b) colocação da barreira de politetrafluoretileno. Por vestibular e lingual.....	53
FIGURA 5- Procedimento cirúrgico para realização de defeito ósseo mandibular: a) e b) sutura das camadas muscular e pele.....	54
FIGURA 6- Análise radiográfica. Aspecto do arranjo dos espécimes na película oclusal com escala de alumínio.....	57
FIGURA 7- Aspecto macroscópico das mandíbulas após descalcificação: a) grupo controle, período de sete dias; b) grupo controle, período de 14 dias.....	59
FIGURA 8- Gráfico demonstrativo das médias dos valores densitométricos dos grupos.....	64
FIGURA 9- Diagramas de dispersão, coeficientes de correlação linear (r) e respectivas equações das retas de regressão referente às variáveis C e Ov versus período.....	65
FIGURA 10- Aspecto histológico do defeito ósseo em animais do grupo controle: a) três dias lesão preenchida por tecido de granulação frouxo. HE – 100X; b) sete dias - lesão preenchida por tecido de granulação denso, fibroso e bem celularizado. HE – 200X.....	67

FIGURA 11-Aspecto histológico do defeito ósseo em animais do grupo controle: a) 14 dias – lâmina delgada de tecido ósseo unindo margens da lesão. HE – 100X; b) 28 dias – área central da lesão com trabéculas espessas sem orientação lamelar. HE – 200X.....	69
FIGURA 12-Aspecto histológico do defeito ósseo em animais do grupo controle tratados com calcitonina: a) sete dias – presença de tecido de granulação com arranjo frouxo e bem celularizado, início de formação de trabéculas ósseas nas margens da lesão. HE – 200X; b) 14 dias – lesão quase totalmente preenchida por trabéculas ósseas imaturas entrelaçadas. Tricrômico de Mallory – 100X.....	71
FIGURA 13-Aspecto histológico do defeito ósseo em animais do grupo controle tratados com calcitonina: a) 21 dias – trabéculas ósseas espessas entrelaçadas com pouco tecido medular. HE – 100X; b) 28 dias – lesão cirúrgica totalmente preenchida por osso com arranjo lamelar. HE – 100X.....	72
FIGURA 14-Aspecto histológico do defeito ósseo em animais do grupo ovariectomizado: a) três dias – presença de pouca quantidade de tecido de granulação com arranjo frouxo. HE – 100X; b) sete dias – tecido de granulação com arranjo denso e pouco celularizado. HE – 100X.....	74
FIGURA 15-Aspecto histológico do defeito ósseo em animais do grupo ovariectomizado: a) 14 dias – espessamento do periósteo com início de neoformação na região central da lesão. HE – 200X; b) 21 dias – lesão preenchida por osso trabeculado de aspecto imaturo associado a tecido de granulação denso. Tricrômico de Mallory – 200X.....	75
FIGURA 16-Aspecto histológico do defeito ósseo em animais do grupo ovariectomizado: a) 28 dias – a loja cirúrgica não se mostra totalmente preenchida por osso neoformado. HE – 25X; b) 14 dias – presença de várias lacunas de reabsorção com osteoclasto ativos. HE – 630X.....	77
FIGURA 17-Aspecto histológico do defeito ósseo em animais do grupo ovariectomizado tratados com calcitonina: a) setes dias - neoformação óssea nas bordas da lesão. HE – 100X; b) 14 dias – loja cirúrgica quase totalmente preenchida por trabeculado ósseo imaturo e presença de numerosos osteoblastos. HE – 200X.....	79

FIGURA 18-Aspecto histológico do defeito ósseo em animais do grupo ovariectomizado tratados com calcitonina; a) 21 dias - tecido ósseo com arranjo ora lamelar ora trabecular preenchendo. HE - 25X; b) 28 dias -trabéculas ósseas maduras, com pouco tecido medular. HE - 200X.....	80
FIGURA 19-Gráfico demonstrativo das médias histomorfométricas dos grupos controle, controle tratado com calcitonina, ovariectomizado e ovariectomizado com calcitonina com relação aos períodos experimentais (densidade/vol).....	82
FIGURA 20- Aspectos comparativos dos valores obtidos na histomorfometria com os diversos grupos e a variável tempo.....	83
FIGURA 21-Valores médios da análise histomorfométrica para os grupos controle (C), controle tratado com calcitonina (CM), ovariectomizado (Ov) e Ovariectomizado com calcitonina (OvM).....	84

## 1 INTRODUÇÃO

Um acentuado aumento na expectativa de vida de grande número de seres humanos tem sido propiciado pelos avanços obtidos com pesquisas recentes, que determinaram a descoberta de novos tratamentos para diversas enfermidades. Alia-se a isto a melhoria na estrutura de atendimento médico, principalmente em países com avançada tecnologia, e, ainda, a implementação de uma política de saúde com atenção especial ao idoso, determinando o que poderíamos chamar de “envelhecimento populacional” (Carvalho Filho<sup>16</sup> et al., 1994; Raubenheimer<sup>61</sup>, 2000).

Conseqüentemente, algumas enfermidades passaram a ocupar um papel importante, em termos de saúde pública, devido não somente aos altos custos de tratamento, como também às complicações delas decorrentes, com prejuízo à qualidade de vida de um número que se torna cada vez maior de pessoas idosas (Delmas & Fraser<sup>24</sup>, 1999; Bandeira et al.<sup>8</sup>, 2000; Raubenheimer<sup>61</sup>, 2000).

Dentre essas doenças associadas ao envelhecimento destaca-se a osteoporose. Esta é uma enfermidade caracterizada por uma perda progressiva de massa e densidade óssea e pela alteração da estrutura normal do osso. A osteoporose é também denominada de “doença silenciosa” (Delmas & Fraser<sup>24</sup>, 1999), por ser geralmente assintomática, sendo diagnosticada geralmente com a ocorrência de fraturas, que são resultantes da fragilidade óssea.

A existência de deficiência óssea, ou osteoporose, interfere no tratamento em várias áreas da Odontologia, sendo que essa perda óssea na cavidade bucal pode ocorrer tanto por patologias como por iatrogenia (Pecora et al.<sup>58</sup>, 1997).

Dentro da Odontologia o estudo de fármacos que favoreçam a regeneração óssea é de vital importância principalmente nas áreas de periodontia, cirurgia buco maxilo-facial, prótese, ortodontia e, mais recentemente, a área de implantes.

Os mecanismos que atuam na regeneração e neoformação, na existência de um defeito ósseo, ainda não estão totalmente esclarecidos e as pesquisas realizadas neste campo visam proporcionar aos seres humanos uma sobrevida na qual a qualidade seja prevalente.

Neste estudo procuramos avaliar o grau de osteogênese em defeitos ósseos na região mandibular, objetivando a aplicação dos resultados obtidos na área clínica, no atendimento de pacientes com relevantes perdas ósseas.



## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Estrutura óssea**

Os ossos dão forma e sustentação ao corpo, suportando os tecidos, permitindo seus movimentos através de pontos de junção e protegendo órgãos vitais (Mourad<sup>54</sup>, 1997).

O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo, formado por células e material intercelular calcificado, a matriz óssea. As células ósseas permitem o crescimento, reparo, alteração de forma, contínua síntese de novo tecido ósseo, além da reabsorção de tecido velho (Guyton<sup>32</sup>, 1997). Serão descritas a seguir, de forma sucinta, os principais tipos de células, com funções determinadas, que compõem o tecido ósseo.

Os osteoblastos são células responsáveis pela formação da matriz óssea, estando presentes na superfície óssea e têm origem nas células osteoprogenitoras. Os osteócitos são osteoblastos que permanecem aprisionados no interior da matriz óssea, em cavidades ou lacunas, e que se comunicam tanto com as células adjacentes como com as fontes nutritivas através de projeções citoplasmáticas, proporcionando nutrição e vitalidade ao tecido ósseo. Os osteoclastos, definidos como células gigantes multinucleadas, são responsáveis pela reabsorção do tecido ósseo, participando ativamente do processo de

remodelação. Por último citaremos as células de revestimento do tecido ósseo que constituem um tipo distinto de osteoblastos, com poucas organelas que estão, aparentemente, inativas (Junqueira & Carneiro<sup>38</sup>, 1995; Mourad<sup>54</sup>, 1997).

As superfícies interna e externa dos ossos são revestidas por células osteogênicas e tecido conjuntivo, que formam o endóstio e o perióstio. Este revestimento é essencial para a manutenção do tecido, pois áreas de reabsorção ósseas aparecem nos locais que perderam esse revestimento. As células do perióstio têm morfologia semelhante à dos fibroblastos, transformando-se muito facilmente em osteoblastos e têm importante papel no crescimento dos ossos e no reparo das fraturas (Junqueira & Carneiro<sup>38</sup>, 1995).

A etapa inicial da produção de osso é a secreção de moléculas de colágeno (monômeros de colágeno) e de substância fundamental (proteoglicanos) pelos osteoblastos. Os monômeros de colágeno polimerizam-se rapidamente formando fibras colágenas e o tecido resultante transforma-se em osteóide, material semelhante à cartilagem, no qual os sais de cálcio precipitam-se rapidamente (Guyton<sup>32</sup>, 1997).

Tanto os osteoclastos como os osteoblastos originam-se da medula óssea. As células progenitoras dos osteoclastos pertencem a linhagem hematopoiética, enquanto as dos osteoblastos pertencem a células de linhagem mesenquimal pluripotentes do estroma da medula. A linhagem hematopoiética também dá origem aos monócitos e aos macrófagos (Lee et al.<sup>43</sup>, 1992; Manolagas & Jilka<sup>51</sup>, 1992).

## 2.2 Remodelação óssea

O osso é considerado como a mais importante aquisição na evolução dos tecidos de suporte revelando um potencial único de regeneração, sendo capaz de curar uma fratura, ou danos locais, com um tecido de reparo que mantém a mesma organização estrutural, sem deixar cicatriz (Hentunen et al.<sup>36</sup>, 1994).

Difere dos demais tecidos não só na sua estrutura físico-química como também na sua capacidade de remodelação e regeneração durante o período pós-fetal. Esta habilidade inata do tecido ósseo tem sido atribuída tanto à proliferação das células osteoprogenitoras, quanto à indução da proliferação e diferenciação das células mesenquimais indiferenciadas (Cormack<sup>21</sup>, 1991).

O osso já formado é um órgão metabolicamente ativo sendo remodelado continuamente durante a fase adulta. A remodelação ocorre através da reabsorção do osso velho pelos osteoclastos e a subsequente formação de osso novo pelos osteoblastos, fato importante para o reparo de microfraturas, além de constituir uma resposta ao estresse e às forças biomecânicas atuantes sobre o esqueleto (Manolagas & Jilka<sup>52</sup>, 1995; Bandeira et al.<sup>8</sup>, 2000).

Portanto a remodelação óssea seria um processo de manutenção de um equilíbrio constante entre reabsorção e formação óssea. Esse índice e as proporções de tecido ósseo permanecem constantes após a massa óssea máxima ser atingida, geralmente no início da fase adulta. Esses dois eventos são responsáveis pela

renovação do esqueleto mantendo sua integridade estrutural e anatômica (Manolagas & Jilka<sup>52</sup>, 1995; Guyton<sup>32</sup>, 1997).

Sob condições normais, o processo de remodelação óssea ocorre em ciclos nos quais os osteoclastos aderem ao osso. A remodelação óssea parece ser um processo caracterizado pela dupla ativação dos osteoclastos e dos osteoblastos, iniciada por um foco remodelador de osteoclastos onde estes reabsorvem uma parte do osso. A reabsorção óssea osteoclástica inicia-se pela adesão dos osteoclastos à matriz óssea, formando-se um micro-ambiente altamente ácido na interface osso-osteoclasto. Este meio ácido é fundamental para o processo reabsortivo, ilustrado pelo fato de que a reabsorção fica bloqueada após tratamento dos osteoclastos com uma base fraca (Teitelbaum<sup>79</sup>, 1993).

Portanto a adesão dos osteoclastos à superfície óssea é um passo essencial para o início do processo reabsortivo. Nesta fase os osteoclastos apresentam, junto à superfície óssea, uma importante alteração morfológica no formato de sua membrana celular. Esta apresenta projeções citoplasmáticas denominadas de “bordadura pregueada” ou “bordadura em escova” que possibilitam que essas células adiram à superfície mineralizada do tecido ósseo. Ainda, não se observam nessa região organelas no citoplasma, o que confere um aspecto denominado de “zona clara”, conforme descrições realizadas através de estudos com a utilização de microscopia eletrônica (Kallio et al.<sup>40</sup>, 1972). Após a adesão, bolsas de hidrolases ácidas localizadas próxima à “zona clara” movem-se para a área de bordadura em escova, fundem-se com a membrana da célula, liberando seu conteúdo no

espaço extracelular. A superfície óssea sofre degradação em um ambiente ácido, sendo os produtos resultantes deste processo recuperados por vacúolos digestivos, sendo posteriormente liberados próximos a espaços vasculares (Wronski et al.<sup>86</sup>, 1988; Teitelbaum<sup>79</sup>, 1993; Zaidi et al.<sup>88,89</sup>, 1993; Hollinger & Wong<sup>37</sup>, 1996).

Segue-se então uma fase reversa, caracterizada pelo aparecimento dos osteoblastos dentro da zona de reabsorção, para reporem completa ou parcialmente o osso anteriormente reabsorvido (Wronski et al.<sup>86</sup>, 1988; Teitelbaum<sup>79</sup>, 1993; Zaidi et al.<sup>87, 88</sup>, 1993; Hollinger & Wong<sup>37</sup>, 1996). Os osteoblastos invadem a área e iniciam o processo de formação de novo tecido ósseo através da secreção de osteóide. Quando cessa a formação óssea, a superfície do osso é coberta por células basais, um tipo distinto de osteoblastos diferenciados (Manolagas & Jilka<sup>52</sup>, 1995).

Os osteoblastos secretam grandes quantidades de fosfatase alcalina quando estão depositando ativamente matriz óssea. Acredita-se que a fosfatase aumente a concentração local de fosfato inorgânico ou que ative as fibras colágenas causando a deposição de sais de cálcio (Guyton<sup>32</sup>, 1997). Por sua vez índices elevados de fosfatase ácida são observados quando ocorre reabsorção óssea (Weiss et al.<sup>85</sup>, 1981).

O reparo das fraturas ósseas segue os mesmos princípios da reparação no tecido conjuntivo ou de outros tecidos mesenquimais. A reparação óssea é ativada por hormônios de crescimento, tireóideos e paratireóideos e a reabsorção óssea é inibida pela liberação de calcitonina. Uma interrupção temporária do

suprimento sanguíneo com associação de desvitalização e necrose do tecido ósseo resulta na ativação dos mecanismos reparadores (Guyton<sup>32</sup>,1997).

Acredita-se que esta regeneração ocorra baseada em dois mecanismos combinados que seriam a indução da proliferação e diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas e a indução da proliferação de células osteoprogenitoras pré-formadas (Manolagas & Jilka<sup>52</sup>, 1995).

Existem dois tipos de células osteoprecursoras ou osteogénéticas: as determinadas e as induzíveis (Friedenstein<sup>28</sup>, 1976). As células osteogénéticas determinadas são células do estroma da medula óssea e as induzíveis da camada profunda do periósteo e do endósteo. Estas células proliferam e diferenciam-se em osteoblastos após reagirem à indução pela proteína morfogenética.

O desenvolvimento dos osteoclastos *in vivo* pode ser induzido por células de linhagem osteoblástica, após implantes subcutâneos de partículas ósseas em ratos como observado em estudo realizado por Akamine et al.<sup>1</sup> em 1994.

Fatores derivados do metabolismo celular podem servir de estímulo para diferenciação de células osteogênicas e produção de osso. A matriz óssea é rica em citocinas e fatores de crescimento, tais como o fator de crescimento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), fatores de crescimento insulínicos I e II (IGF-I, IGF-II), e principalmente, a proteína morfogenética óssea (BMP), os quais são sintetizados em grande quantidade pelas próprias células ósseas. Esses fatores podem ser ativados em diferentes níveis, seja determinando uma rápida

diferenciação de células precursoras em osteoblastos ou atuando sobre células já diferenciadas, estimulando a atividade formadora de osso (Manolagas & Jilka<sup>51</sup>, 1992; Mourad<sup>54</sup>, 1997; Linde et al.<sup>46</sup>, 1993).

Manolagas & Jilka<sup>51</sup> 1992, sugeriram que a proliferação ativa de células osteoprogenitoras na forma de células mesenquimais indiferenciadas ocorre no periósteo, endósteo e medula óssea.

Este cenário complexo ainda não está bem elucidado, já que alguns fatores de crescimento podem apresentar efeitos opostos em diferentes concentrações e sob diferentes condições (Linde et al.<sup>46</sup>, 1993).

Por outro lado, células osteoprecursoras induzíveis são encontradas em tecidos distantes do tecido ósseo como, por exemplo, tecido conjuntivo subcutâneo, tecido muscular esquelético e fígado, sendo semelhantes a fibroblastos, com indução mais complexa e a resposta acontece por neoformação óssea indireta (Friedenstein<sup>28</sup>, 1976).

A competência ou determinação osteogênica é um estado de prontidão, mas de capacidade ainda não ativada, para diferenciação de células mesenquimais em células ósseas. A osteogênese é mais rápida quando o princípio indutor atua sobre as células osteoprecursoras determinadas, ocorrendo a neoformação óssea direta ou intramembranosa (Urist & Strates<sup>81</sup>, 1971).

Linghorne<sup>47</sup>(1960), num dos primeiros estudos envolvendo a importância da presença do coágulo sangüíneo na regeneração óssea, produziu um defeito cirúrgico, de aproximadamente 15mm, na fibula de cães deixando dois fragmentos ósseos

completamente separados. Com a finalidade de induzir a osteogênese e conseguir a união óssea dos dois fragmentos, o autor utilizou um tubo de polietileno preenchendo-o, em alguns casos, com enxerto de osso autógeno, tendo cuidado de assegurar-se que o tubo estivesse sempre ocupado com coágulo sangüíneo. Os resultados obtidos após períodos variáveis de 18 a 63 dias mostraram, histológica e radiograficamente, a neoformação óssea e o completo reparo da ferida cirúrgica no interior do tubo.

Rabie et al.<sup>60</sup> em 1996, observaram que o osso formado originalmente por ossificação endocondral, como ocorre nos ossos longos, parece ter propriedades biológicas diferentes daqueles formados por ossificação intramembranosa, como a maioria dos ossos do crânio. Os ossos longos cicatrizam pela formação de calo, onde a cartilagem é, geralmente, um passo intermediário. A matriz do osso intramembranoso difere qualitativamente do osso endocondral com relação a suas respectivas habilidades para induzir a formação de cartilagem ou, por último, a formação óssea.

A região crânio-maxilo-facial possui uma inter-relação muito importante entre os tecidos duros e moles que a compõem. Os músculos da mastigação, o crescimento do cérebro, o aumento do globo ocular estão integrados de forma a induzir e regular o crescimento dos ossos da face (Szachowicz<sup>76</sup>, 1995).

Nessa região, a mandíbula constitui-se num osso único estando sujeita a movimentação contínua e à significantes forças de compressão e cisalhamento (Nade<sup>56</sup>, 1994; Szachowicz<sup>76</sup>, 1995). Conseqüentemente, os resultados de pesquisas com defeitos ósseos



realizados em diferentes locais do complexo crâniofacial ou, até mesmo em ossos longos, podem não ser aplicáveis à mandíbula (Kaban & Glowacki<sup>39</sup>, 1980).

Os defeitos no osso mandibular normalmente são resultantes de cistos, infecções ou tumores. A regeneração desses defeitos constitui um processo complexo, sofrendo a influência da idade, estrutura óssea, vascularização, envolvimento de tecido conjuntivo e da dimensão da lesão (Dahlin et al.<sup>23</sup>, 1994).

Em revisão realizada por Nade<sup>56</sup>, em 1994, ele se refere à possibilidade de indução de formação óssea em locais extra-esqueleto em animais experimentais com base no entendimento dos mecanismos celulares. O autor cita a importância da utilização de implantes ósseos tanto autógenos como exógenos e a possibilidade de indução em tecidos não ósseos de mudanças na sua estrutura celular tornando-os osteogênicos. Ressalta também o uso de transplantes de medula óssea, de métodos químicos, como a utilização da proteína morfogenética (BMP) e de outros compostos químicos, métodos físicos, mecânicos, tanto isoladamente como associados, que têm como finalidade a regeneração, a substituição ou a neoformação de uma lesão óssea.

A padronização dos defeitos ósseos realizados em animais experimentais assume grande importância ao compararem-se resultados de diversos estudos. Admite-se atualmente, que defeito ósseo de tamanho crítico significa que o mesmo não regenera espontaneamente durante a vida do animal, e por esse motivo têm sido utilizados em modelos experimentais para minimizar dificuldades decorrentes de diferenças entre espécies, áreas anatômicas, etc

(Schmitz & Hollinger<sup>70</sup>, 1986; Sweeney et al.<sup>75</sup>,1995; Zellin et al.<sup>89</sup>, 1995)

Importante se faz ter em mente que a natureza desenvolveu mecanismos precisos para que o crescimento e reparo ósseo ocorram de forma organizada . A descoberta da chave destes processos, através de diversos estudos, possibilitará que se interfira o menos possível no processo natural de reparo ósseo diminuindo a chance de inibi-lo (Nade<sup>56</sup>, 1994).

### **2.3 Deficiência hormonal e osteoporose**

A menopausa é conseqüência da exaustão dos folículos ovarianos e, assim como na ovariectomia, ocorre uma parada no desenvolvimento folicular resultando em déficit de estrogênio, levando os níveis deste hormônio à praticamente zero (Harrison<sup>34</sup>, 1996).

Após a menopausa a perda óssea é maior no osso trabeculado como conseqüência da queda brusca da concentração do estrogênio (Bandeira et al.<sup>8</sup>, 2000). Uma das conseqüências mais comuns desta perda hormonal é justamente a osteoporose, devido a estreita ligação existente entre a insuficiência do estrogênio e a patologia. Essa deficiência pode ser definida atualmente como uma doença esquelética sistêmica caracterizada por baixa massa óssea, com deterioração da microestrutura do tecido, resultante, pelo menos parcialmente, desse desequilíbrio (Manolagas & Jilka<sup>52</sup>,1995) .

A marca registrada da osteoporose é, portanto, uma

redução na massa esquelética determinada por um desequilíbrio entre a reabsorção e a neoformação óssea (Manolagas<sup>50</sup>, 1995). A massa óssea dos ossos longos e vértebras torna-se severamente reduzida e a microarquitetura do tecido ósseo deteriora-se, levando a uma fragilidade esquelética e conseqüentemente, a um aumento no risco de fraturas (Tanaka et al.<sup>78</sup>, 1998).

Embora o osso cortical e trabecular constituam tipos diferentes de ossos, com funções distintas, sendo o cortical mecânico e o trabecular predominantemente metabólico, os processos que ocorrem durante a remodelação têm a mesma seqüência em ambos (Bandeira et al.<sup>8</sup>, 2000).

Dois fatores muito importantes, como a perda da função gonadal e a idade, contribuem para o desenvolvimento da osteoporose (Manolagas & Jilka<sup>52</sup>, 1995).

A importância dessa associação pode ser medida observando-se o expressivo número de fraturas, que ocorrem anualmente, em mulheres pós-menopausa sendo que tanto a deficiência de estrogênio quanto a idade podem estar implicadas nessa patogênese (Richelson et al.<sup>63</sup>, 1984).

A harmonia entre as taxas de reabsorção e de formação óssea é regulada sistemicamente pelos hormônios circulantes, fatores de crescimento e citocinas. Nas mulheres, após a menopausa, a taxa de perda óssea encontra-se aumentada, sugerindo que os estrogênios desempenham importante função também na prevenção da perda óssea (Mac Intyre et al.<sup>49</sup>, 1980; Richelson et al.<sup>63</sup>, 1984).

A administração de estrogênio na pós-menopausa

determina um nítido aumento nos níveis de calcitonina plasmática, enquanto a perda do hormônio na menopausa pode acentuar a queda nos níveis de calcitonina, que ocorre com o avançar da idade. Portanto, na menopausa há um presumível declínio na formação de matriz óssea decorrente da perda de estrogênio, somada a inabilidade na redução da reabsorção de maneira apropriada, pela falta de calcitonina, resultando em perda óssea (MacIntyre et al.<sup>49</sup>, 1980; Richelson et al.<sup>63</sup>, 1984; Dempster et al.<sup>25</sup>, 1995).

A atividade óssea de remodelação não está unicamente ligada a exigências metabólicas. Componentes extracelulares também estão envolvidos, influenciando no processo final. Assim, o fornecimento dos componentes dos ossos, como as proteínas, os minerais, os hormônios calciotrópicos, como o PTH, a calcitonina e a  $1,25(\text{OH})_2$  vitamina D, contribuem na organização final, completando o processo de remodelação e garantindo a manutenção da estrutura óssea (Bandeira et al.<sup>8</sup>, 2000).

Além desses, fatores nutricionais e ambientais interferem no desenvolvimento da osteoporose, tais como, atividade física adequada, anorexia nervosa, fumo, dieta e o estado geral de saúde, entretanto, a falta de estrogênio parece exercer papel fundamental (Harrison<sup>34</sup>, 1996; Siminoski & Josse<sup>72</sup>, 1996).

Mulheres que tiveram menopausa precoce por causas naturais ou por ovariectomia desenvolvem precocemente a osteoporose assim como diferenças raciais também foram detectadas. As mulheres negras apresentam, no período pré-menopausa, densidade óssea maior do que as brancas. Em conseqüência, após a menopausa, estas últimas

estarão mais sujeitas não só à osteoporose, como a uma exacerbação de seus efeitos (Harrison<sup>34</sup>, 1996).

Existem numerosos registros de elevação nos índices bioquímicos do *turnover* ósseo durante os estágios iniciais da deficiência de estrogênio na mulher. Após a menopausa, com o passar do tempo, as taxas de perda óssea e o *turnover* ósseo diminuem.

A associação temporal entre rápida perda óssea e aumento máximo no *turnover* ósseo é qualitativamente similar em ratas e em humanos com deficiência de estrogênio, como observado em estudo realizado por Wronski et al.<sup>86</sup> (1988). Os resultados por eles obtidos indicavam que havia grande perda óssea nas ratas ovariectomizadas, sendo que o aumento na reabsorção superava a concomitante elevação da formação óssea. Os autores observaram, ainda, índices aumentados de reabsorção e formação óssea em tibias de ratas ovariectomizadas já no 14º dia pós-ovariectomia, através de análise histomorfométrica, sendo que estes valores tornaram-se progressivamente pronunciados acima de cem dias.

Aparentemente, quando há perda da função gonadal, tanto a formação de osteoclastos quanto de osteoblastos aumenta na medula óssea. Estas mudanças parecem ser mediadas não só pelo aumento na produção de interleucina seis (IL-6), como também por um acréscimo na resposta das células progenitoras da medula óssea a essa citocina, mas também a outras, com propriedades osteoclastogênicas e osteoblastogênicas (Manolagas & Jilka<sup>52</sup>, 1995).

Mundy<sup>55</sup> (1993) afirma que mediadores inflamatórios, como as interleucinas, estão comumente presentes em locais de fratura

osteoporótica, assim como na cavidade bucal. A osteoporose e a doença periodontal representam exemplos de remodelação óssea anormal, já que nas duas situações ocorre desequilíbrio entre a reabsorção e a formação óssea, devido à produção local de fatores solúveis, tais como as IL-1 e IL-6, os leucotrienos, etc. (Mundy<sup>55</sup>, 1993; Roodman<sup>65</sup>, 1995).

A osteoporose pós-menopausa representa uma complicação importante durante o climatério e o seu peso econômico, social e clínico aumenta com a idade da população (Buffo et al.<sup>13</sup>, 1996).

É fundamental que os profissionais da área de Odontologia entendam a importância dos efeitos da deficiência do estrogênio sobre as estruturas ósseas bucais e como elas afetam as terapias utilizadas. A mandíbula possui uma estrutura complexa, além de variações individuais existentes causadas pelo estresse mecânico da mastigação e de forças oclusais (Szachowicz<sup>76</sup>, 1995; Tanaka et al.<sup>78</sup>, 1998).

Estudo realizado por Von Wowerm<sup>83</sup>, em 1988, evidenciou que o conteúdo mineral do osso mandibular está relacionado com a idade, de tal forma que quanto maior a idade menor será o conteúdo ósseo mineral. Esses achados foram confirmados por Kribbs<sup>42</sup>, em 1990, em estudo realizado com 112 mulheres, das quais 85 tinham evidências radiográficas de osteoporose. A autora ressaltou ainda, que este diagnóstico não deve ser feito baseado apenas nessas medidas, por ocorrerem variações individuais muito expressivas.

Como na homeostasia existente em outros tecidos que

sofrem regeneração, o osso depende da reposição ordenada de seus constituintes celulares. O reconhecimento de que a base patogênica da osteoporose decorre, principalmente, de alterações no número de células ósseas, mais que alterações na sua atividade individual, constitui-se no maior avanço para o entendimento do mecanismo desta doença (Manolagas & Jilka<sup>52</sup>, 1995).

A necessidade de realizarem-se estudos sobre a existência de alterações que comprovem a correlação entre a densidade de osso trabecular e cortical da mandíbula com a osteoporose, a análise cuidadosa do *status* endócrino e, ainda, da idade ou do sexo dos pacientes deve ser enfatizada. É crescente o número de indivíduos na população que se enquadram nessas condições e que necessitam de reabilitação oral ou ortopédica (LeGeros & Craig<sup>44</sup>, 1993).

## **2.4 Calcitonina**

A compreensão da relação existente entre as alterações nos mecanismos de reabsorção e regeneração óssea e sua interação com os hormônios sexuais femininos, observados na pós-menopausa é de vital importância. Existem várias condutas visando a correção destas alterações, como a administração de estrogênio ou de medicamentos que exerçam um efeito hipocalcêmico, entre as quais a calcitonina, que foi por nós estudada.

A calcitonina é um peptídeo de cadeia simples, peso molecular ao redor de 3.400 e uma cadeia de 32 aminoácidos, sendo

sua biossíntese e secreção reguladas pela concentração de cálcio no plasma, embora os mecanismos envolvidos nessa regulação não estejam totalmente esclarecidos (MacIntyre et al.<sup>49</sup>, 1980, Guyton<sup>32</sup>, 1997). Esta substância foi descoberta nos anos 60, sendo definida como um hormônio que diminuía os níveis de cálcio no sangue (Kallio et al.<sup>40</sup>, 1972; MacIntyre et al.<sup>49</sup>, 1980) sendo o osso seu principal local de ação e sua secreção realizada pelas células parafoliculares da glândula tireóide dos mamíferos (Zaidi et al.<sup>87-8</sup>, 1993).

Os efeitos hipocalcêmicos e hipofosfatêmicos da calcitonina são causados, predominantemente, pela inibição direta da reabsorção osteoclástica do osso e pela influência na função renal (Marx et al.<sup>53</sup>, 1972; Ziegler & Dellinger<sup>90</sup>, 1972; Berne & Levy<sup>9</sup>, 1990; Wallach et al.<sup>84</sup>, 1990).

Uma das funções fisiológicas mais importantes deste hormônio no metabolismo ósseo é suprimir a atividade dos osteoclastos, diminuindo, conseqüentemente, a reabsorção óssea. Estudos *in vitro* e *in vivo* têm mostrado que a calcitonina estimula o crescimento do tecido ósseo (Badurski et al.<sup>7</sup>, 1991), ação esta decorrente da inibição da atividade osteoclástica, a qual reduz, a longo prazo, o número de osteoclastos, levando à diminuição dos níveis circulantes dos produtos resultantes da reabsorção óssea.

A calcitonina reduz a concentração plasmática do cálcio pelo menos de duas maneiras. Num efeito imediato ocorre a diminuição da atividade absorviva dos osteoclastos e, possivelmente, o efeito osteolítico, deslocando o equilíbrio a favor da deposição de cálcio. O segundo efeito, mais prolongado, é diminuir a formação de novos



osteoclastos, inclusive porque a reabsorção osteoclástica do osso leva, secundariamente, à atividade osteoblástica, sendo que a diminuição no número de osteoclastos é seguida por números decrescentes de osteoblastos. Assim o efeito sobre o cálcio plasmático é sobretudo transitório, durando de algumas horas a alguns dias, no máximo (Guyton<sup>32</sup>, 1997).

As mulheres normais possuem níveis menores de calcitonina quando comparadas aos observados nos homens. Os níveis circulantes de calcitonina nas mulheres apresentam alguns picos em ocasiões de necessidades biológicas de cálcio, como por exemplo, durante a gravidez e a lactação (Harrison<sup>34</sup>, 1996; Guyton<sup>32</sup>, 1997).

A deficiência relativa dos hormônios esteróides gonadais pode explicar porque a perda óssea induzida pelo paratormônio (PTH) é mais severa nas mulheres. Considerando-se essa diferença com relação ao sexo, é possível que estes hormônios possam estar envolvidos na regulação da secreção da calcitonina (MacIntyre et al.<sup>49</sup>, 1980).

Hedlund et al.<sup>35</sup> (1983) observaram que trinta minutos após a administração subcutânea do hormônio paratireóideo ou de calcitonina em ratos, o número dos osteoclastos aumentou com a primeira substância e diminuiu com a segunda. Segundo os autores, isto poderia ser explicado pela rápida ação exercida por estes hormônios sobre os osteoclastos.

Arnett & Dampster<sup>5</sup> (1987), em estudo comparativo *in vitro* realizado com osteoclastos de rato e galinha, observaram que, após a administração de calcitonina sintética de salmão, a reabsorção

óssea foi completamente abolida somente nas células dos roedores, o que indicaria que este hormônio apresenta reações diferentes para mamíferos e aves.

Esses estudos revelam a rapidez da ação da calcitonina, sugerindo que a utilização desta imediatamente após a ocorrência de danos ósseos, poderia estimular a osteogênese (Chambers & Moore<sup>17</sup>, 1983; Arnett & Dempster<sup>5</sup>, 1987; Farley et al.<sup>26</sup>, 1988).

A administração de calcitonina, imediatamente após a realização de defeitos ósseos cirúrgicos circunscritos, em tíbias de ratas ovariectomizadas, apresentou maior neoformação óssea após os períodos de sete e 14 dias quando comparados aos animais controle (Arisawa et al.<sup>4</sup>, 2000).

1489  
A explicação mais freqüente e plausível para este fato seria que as células precursoras dos osteoblastos apresentariam ou um número elevado de receptores ou receptores com maior afinidade para a calcitonina, em comparação com os osteoblastos diferenciados (Weiss et al.<sup>85</sup>, 1981). Os osteoclastos, por sua vez, exerceriam sua ação reabsortiva ao serem ativados por fatores liberados pelos próprios osteoblastos (Mourad<sup>54</sup>, 1997).

A administração de calcitonina provoca a contração imediata dos prolongamentos citoplasmáticos ou da borda em escova, que, como já descrito, estaria associada à fase reabsortiva. Ocorre a inibição de todo mecanismo desencadeado pela zona clara, na região das projeções citoplasmáticas, fazendo com que o osteoclasto volte ao seu formato arredondado, característico da condição de repouso ou inatividade (Chambers & Moore<sup>17</sup>, 1983; Hedlund et al.<sup>35</sup>, 1983; Arnett

& Dampster<sup>5</sup>, 1987; Farley et al.<sup>26</sup>, 1988).

A possibilidade de existência de dois sub-tipos de receptores distintos para calcitonina, um que determinaria a alteração da configuração citoplasmática e outro para retração das projeções também é levantada por Zaidi et al.<sup>88</sup> em 1993.

Existem muitas formas de calcitonina disponíveis para uso terapêutico, sendo que a primeira comercialmente disponível foi a extraída de salmão. A calcitonina derivada do salmão é mais potente que a humana, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, por possuir sítios receptores com maior afinidade de ligação, além de ser excretada mais lentamente da circulação, agindo, portanto, por um período mais prolongado (Goodman<sup>29</sup>, 1996).

A calcitonina tem sido utilizada para tratamento de dor associada a inúmeras alterações das condições ósseas, como a doença de Paget, doenças ósseas metastáticas, além de dores decorrentes de fratura vertebral resultantes da osteoporose. O alívio da dor inicia-se poucos dias após o início da terapia e, em muitos casos, antes que uma alteração relevante do metabolismo ósseo possa ser demonstrada. Isto sugere que a ação antiálgica da calcitonina não seria primariamente resultado da modulação do *turnover* ósseo, supondo-se que ela atue, pelo menos em parte, estimulando o sistema endógeno opióideo (Siminoski & Josse<sup>72</sup>, 1996).

As vias de administração da calcitonina tradicionalmente utilizadas são a subcutânea, a intramuscular e, mais recentemente, a nasal (Reginster et al.<sup>62</sup>, 1990). Os efeitos colaterais observados em alguns pacientes além de serem dose-dependente, são

mais inconvenientes do que sérios. Entre eles, os mais comumente encontrados são anorexia, alterações gastrointestinais, náusea, vômitos, prurido e sensação de calor (Badurski et al.<sup>7</sup>, 1991; Goodman et al.<sup>29</sup>, 1996).

Estes efeitos colaterais devem ser tratados com medicações que aliviem os sintomas ou optar-se por aumento gradativo da dose, já que estes diminuem de intensidade com o passar do tempo (Siminoski & Josse<sup>72</sup>, 1996).

Por suas propriedades anti-osteoclásticas, antiinflamatórias e analgésica a calcitonina é utilizada no tratamento de doenças caracterizadas por excessiva reabsorção óssea como a osteoporose.

Portanto a investigação de uma ação osteogênica após a administração deste medicamento em pacientes com osteoporose diagnosticada, que serão ou estão sendo submetidos a tratamentos odontológicos pode abrir uma opção importante, numa população idosa que vem aumentando numericamente, de forma significativa, nas últimas décadas.

## **2.5 Barreiras mecânicas**

O principal obstáculo à regeneração e à neoformação óssea é o preenchimento do defeito por tecido conjuntivo, que, ao contrário da osteogênese, ocorre rapidamente.

Um possível mecanismo para que ocorra a invasão de um defeito ósseo por esse tecido baseia-se na suposição que células

não osteogênicas, como os fibroblastos dos tecidos adjacentes à lesão óssea, diferenciem-se e migrem em direção ao defeito ósseo mais rapidamente do que as células da linhagem osteoblástica. Como ocorre a obliteração da lesão por tecido mole, a neogênese óssea não se torna tão urgente, portanto, o crescimento de tecido mole no interior de um defeito ósseo pode prejudicar ou, até mesmo impedir a osteogênese (Alberius et al.<sup>2</sup>, 1992; Linde et al.<sup>46</sup>, 1993; Kostopoulos & Karring<sup>41</sup>, 1995; Salata et al.<sup>66</sup>, 1998).

Na presença de um defeito ósseo, o mecanismo de reparação ocorre com células ósseas competindo com tecido conjuntivo para preencher o sítio anatômico (Dahlin et al.<sup>22</sup>, 1988; Dahlin et al.<sup>23</sup>, 1994; Almeida et al.<sup>3</sup>, 2000; Salata et al.<sup>66</sup>, 1998).

A associação do mecanismo de regeneração óssea ao princípio da osteopromoção abriu um vasto campo de estudo em diferentes áreas da Odontologia ao indicar o uso de meios físicos para vedar um local anatômico de modo a prevenir que outros tecidos, principalmente o tecido conjuntivo, interfiram com a osteogênese, bem como com a formação óssea direta.

De acordo com este princípio pode-se evitar a invasão de tecido conjuntivo na lesão, permitindo que as células ósseas cresçam e, subseqüentemente, permitam a regeneração óssea. Portanto, osteopromoção significa o uso de meios físicos para selar anatomicamente o local onde o osso deverá se formar, de forma a prevenir que outros tecidos, principalmente o conjuntivo, interfiram tanto na osteogênese como na formação direta de osso (Zellin et al.<sup>89</sup>, 1995).

A técnica de membrana osteopromotora baseou-se originalmente na presunção que a regeneração e a cicatrização óssea inadequadas são decorrentes do rápido crescimento de tecido conjuntivo na área lesada (Hämmerle et al.<sup>33</sup>, 1996).

Nesta metodologia as membranas são utilizadas com a função de criar um espaço nos tecidos para que a osteogênese possa acontecer relativamente sem empecilhos, proporcionando um microambiente favorável. Dessa forma, células com potencial osteogênico podem migrar das margens adjacentes dos tecidos ósseos em direção à área lesada para formar novo tecido, sem interferências (Linde et al.<sup>46</sup>, 1993; Kostopoulos & Karring<sup>41</sup>, 1995; Zellin et al.<sup>89</sup>, 1995).

Ao prolongar o tempo de manutenção da membrana no defeito, o osso neoformado pode ser remodelado em lamelar, diminuindo dessa forma o risco de reabsorção. Outra possibilidade é que o material que compõe a membrana estimule, por si só, a osteogênese como no caso das membranas osteocondutivas (Linde et al.<sup>46</sup>, 1993).

A eficácia do uso da membrana é devida, provavelmente, à combinação de diferentes mecanismos, incluindo fatores mecânicos, celulares e moleculares (Linde et al.<sup>46</sup>, 1993; Schmid et al.<sup>69</sup>, 1997).

Há mais de uma década, Dahlin et al.<sup>22</sup>(1988), iniciaram estudos sobre reparo de defeitos ósseos, utilizando técnica de regeneração tecidual guiada, partindo da hipótese que diferentes componentes celulares dos tecidos migram em variadas proporções

dentro de uma ferida cirúrgica.

Defeitos ósseos experimentais produzidos no ângulo de mandíbulas de ratos foram recobertos com membrana de politetrafluoretileno (Gore-Tex) por vestibular e por lingual. O resultado das análises histológicas dos espécimes evidenciou o fechamento total dos defeitos realizados, indicando que o uso de barreiras físicas pode ter grande aplicação em diversas situações que envolvam destruição tecidual (Sandberg et al.<sup>67</sup>, 1993).

Resultados semelhantes foram relatados por Pecora et al.<sup>58</sup> (1997), utilizando uma barreira de sulfato de cálcio em estudo realizados em ratos.

Em 1994, Dahlin et al.<sup>23</sup> criaram em ratas defeitos cirúrgicos de tamanho crítico. Num dos lados do defeito, revestido por membrana expandida de politetrafluoretileno (e-PTFE), observou-se visível crescimento ósseo. Por sua vez, no lado controle ou sem membrana, um tecido conjuntivo denso havia invadido o defeito.

Zellin et al.<sup>89</sup> (1995), compararam dez tipos de membranas de materiais diferentes, incluindo e-PTFE, ácido polilático, celulose e ácido poliglicólico. Observaram que nem todas promovem a mesma formação óssea e que fatores como, por exemplo a porosidade, parecem influenciar a quantidade de osso neoformado.

Em outro estudo comparativo, Simion et al.<sup>73</sup> (1996), compararam membranas absorvíveis (de ácido polilático e ácido poliglicólico) com a barreira de e-PTFE (não absorvível), no tratamento de defeitos ósseos em 16 pacientes. Após seis meses de reparo, as lesões revestidas pela barreira não absorvível apresentaram maior

quantidade de osso regenerado enquanto que as recobertas por membranas absorvíveis apresentaram pouca neoformação óssea.

Macedo<sup>48</sup> (1999), avaliou a utilização odontológica, em estudos experimentais e clínicos, de um tipo de *teflon* laminado\* de uso, até então, exclusivo na área industrial e que deu origem à barreira, hoje também utilizada em Periodontia na técnica cirúrgica da regeneração tecidual dirigida. Nesse estudo atestou-se a resposta biocompatível dessa barreira, que é uma película densa, fabricada em politetrafluoretileno puro. Este material foi produzido por Plunket em 1938, sendo seu uso liberado a partir de 1948 sendo que atualmente o politetrafluoretileno é comercializado internacionalmente sob as marcas Teflon (DuPont), Hostaflon (Hoechst) e Fluon (ICI).

O politetrafluoretileno é extremamente resistente ao ataque da maioria dos produtos químicos corrosivos e solventes, apresentando a mais extensa zona de temperatura de trabalho (-250°C a 260°C) dentre os materiais plásticos conhecidos. Graças ao seu baixíssimo coeficiente de atrito, é o polímero mais deslizante de todos os materiais sólidos e, devido a sua espessura, tem excelente flexibilidade possuindo, também, alguma elasticidade (Macedo<sup>48</sup>, 1999).

Ausência de porosidade, baixa energia de superfície e sua antiaderência contribuem para uma menor adesão de microorganismos, fazendo com que esse polímero seja um dos materiais mais inócuos para o ser humano (Kostopoulos & Karring<sup>41</sup>, 1995). A barreira mecânica impede ainda a invasão de células que possam interferir na osteogênese (Alberius et al.<sup>2</sup>, 1992; Sandberg et

---

\*Tecnoflon-Blasfón, São Paulo, Brasil.



al.<sup>67</sup>, 1993).

Esses estudos evidenciaram que a utilização de técnicas de osteopromoção clínica e experimentalmente, associadas ou não a outros meios (físicos, químicos ou mecânicos), podem proporcionar condições que favoreçam a osteogênese.

## 2.6 Densitometria e histomorfometria

A detecção de pequenas diferenças patológicas na massa óssea da região buco-maxilo-facial constitui-se num dos maiores desafios para a Radiologia Odontológica (Chen et al.<sup>18</sup>, 1997; Nasu et al.<sup>57</sup>, 1998).

Com o avanço da tecnologia, densidades ópticas de imagens radiográficas puderam ser medidas através de densitômetros, ampliando as perspectivas de uso da metodologia radiográfica no campo da pesquisa biológica. É importante a padronização de todos os parâmetros utilizados nas tomadas radiográficas, para que as medidas densitométricas possam ser comparadas sem nenhum fator de correção (Carvalho et al.<sup>14</sup>, 1976).

Carvalho et al.<sup>15</sup> (1980) estudaram a mineralização no processo de reparo em feridas de extração dentária em ratos, usando as metodologias densitométrica e histológica. Os resultados obtidos foram comparados entre si, permitindo a comprovação da eficácia da densitometria.

Em estudo realizado por Bodner et al.<sup>11</sup> (1993), os

autores postulam que o uso de radiografias ainda é o melhor método não cirúrgico para detecção de formação óssea na existência de dano.

Os autores afirmam que a aplicação da densitometria em radiografias de rotina, na odontologia clínica, realizadas com o auxílio de uma escala padrão de alumínio, possibilita a aferição do estado da cicatrização alveolar. Relataram também que a formação de tecido osteóide e mineralização é expressa radiograficamente pelo aumento na radiopacidade, resultante de maior densidade óptica da imagem óssea. Os mesmos utilizaram a densidade óptica dessa escala padrão de alumínio para comparação com as leituras dos espécimes experimentais.

Bodner et al.<sup>12</sup> (1993) também avaliaram, por meio de radiografias e de um método objetivo densitométrico, o efeito da sialoadenectomia no reparo ósseo após exodontia em ratos, utilizando o mesmo padrão de comparação. Os resultados obtidos indicam que a fase inicial do reparo pode, em parte, ser seguida clinicamente, enquanto que, a formação e remodelação óssea só podem ser acompanhadas radiográfica e histologicamente (Bodner et al.<sup>10</sup>, 1991).

Trouerbach et al.<sup>80</sup> (1984), realizaram um estudo utilizando valores equivalentes de alumínio de radiografias de mandíbulas em pessoas saudáveis. Eles encontraram diferenças quantitativas que permitiram avaliar a perda por reabsorção óssea na crista alveolar.

Em estudos realizados com ratos sialoadenectomizados, Bodner et al.<sup>10</sup> (1991) avaliaram quantitativamente o reparo tecidual

após extração dental através de avaliação histomorfométrica utilizando uma grade quadriculada com densidade de ponto (1 ponto/cm<sup>2</sup>).

Portanto, a associação de métodos densitométricos à análise histomorfométrica, em estudos realizados tanto em animais experimentais quanto em humanos, proporciona informações numéricas da região do defeito cirúrgico que refletem adequadamente o estado atual da formação e remodelação óssea (Bodner et al.<sup>11</sup>, 1993; Chen et al.<sup>18</sup>, 1997; Lew et al.<sup>45</sup>, 1997; Chesmel et al.<sup>19</sup>, 1998).

### **3 PROPOSIÇÃO**

Este trabalho teve por objetivo avaliar, radiográfica e histomorfologicamente, a ação da calcitonina sobre a regeneração de defeitos ósseos circunscritos, utilizando a técnica de regeneração óssea guiada, em mandíbulas de ratas, com ou sem a presença de hormônios ovarianos.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

#### 4.1.1 Animais

Esta pesquisa foi realizada de acordo com os Princípios Éticos para a Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia do Campus de São José dos Campos - UNESP, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob protocolo nº 09/ 99 (Anexo A).

Foram utilizadas cem ratas fêmeas adultas (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*, Wistar) com sessenta dias, idade na qual estes animais tornam-se sexualmente maduros (Griffith & Farris<sup>30</sup>, 1942), peso aproximado de 200g, mantidas em gaiolas individuais com água e ração *ad libitum*, fornecidas pelo Biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP.

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos iguais, com vinte e cinco elementos cada, assim distribuídos:

- a) grupo C (controle): neste grupo os animais sofreram cirurgia apenas para realização do defeito ósseo cirúrgico e administração de solução fisiológica - NaCl 0,9% ( item 4.2.4);

- b) grupo CM (normais + Miacalcic): os animais foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico do grupo anterior associado a administração de calcitonina sintética de salmão, conforme descrito no item 4.2.4;
- c) grupo Ov (ovariectomizados/sem tratamento): neste, as ratas foram submetidas primeiramente à ovariectomia e, decorridos trinta dias realizou-se defeito ósseo como nos grupos anteriores e a administração de solução fisiológica- NaCl 0,9% (item 4.2.4);
- d) grupo OvM (ovariectomizados + Miacalcic): trinta dias após a ovariectomia os animais deste grupo foram submetidos aos mesmos procedimentos cirúrgicos do grupo Ov e tratados com calcitonina sintética de salmão (item 4.2.4).

Todos os animais dos grupos descritos foram sacrificados após três, sete, 14, 21 e 28 dias, sendo que cada subgrupo era composto por cinco animais.

#### 4.1.2 Materiais cirúrgicos

Para os procedimentos cirúrgicos utilizaram-se os seguintes materiais: cabo de bisturi, lâmina nº 15, afastadores cirúrgicos, pano de campo, seringas descartáveis de 1mL, espátula 7, porta agulha, pinças homeostáticas tipo mosquito curva e reta, gaze estéril, fio de sutura absorvível com agulha Catgut nº 4, fio de sutura

de seda nº 4.0 com agulha, tesoura, broca calibrada em forma de lança de 2,3mm de diâmetro, broca calibrada com formato helicoidal de 3,7mm de diâmetro, aparelho de motor elétrico\* na velocidade de 1500rpm.

#### 4.1.3 Barreira de politetrafluoretileno puro (MP)

Neste estudo utilizou-se uma barreira densa, não biológica e não absorvível, confeccionada em politetrafluoretileno puro, medindo 20mm no comprimento e 8mm na largura, com espessura de 0,1mm e com configuração oval apropriada para o defeito ósseo cirúrgico realizado. As películas de politetrafluoretileno já recortadas foram previamente colocadas em embalagens adequadas, devidamente seladas e esterilizadas em estufa\*\* por 60 minutos à 180°C.

## 4.2 Métodos

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em sala cirúrgica do Biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos- UNESP. Esta foi cuidadosamente limpa utilizando-se álcool 70% e preparada para os procedimentos cirúrgicos.

As vestimentas do cirurgião e auxiliares, como aventais e luvas, bem como todos os materiais cirúrgicos foram esterilizados

---

\*Aseptico- AEV-707 Implant Surgery System

\*\* Fabbe-Primar

\*\*\*

em autoclave\* por 30 minutos à 120°C.

Os animais dos grupos Ov e OvM submeteram-se a duas sessões cirúrgicas. A primeira para excisão dos ovários e a segunda para realização do defeito ósseo cirúrgico na mandíbula direita, que foram recobertos com barreiras oclusivas associadas aos mesmos. As ratas foram pesadas imediatamente antes do procedimento cirúrgico, para a quantificação correta da dosagem de anestésico. Em todos os procedimentos cirúrgicos utilizou-se, para anestesia geral, solução de Rompun\*\* com Francotar\*\*\*, na proporção de 1: 0,5mL, na dose de 0,1mL/100g, via intramuscular. O Rompun ( cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3-tiazina) é um sedativo analgésico e relaxante muscular, associado ao Francotar (ketamina base), anestésico geral.

#### 4.2.1 Ovariectomia

As ratas dos grupos Ov e OvM foram anestesiadas e após a tricotomia da região abdominal lateral, a pele e musculatura foram incisadas longitudinalmente, na linha média próximo ao nível dos rins, abaixo da costela.

A pele foi retraída lateralmente, o ovário identificado e exposto, através da fina parede de músculos, abaixo da massa muscular dorsal. A incisão de 1cm, permitiu somente a extrusão do ovário, sendo então realizada a hemostasia, através da ligação da parte superior da trompa com fio de sutura.

---

\* Fanen-Orion modelo 515

\*\*Bayer do Brasil

\*\*\*Virbac do Brasil Ind. Com. Ltda



O ovário juntamente com a gordura circundante, o oviduto e uma pequena porção do útero foram excisados, sendo este procedimento realizado bilateralmente. Em seqüência, suturaram-se as camadas musculares e a pele com fio de seda nº 4 (Figura 1) sendo finalmente realizada a assepsia do corte com álcool iodado (Griffith & Farris<sup>30</sup>, 1942).

#### 4.2.2 Defeito ósseo

Um mês após a ovariectomia, as ratas foram novamente anestesiadas e submetidas à procedimento cirúrgico para confecção de defeito ósseo na região mandibular direita.

Após tricotomia e assepsia da região, a pele e a musculatura foram incisadas com bisturi (Figura 2), com abertura aproximada de 2cm de comprimento, na região do ângulo da mandíbula, afastando-se, com espátula 7 a musculatura e o periósteo.

O preparo do defeito transósseo foi realizado utilizando-se um motor elétrico, na velocidade de 1.500 rpm, associado ao uso de duas brocas calibradas, inicialmente uma em forma de lança com 2,5mm de diâmetro e, em seguida, a de formato helicoidal medindo 3,7mm (Figura 3). Durante toda a manipulação óssea, no decorrer do ato cirúrgico, o local foi irrigado constante e abundantemente com cloreto de sódio estéril.

A mandíbula foi suspensa em sua porção inferior com o auxílio de uma espátula sete, sendo a lesão recoberta pela barreira de politetrafluoretileno, por vestibular e lingual, tendo-se o cuidado de observar que esta excedia o tamanho da lesão, a fim de impedir a

invasão na área do defeito de algum tipo de tecido mole (Figura 4). Em seqüência suturaram-se a camada muscular com fio reabsorvível Catgut nº 4 e, por último, a pele com fio de seda nº 4 (Figura 5).

As áreas operadas sofreram nova assepsia com álcool iodado, sendo os animais mantidos em gaiolas, em local apropriado.



FIGURA 1- Procedimento cirúrgico para realização da ovariectomia



FIGURA 2 – Procedimento cirúrgico para realização de defeito ósseo mandibular:  
a) tricotomia e assepsia local; b) incisão com bisturi.



FIGURA 3– Procedimento cirúrgico para realização de defeito ósseo mandibular: a) exposição do osso mandibular na região do ângulo; b) defeito ósseo realizado.

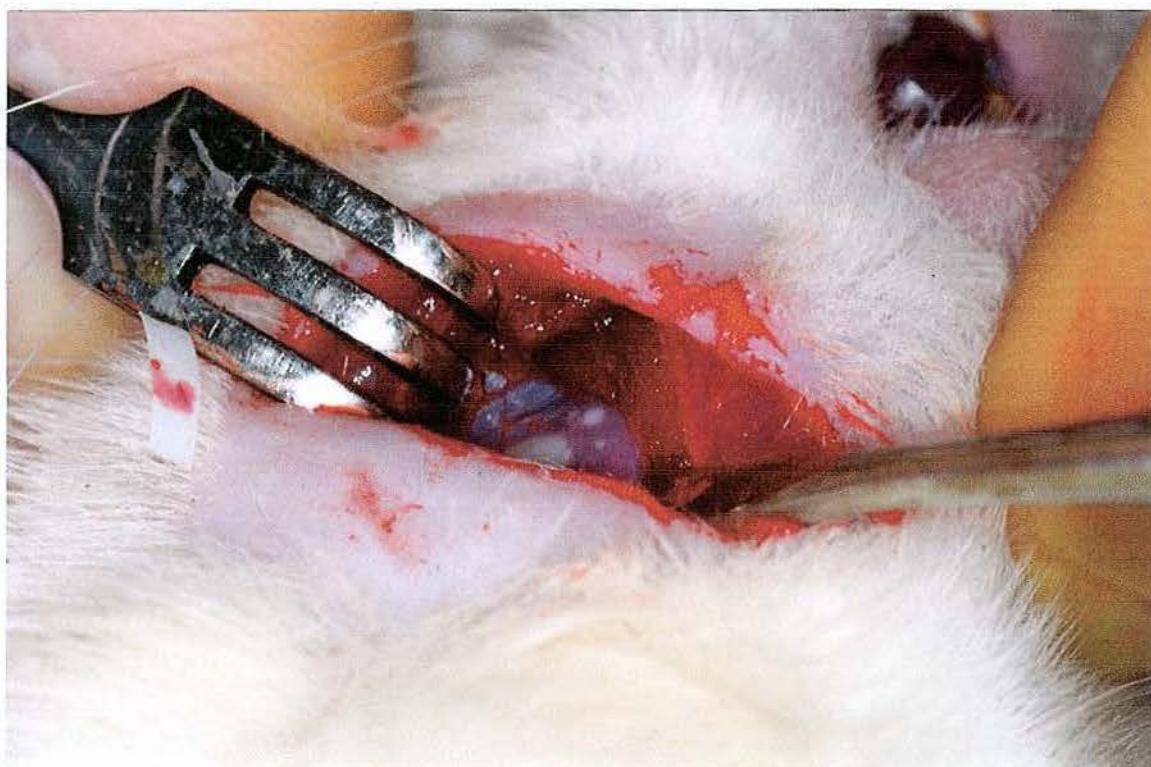


FIGURA 4 – Procedimento cirúrgico para realização de defeito ósseo mandibular:  
a) e b) colocação da barreira de politetrafluoretileno, por vestibular e  
lingual.

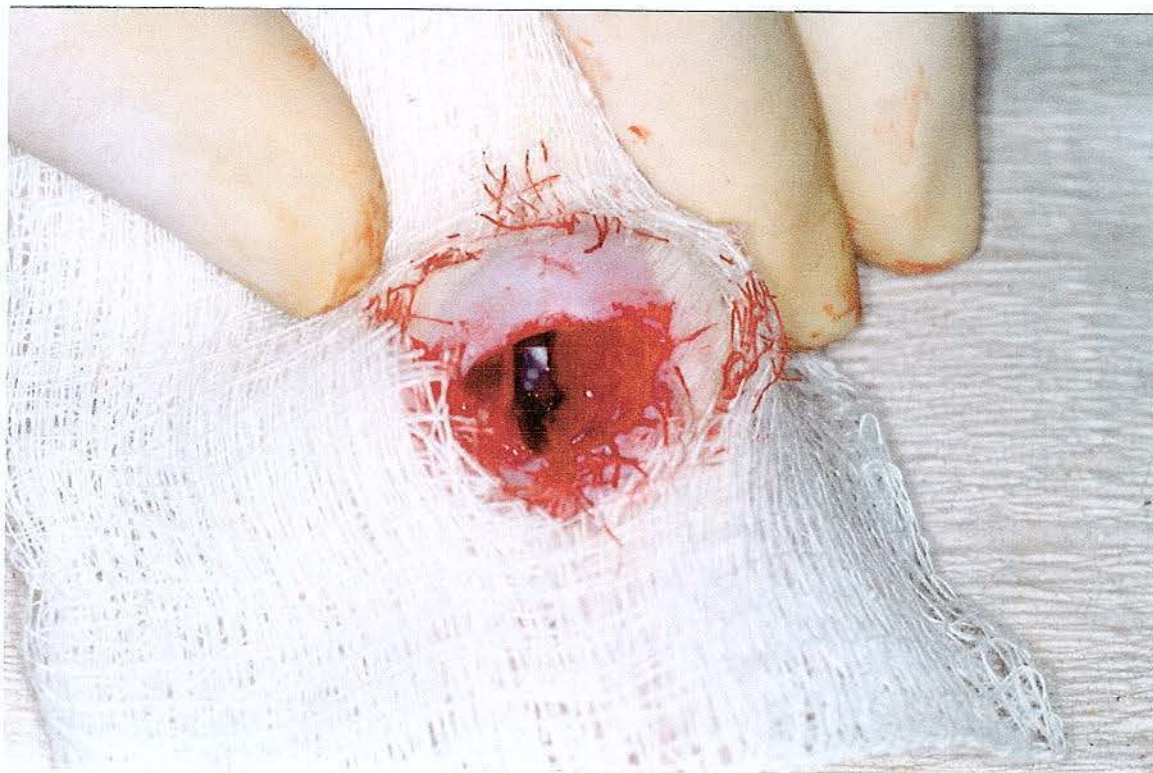


FIGURA 5 – Procedimento cirúrgico para realização de defeito ósseo mandibular:  
a) e b) sutura das camadas muscular e pele

#### 4.2.3 Tratamento farmacológico

Aos animais dos grupos CM e OvM (cinquenta animais) administrou-se calcitonina sintética de salmão\* na dose de 2UI/kg via i.m., num volume aproximado de 0,25mL, imediatamente após a realização do defeito ósseo e em dias alternados até o seu sacrifício.

Os animais dos grupos C e Ov receberam solução fisiológica (NaCl 0,9%) pela mesma via, nos mesmos intervalos e em volume semelhante.

#### 4.2.4 Períodos de observação

Cinco animais de cada grupo foram anestesiados com o dobro da dose, decapitados na guilhotina e sacrificados aos três, sete, 14, 21 e 28 dias.

As mandíbulas foram removidas, o tecido mole excedente eliminado e acondicionadas em frascos com solução de formol a 10%, durante 24 horas.

#### 4.2.5 Análise radiográfica

Imagens radiográficas dos espécimes foram realizadas através da exposição sobre filme oclusal\*\*. Utilizou-se o aparelho de Rx\*\*\* da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

Os parâmetros distância foco-objeto de 40cm, tempo de exposição de 0,25segundos, com 10mA e 65kVp, foram padronizados para a realização de todas as tomadas radiográficas.

---

\*Miacalcic<sup>®</sup> - Laboratório Sandoz

\*\*Kodak Ectspeed Plus EO-41P - EUA

\*\*\*General Electric Co (EUA) modelo 11AA5A7 GE100



Foram realizadas cinquenta radiografias sendo que, sobre cada película, colocou-se, uma mandíbula do grupo controle (C ou Ov) e uma do grupo tratado (CM ou OvM), de mesmo período de sacrifício, estando a face vestibular da peça aposta sobre a película.

No centro da película, paralelamente e entre os espécimes, colocou-se uma escala padrão (*step wedge*) de alumínio e, na parte inferior, números e letras para identificação das mesmas (Figura 6).

A escala padrão de alumínio utilizada foi confeccionada em alumínio especialmente para este estudo, em formato de escada, com oito degraus, medindo cada degrau 0,5cm de comprimento por 0,4cm de altura, totalizando 4cm de comprimento e 1cm de largura.

As películas radiográficas foram colocadas sobre um suporte de madeira, no qual foi desenhado o posicionamento correto da película, de tal forma que o raio central incidisse perpendicularmente em todas as exposições.

O processamento das radiografias foi realizada através de processadora automática\*, sob temperatura constante de 27°C e líquidos revelador e fixador\*\*, recentemente preparados, com tempo de processamento de 6min.

A mensuração das densidades ópticas das radiografias, obtidas após os processamentos radiográficos, foi efetuada através de um fotodensitômetro\*\*\* calibrado conforme as especificações do

---

\*Gendex GXP

\*\*Kodak do Brasil SA

\*\*\*M.R.A.

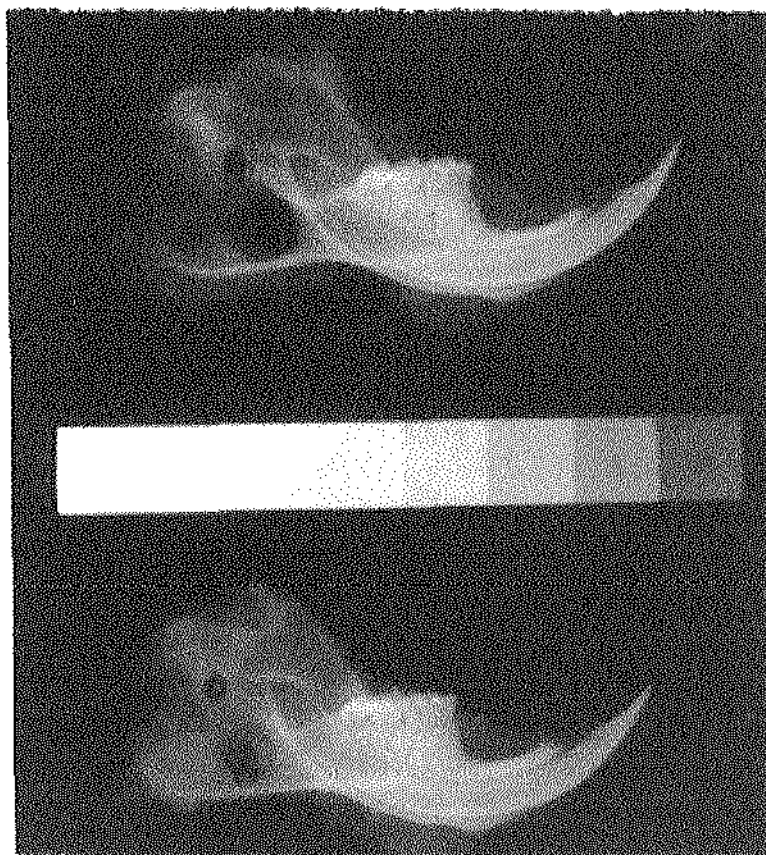


FIGURA 6 – Análise radiográfica. Aspecto do arranjo dos espécimes na película oclusal com a escala de alumínio.

fabricante, com abertura de 2mm para todas as leituras.

Foram avaliadas as áreas do defeito ósseo cirúrgico e do ramo da mandíbula em cada um dos espécimes, sendo que o registro da densidade óptica de cada defeito cirúrgico aparecia, em valores numéricos, em um visor digital. Entre cada uma das leituras de cada região o fotodensitômetro foi calibrado novamente.

Todas as leituras foram repetidas após um período de 15 dias pelo mesmo observador e as médias dos valores obtidos foram submetidas a teste estatístico.

Os procedimentos acima descritos foram todos realizados no mesmo dia (exceto a segunda leitura densitométrica), no Departamento de Radiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP.

#### 4.2.6 Análise anatomopatológica

Após radiografadas, as peças foram descalcificadas em solução aquosa de ácido fórmico a 20%. Após a análise macroscópica da lesão, os espécimes foram hemi-seccionados na região central do defeito ósseo (Figura 7). As metades foram incluídas em parafina no sentido perpendicular ao corte, sendo que de todas as amostras foram obtidos cortes seriados, com aproximadamente 5 $\mu$ m de espessura, corados com hematoxilina e eosina (H&E) e tricrômico de Mallory, para análise histológica e histomorfométrica em microscopia de luz.

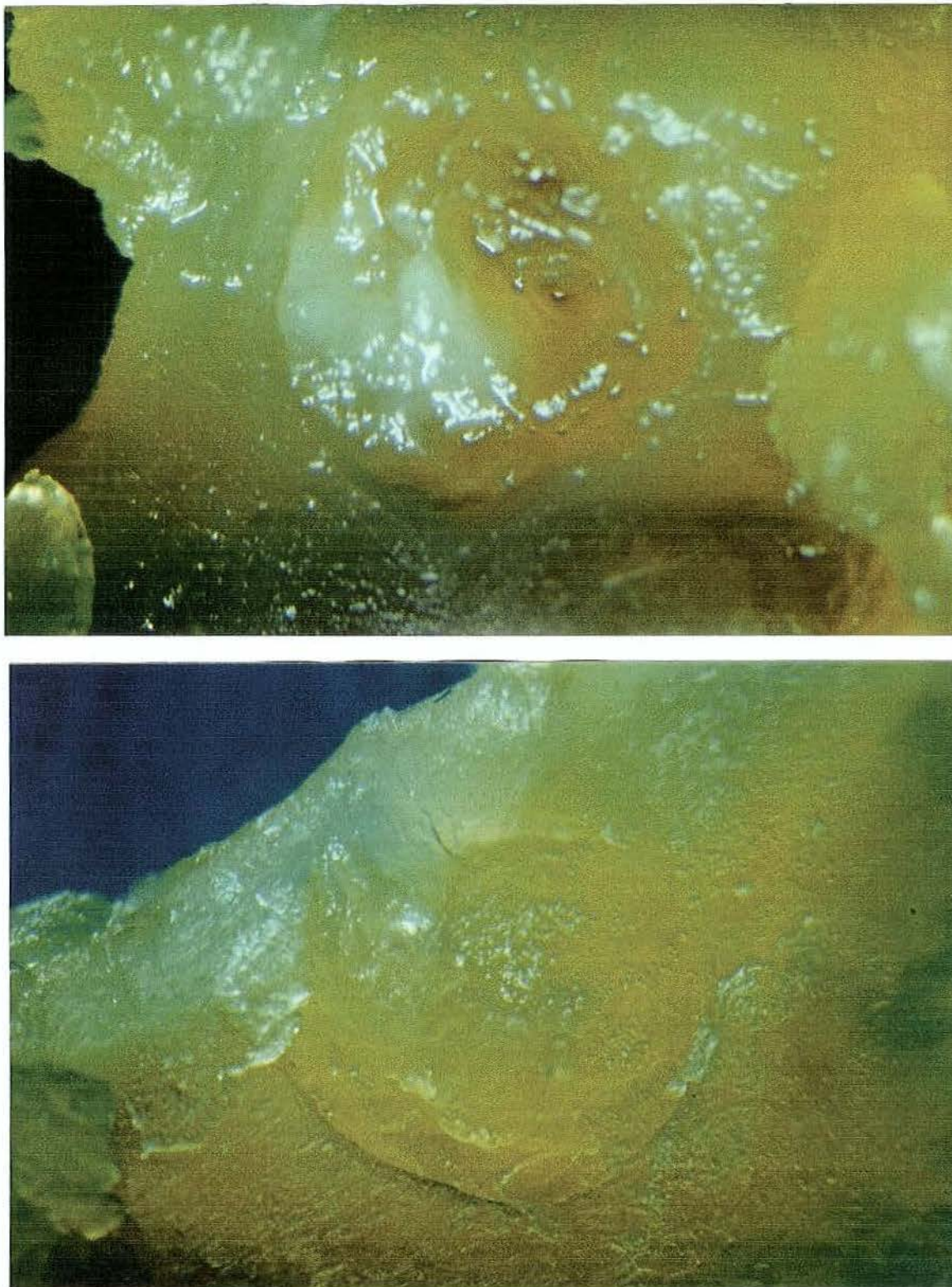


FIGURA 7 – Aspecto macroscópico da região do defeito na mandíbula após descalcificação: a) grupo controle, período de sete dias; b) grupo controle, período de 14 dias.

#### 4.2.7 Análise morfométrica

Analisaram-se quatro lâminas de cada animal de todos os grupos para avaliação do ganho ósseo, com a finalidade de quantificá-lo, levando-se em consideração que todos os métodos estereológicos baseiam-se em princípios geométrico-estatísticos, derivados da probabilidade das imagens dos perfis da estrutura na seção histológica coincidirem com um sistema teste apropriado. Deste modo, o ponto central está na casualização das amostras em todos os estágios do experimento, desde a escolha dos animais, seleção dos blocos histológicos, das lâminas, dos cortes histológicos de cada lâmina e, principalmente, a seleção dos campos microscópicos a serem utilizados nas quantificações (Taga & Stipp<sup>77</sup>, 1994).

De acordo com esses autores, para a análise das lâminas histológicas, estabelecemos uma “macro”, ou seja, um conjunto de funções que permite executar automaticamente a seleção das imagens, a definição das condições da morfometria e a execução da medida, através do analisador de imagens\*, sendo estas realizadas de forma semi-automática.

Cada lâmina foi focalizada em objetiva de 40X, sendo a imagem captada pelo sistema e visualizada ao vivo na tela do monitor, que realizou a normalização e congelamento desta, podendo então ser devidamente mensurada.

A avaliação dos dados se fez através de uma lista de dados morfométricos, de maneira que para cada campo mensurado, os resultados obtidos eram transferidos para um programa de computador denominado Excel, formando um banco de dados para cada animal.

---

\*KS 400- Kontron Elektronik - Germany

A imagem do retículo foi superposta, aleatoriamente, em um campo histológico, considerando-se somente os pontos de intersecção entre os quadrados (105 pontos) que se sobrepunham, em nosso estudo, à matriz óssea mineralizada.

#### 4.2.8 Análise estatística

Os resultados obtidos após a densitometria e os estudos histomorfométricos de todas as lâminas foram submetidos a teste estatístico de análise de variância (ANOVA), teste de Tukey e teste “t” (Vieira<sup>82</sup>, 1986).

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Análise densitométrica**

A análise estatística dos valores densitométricos, obtidos de todos os grupos em estudo, permitiu avaliar a existência ou não, de alterações na radiopacidade das radiografias obtidas dos espécimes, nos diferentes tempos de sacrifício.

Os resultados indicaram uma diferença estatisticamente significativa ao compararmos os valores densitométricos dos animais dos grupos controle e controle tratado com calcitonina com relação aos dos grupos ovariectomizado e ovariectomizado tratado com calcitonina, a partir do segundo período de sacrifício (Figuras 8 a e b). Podemos observar que as médias das leituras densitométricas de ratas ovariectomizadas eram consistentemente inferiores aos dos primeiros grupos indicando menor mineralização na região do defeito ósseo.

Diferenças densitométricas estatisticamente significantes também foram observadas nos períodos de três e 14 dias entre os animais C e Ov sendo que os demais resultados não foram estatisticamente significantes (Figura 9).

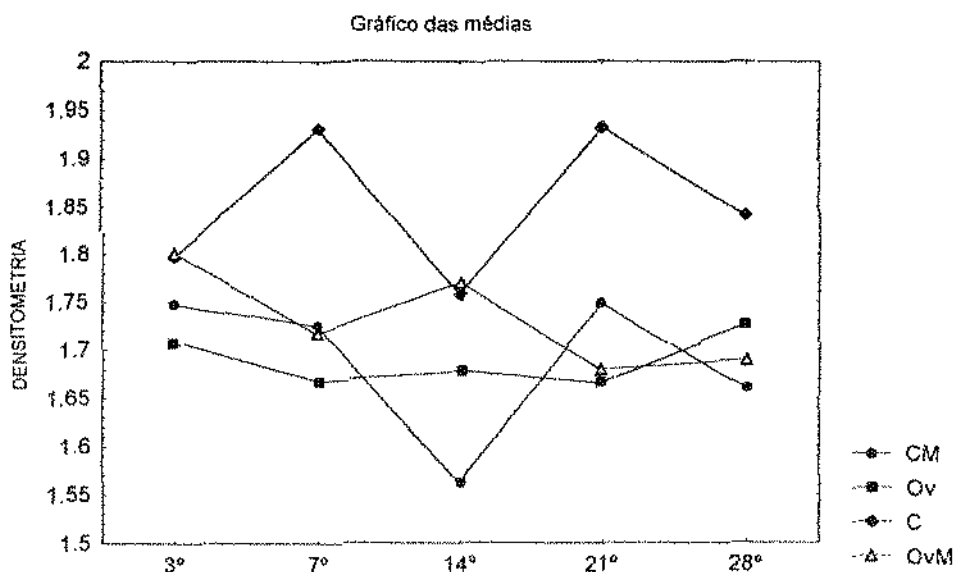
As médias utilizadas para análise estatística dos valores densitométricos, com os respectivos desvios-padrão, encontram-se resumidamente representados na Tabela 1.

Tabela 1- Valores médios e desvio padrão da análise densitométrica das radiografias dos animais dos grupos controle (C), controle com calcitonina (CM), ovariectomizados (Ov) e ovariectomizados com calcitonina (OvM) com relação à variável tempo

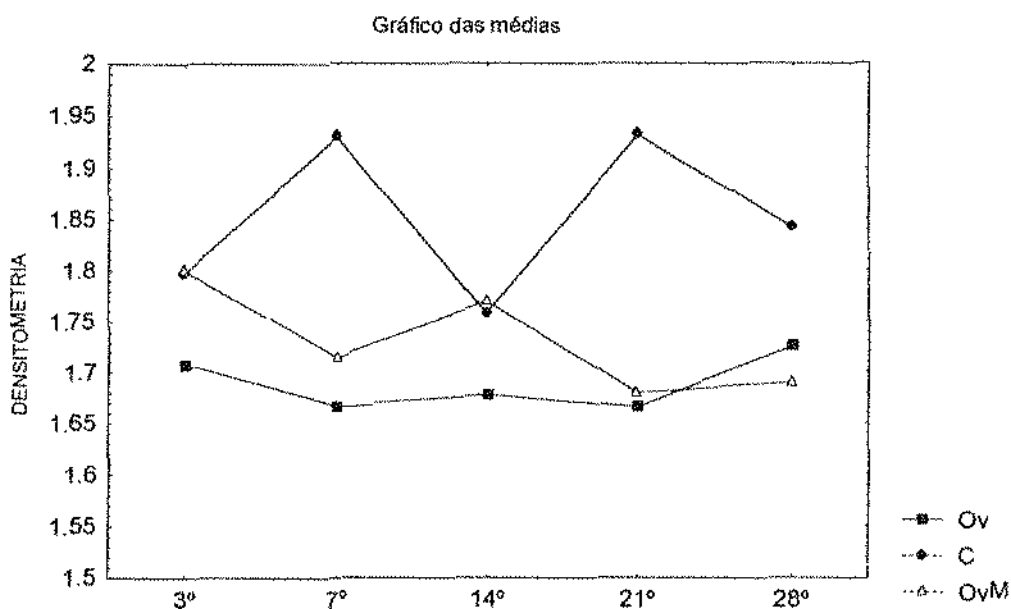
	<b>3 dias</b>	<b>7 dias</b>	<b>14 dias</b>	<b>21 dias</b>	<b>28 dias</b>
<b>C</b>	1,796 ± 0,22	1,93* ±0,13	1,758* ±0,12	1,932* ±0,17	1,842* ±0,07
<b>CM</b>	1,748 ±0,08	1,724 ± 0,02	1,562 ±0,23	1,748 ±0,08	1,66* ±0,09
<b>Ov</b>	1,806 ±0,07	1,716* ±0,11	1,77* ±0,06	1,68* ±0,05	1,69* ±0,07
<b>OvM</b>	1,708 ±0,03	1,668 ±0,04	1,678 ±0,08	1,666 ±0,05	1,726 ±0,05

\*dado estatisticamente significante (  $p \leq 0,05$  )





A



B

FIGURA 8 – Gráfico demonstrativo das médias dos valores densitométricos dos grupos: a) controle, controle tratado com calcitonina, ovariectomizado e ovariectomizado com calcitonina com relação aos períodos experimentais; b) somente os grupos controle, ovariectomizado e ovariectomizado com calcitonina.

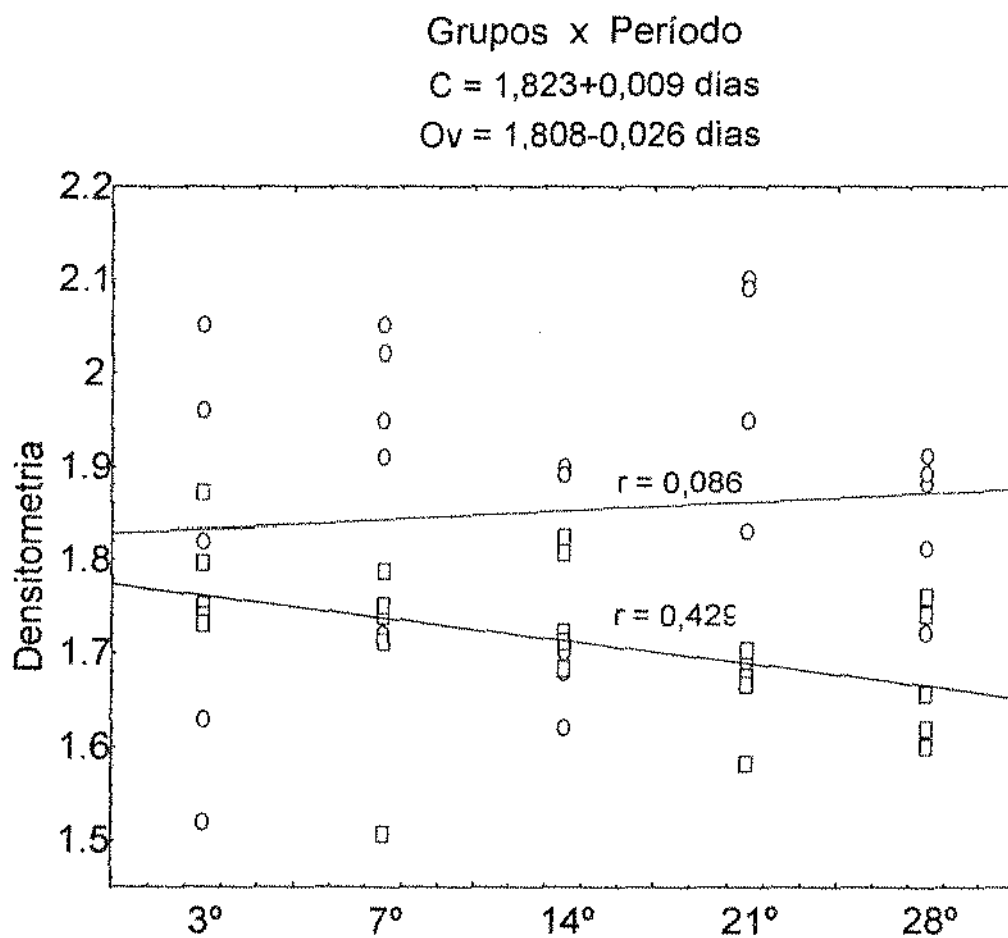


FIGURA 9 – Diagramas de dispersão, coeficientes de correlação linear ( $r$ ) e respectivas equações das retas de regressão referente às variáveis  $C$  e  $Ov$  versus período.  $s \dots$  significância estatística por meio do teste “ $t$ ” (*Student*) frente a hipótese de correlação populacional nula, ao nível de significância de 5%.

## 5.2 Análise histológica

### 5.2.1 Grupo controle (C)

Na análise histológica das mandíbulas dos animais do grupo controle (C), no período de três dias, observou-se presença de tecido de granulação com arranjo frouxo, bem aderido às bordas do defeito, avançando em direção ao interior da loja cirúrgica, restos de coágulo sanguíneo, além de algumas células inflamatórias preenchendo parcialmente a lesão. Verificou-se início de neoformação óssea, originada do periósteo. As margens do defeito são bem evidentes assim como, em alguns casos, são visíveis algumas esquirolas ósseas, resultantes do ato cirúrgico (Figura 10a).

No período de sete dias observou-se, nas margens da lesão, trabéculas ósseas neoformadas, imaturas, com osteoblastos volumosos, originadas do periósteo, o qual apresenta aumento na espessura, indicando intensa atividade proliferativa. O interior da loja cirúrgica encontrava-se totalmente preenchido por tecido de granulação denso, fibroso, bem celularizado e bem organizado (Figura 10b).

Por sua vez, no período de 14 dias, uma lâmina delgada de tecido ósseo neoformado pode ser observada unindo as duas margens da lesão. Esta estrutura apresenta trabéculas ósseas de aspecto imaturo, largas e entrelaçadas, com osteoblastos e osteócitos

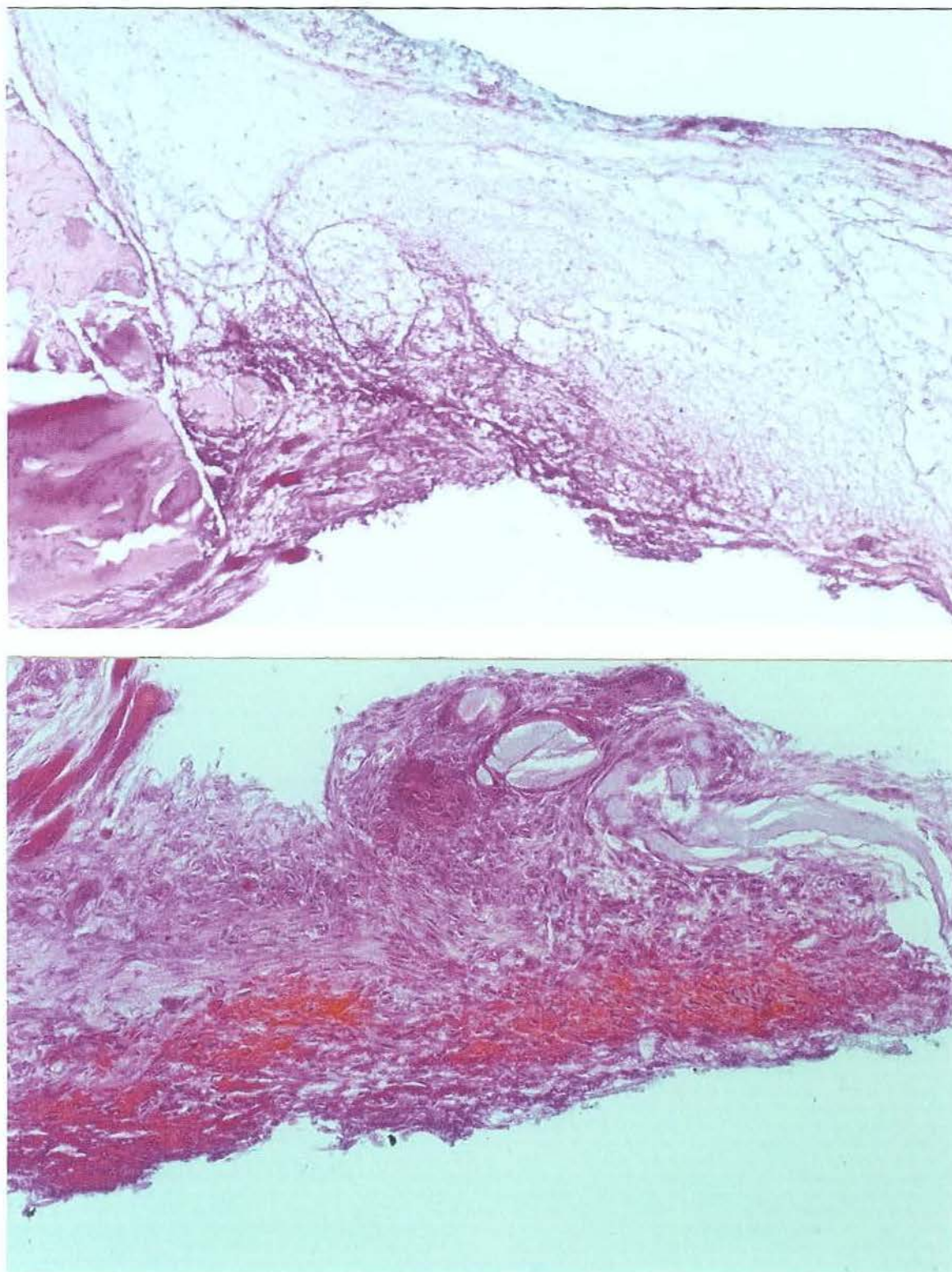


FIGURA 10 – Aspecto histológico do defeito ósseo do grupo controle: a) três dias lesão preenchida por tecido de granulação frouxo. HE – 100X; b) sete dias- lesão preenchida por tecido de granulação denso, fibroso e bem celularizado. HE – 200X.

volumosos. Esse tecido origina-se do periósteo, que se encontra ainda espessado, indicando grande atividade. A área central da lesão apresenta tecido medular permeando essas trabéculas ósseas (Figura 11a).

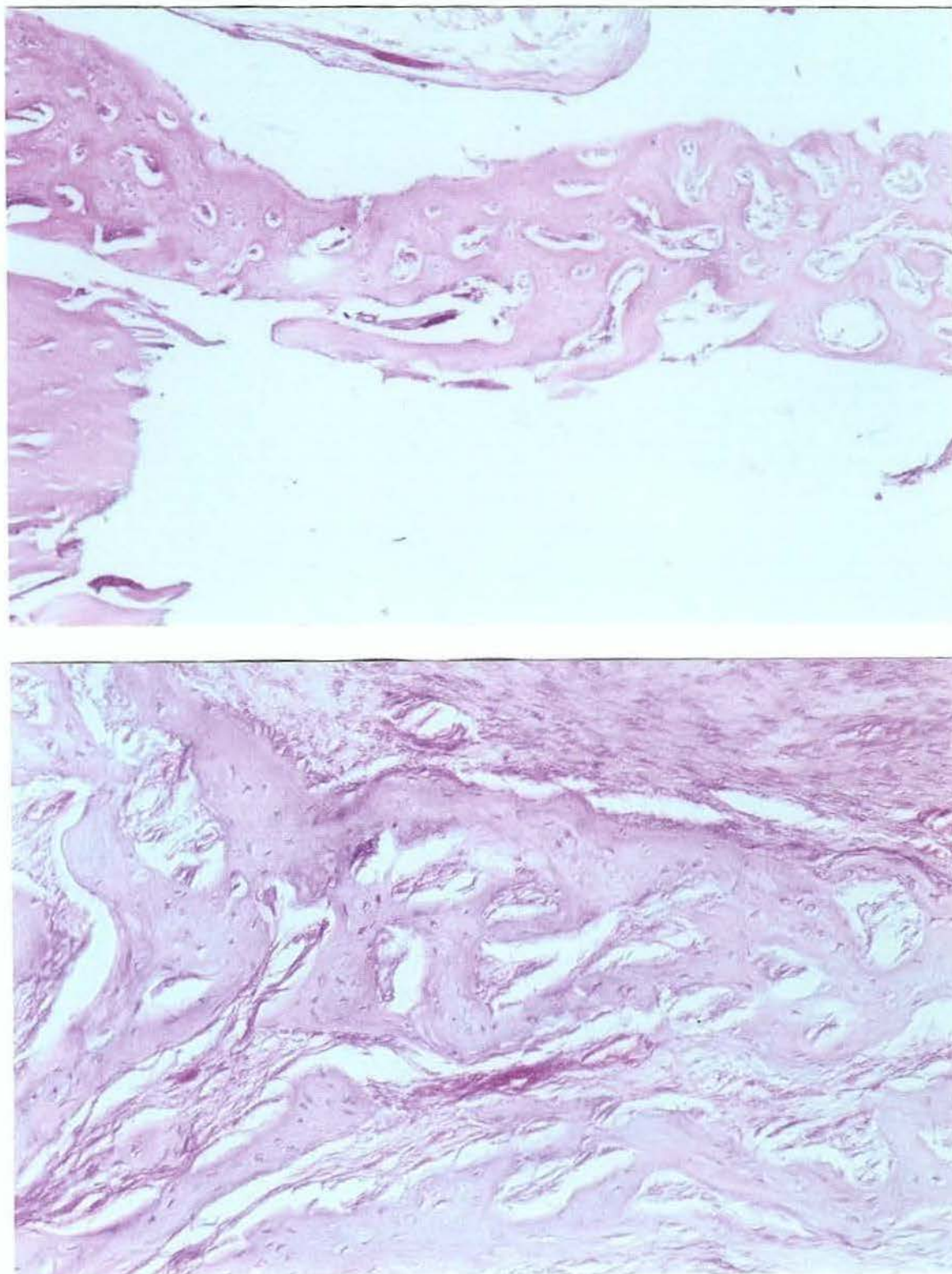
Na mandíbula dos animais desse grupo no período de 21 dias notava-se que a loja cirúrgica encontrava-se totalmente preenchida por trabéculas ósseas com aspecto imaturo, volumosas, com origem periosteal, semelhante ao período de 14 dias.

A análise dos espécimes, no período de 28 dias, revelou um trabeculado ósseo de aspecto mais maduro, principalmente nas áreas próximas às margem do defeito, com início de um arranjo lamelar. Por sua vez, no centro da lesão óssea, as trabéculas apresentavam ainda aspecto de osso novo, sem orientação lamelar, no entanto a espessura do osso mandibular era mais delgada quando comparada com as margens do defeito ósseo cirúrgico (Figura 11b).

### 5.2.2 Grupo controle tratado com calcitonina (CM)

No período de três dias evidenciava-se a presença de tecido de granulação com arranjo frouxo, celularizado, ocupando parcialmente a loja cirúrgica, além de coágulo sangüíneo, principalmente na área central do defeito.

Nas margens do defeito ósseo cirúrgico, no período de sete dias, verificava-se a presença de trabéculas ósseas neoformadas espessas, grande número de osteoblastos jovens e volumosos,



**FIGURA 11** – Aspecto histológico do defeito ósseo em animais controle: a) 14 dias – presença de lâmina de tecido ósseo proveniente das margens da lesão. HE – 100X; b) 28 dias – área central da loja cirúrgica com trabéculas espessas sem orientação lamelar. HE – 200X.

indicando grande atividade de aposição óssea. O periósteeo, proveniente de ambas as margens da lesão, também apresentava-se espessado e com trabéculas volumosas. A área central da loja cirúrgica encontrava-se preenchida por tecido de granulação mais denso e bastante celularizado, observando-se ainda, em alguns espécimes, restos de coágulo sangüíneo (Figura 12a).

No período de 14 dias a loja cirúrgica apresentava-se quase totalmente preenchida por trabéculas ósseas de aspecto imaturo, bem volumosas, entrelaçadas, com elevada quantidade de osteócitos e grandes espaços medulares preenchidos com tecido medular (Figura 12b).

Os espécimes estudados referentes ao período de 21 dias apresentavam-se semelhantes aos do período anterior, com alterações no espaço inter-trabecular, que se encontrava diminuído e com pouco tecido medular (Figura 13a).

No período de 28 dias observava-se o fechamento do defeito ósseo cirúrgico com um osso delgado, de aspecto lamelar, inclusive na região do periósteeo. Na área central da lesão ainda eram visíveis trabéculas espessas e bem entrelaçadas (Figura 13b).

### 5.2.3 Grupo de animais ovariectomizados sem tratamento (Ov)

Na análise histológica das ratas ovariectomizadas sem tratamento, no período de três dias, notava-se a presença de pouco tecido de granulação com arranjo frouxo, pouco celularizado,

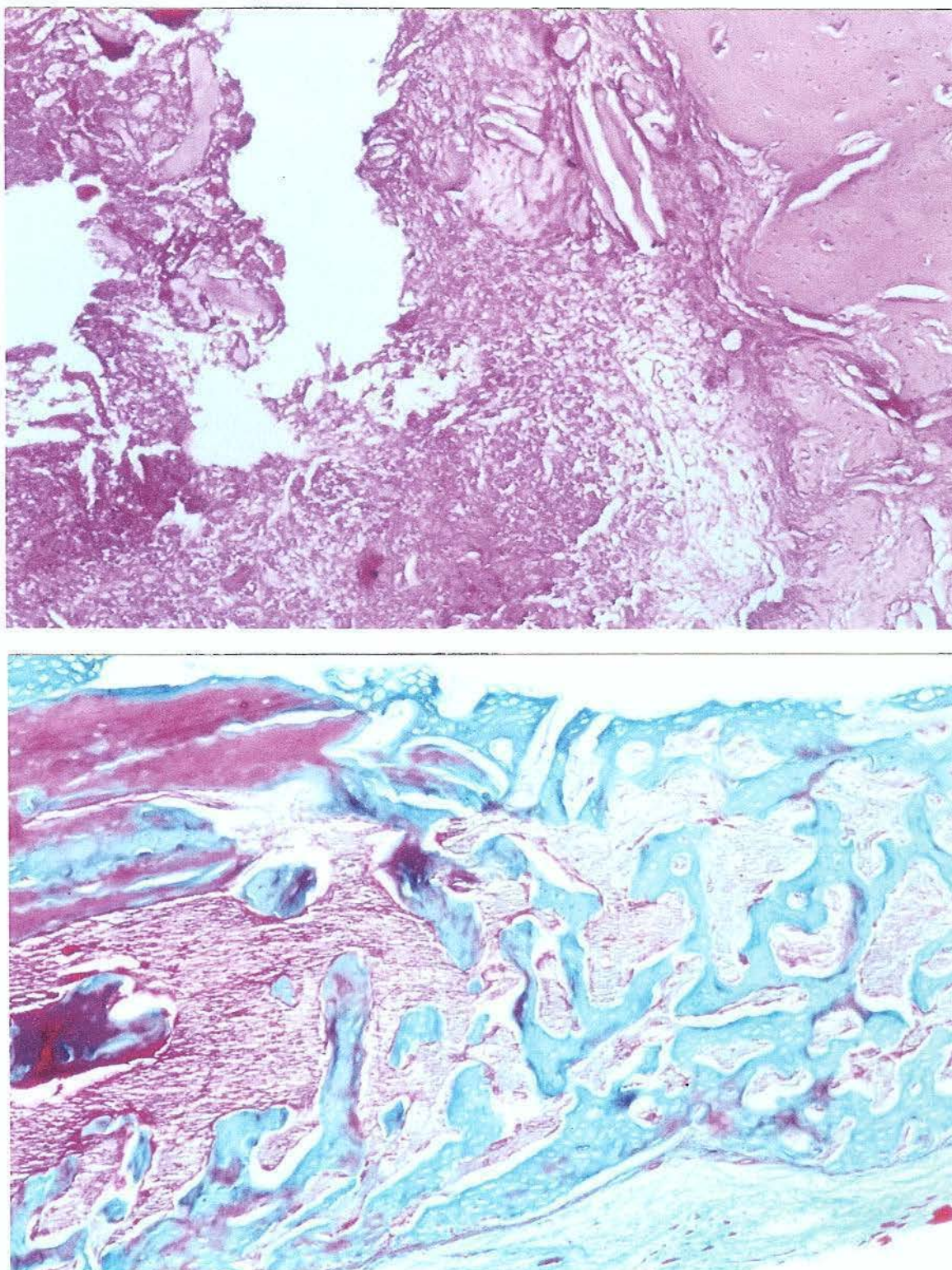


FIGURA 12 – Aspecto histológico do defeito ósseo do grupo controle tratados com calcitonina: a) sete dias – presença de tecido de granulação com arranjo frouxo e bem celularizado, início de formação de trabéculas ósseas nas margens da lesão. HE – 200X; b) 14 dias – lesão quase totalmente preenchida por trabéculas ósseas imaturas entrelaçadas. Tricrômico de Mallory – 100X.



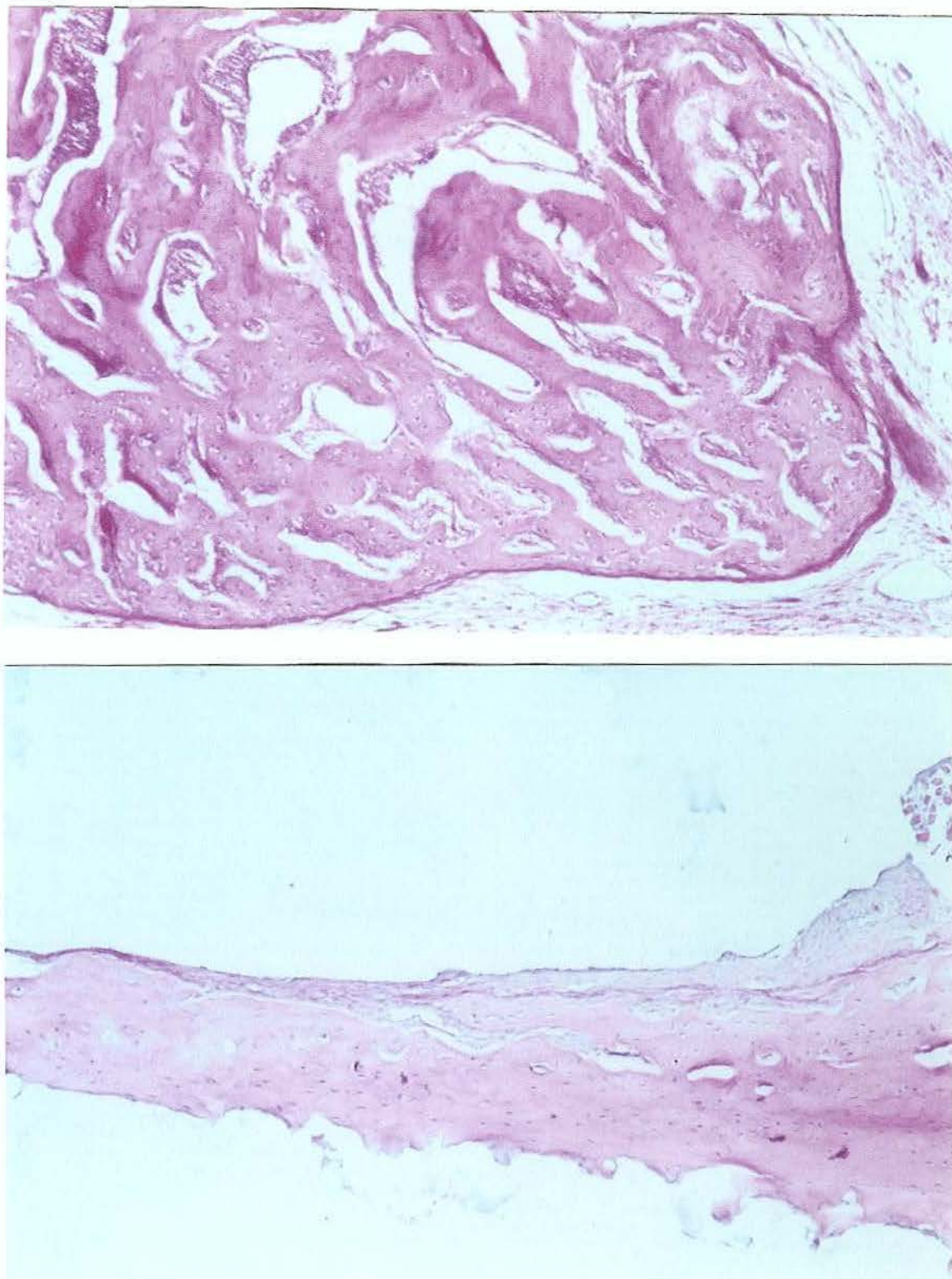


FIGURA 13 – Aspecto histológico do defeito ósseo do grupo controle tratados com calcitonina: a) 21 dias – trabéculas ósseas espessas entrelaçadas com pouco tecido medular. HE – 100X; b) 28 dias – lesão cirúrgica totalmente preenchida por osso com arranjo lamelar. HE – 100X.

preenchendo parcialmente a loja cirúrgica, além de coágulo sangüíneo, principalmente na área central do defeito.

Por sua vez, nos espécimes pertencentes ao período de observação de sete dias, a loja cirúrgica apresentava-se preenchida em sua maior parte por rede de fibrina com arranjo denso, nas áreas próximas as bordas da lesão e, frouxo, pouco celularizado, na região mais central. O periósteo, por sua vez, encontrava-se espessado, principalmente próximo as margens do defeito (Figura 14b).

No período de 14 dias, o periósteo apresentava-se espessado junto às margens do defeito, e nesta região podia-se observar neoformação óssea, com trabéculas volumosas, pouco espaço inter-trabecular e a presença de osteoclastos junto à superfície mineralizada (Figura 16b).

A presença de lacunas de reabsorção, com osteoclastos ativos, somente foi verificada nos animais ovariectomizados sem tratamento, estando mais evidenciadas aos 14 dias. A área central da lesão apresentava tecido de granulação denso e celularizado, com grande quantidade de osteoblastos (Figura 15a).

Na análise dos animais pertencentes ao período de 21 dias notava-se aumento na neoformação óssea, principalmente próxima às margens do defeito, com trabéculas volumosas, de aspecto imaturo e grande quantidade de tecido medular em seu interior. A área central da lesão óssea cirúrgica apresentava-se preenchida por tecido de granulação semelhante ao período de 14 dias (Figura 15b).

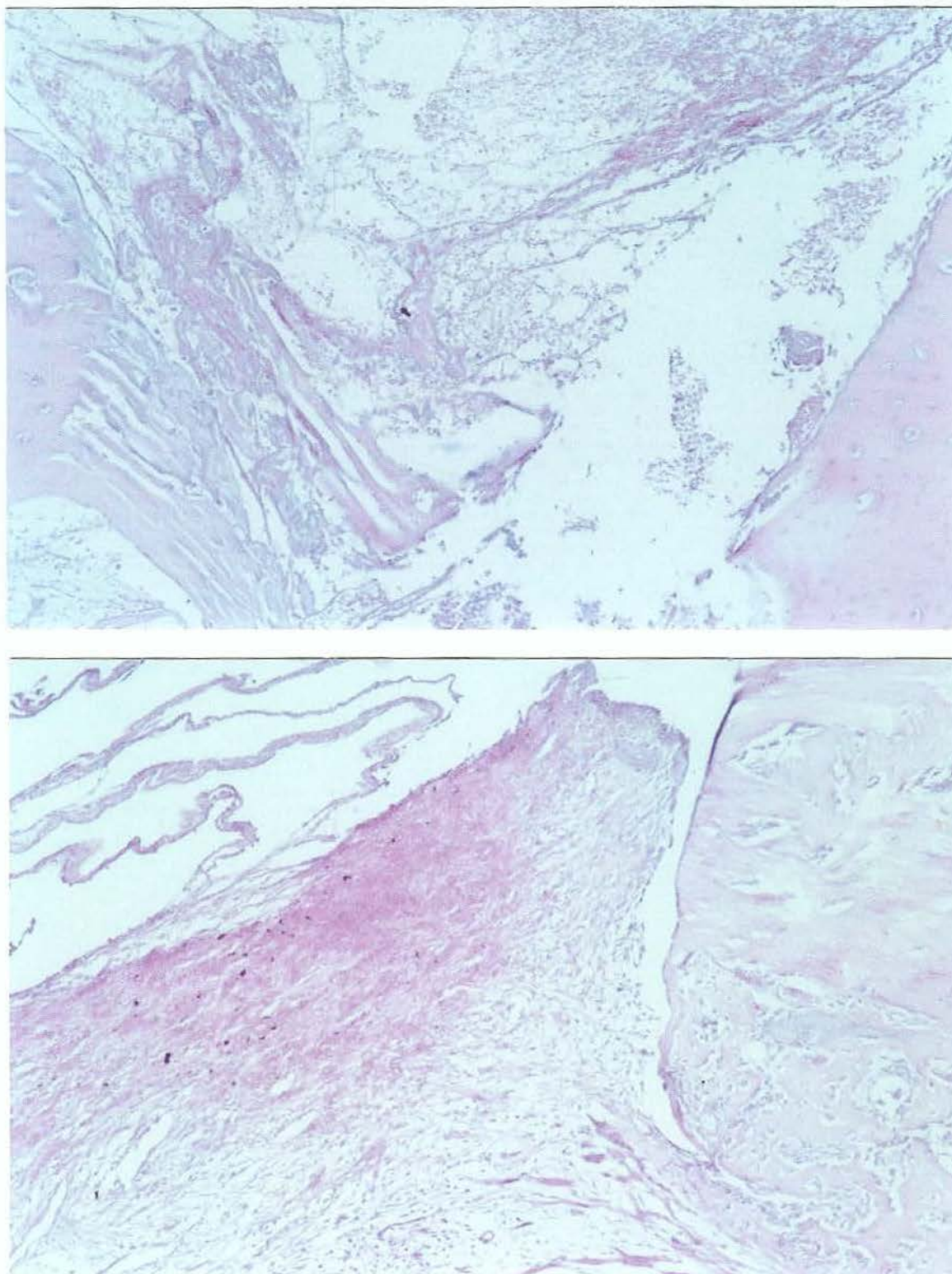


FIGURA 14 – Aspecto histológico do defeito ósseo do grupo ovariectomizado: a) três dias – presença de pouca quantidade de tecido de granulação com arranjo frouxo. HE – 100X; b) sete dias – rede de fibrina com arranjo denso e pouco celularizado. HE – 100X.

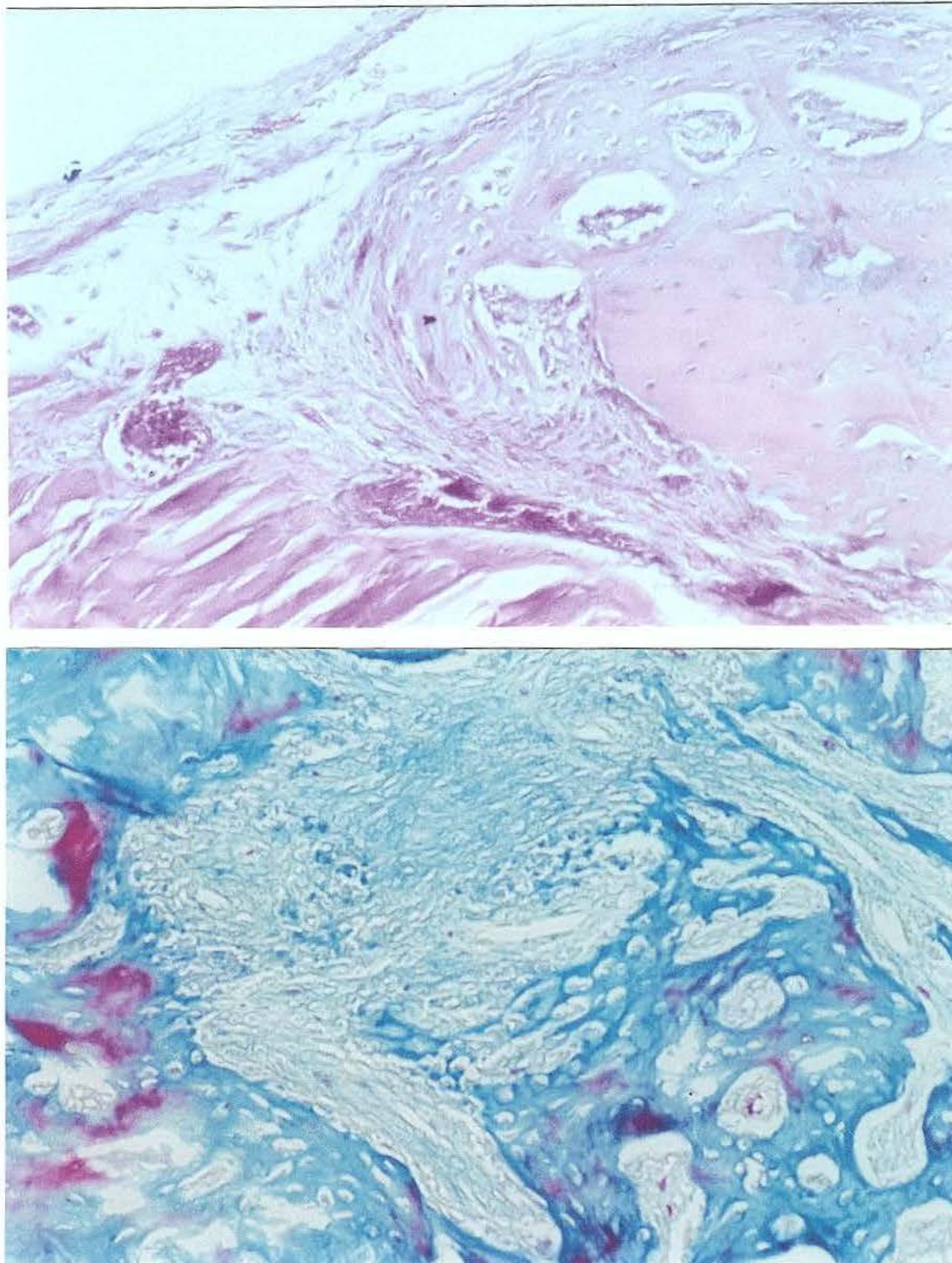


FIGURA 15 – Aspecto histológico do defeito ósseo do grupo ovariectomizado: a) 14 dias – espessamento do periósteo com início de neoformação na região central da lesão. HE – 200X; b) 21 dias – lesão preenchida por osso trabeculado de aspecto imaturo associado a tecido de granulação denso. Tricrômico de Mallory – 200X.

No período de 28 dias verificou-se que a lesão não se encontrava totalmente regenerada e a neoformação óssea existente apresentava aspecto imaturo, trabéculas não muito volumosas, pouco tecido medular inter-trabecular, originado do periósteo das bordas da loja cirúrgica. Na área central ainda pode-se observar tecido de granulação com arranjo denso e bem celularizado (Figura 16a).

#### 5.2.4 Grupo de animais ovariectomizados tratados com calcitonina (OvM)

Nos animais deste grupo, no período de três dias, observou-se a presença de tecido de granulação com arranjo denso e celularizado preenchendo toda a loja cirúrgica, semelhante ao relatado para o grupo controle. Próximo às bordas da lesão era visível a presença de grande número de osteoblastos volumosos. Em alguns espécimes havia a presença de algumas esquirolas ósseas decorrentes do ato cirúrgico.

Por sua vez, a análise dos espécimes pertencentes ao período de sete dias apresentou neoformação óssea, principalmente nas bordas da lesão, originada no periósteo espessado, com trabéculas volumosas e pouco tecido medular (Figura 17a). Nota-se também a presença abundante de osteoblastos permeando o tecido de granulação denso na região central da loja cirúrgica.

Em todas as mandíbulas dos animais do período de 14 dias observava-se que o defeito ósseo cirúrgico estava quase totalmente

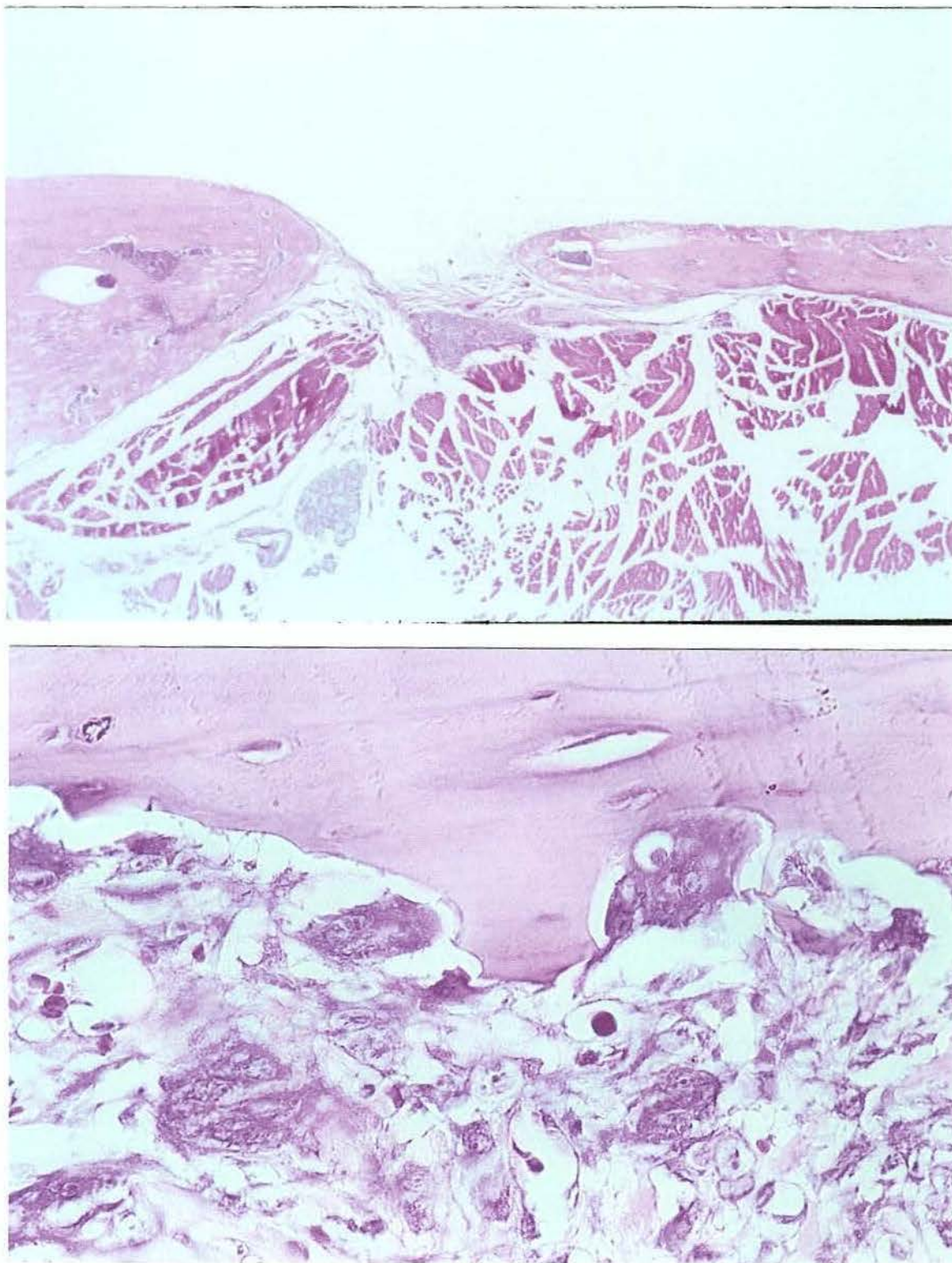


FIGURA 16 – Aspecto histológico do defeito ósseo em animais do grupo ovariectomizado: a) 28 dias – a loja cirúrgica não se mostra totalmente preenchida por osso neoformado. HE – 25X; b) 14 dias – presença de várias lacunas de reabsorção com osteoclasto ativos. HE – 630X.

regenerado, com trabeculado ósseo de aspecto imaturo, entrelaçado e pouco tecido medular entre as trabéculas. O tecido de granulação que se encontra na pequena área central do defeito apresentava grande quantidade de osteoblastos, arranjados em ninhos celulares (Figura 17b).

Nos período de 21 e 28 dias o defeito ósseo cirúrgico está totalmente regenerado em todos os espécimes, com trabeculado ósseo de aspecto lamelar próximo às margens da lesão e imaturo, entrelaçado e com pouco tecido medular entre as trabéculas na região central da loja cirúrgica. Ainda se observam osteoblastos volumosos, além de muitos osteócitos (Figuras 18 a e b).

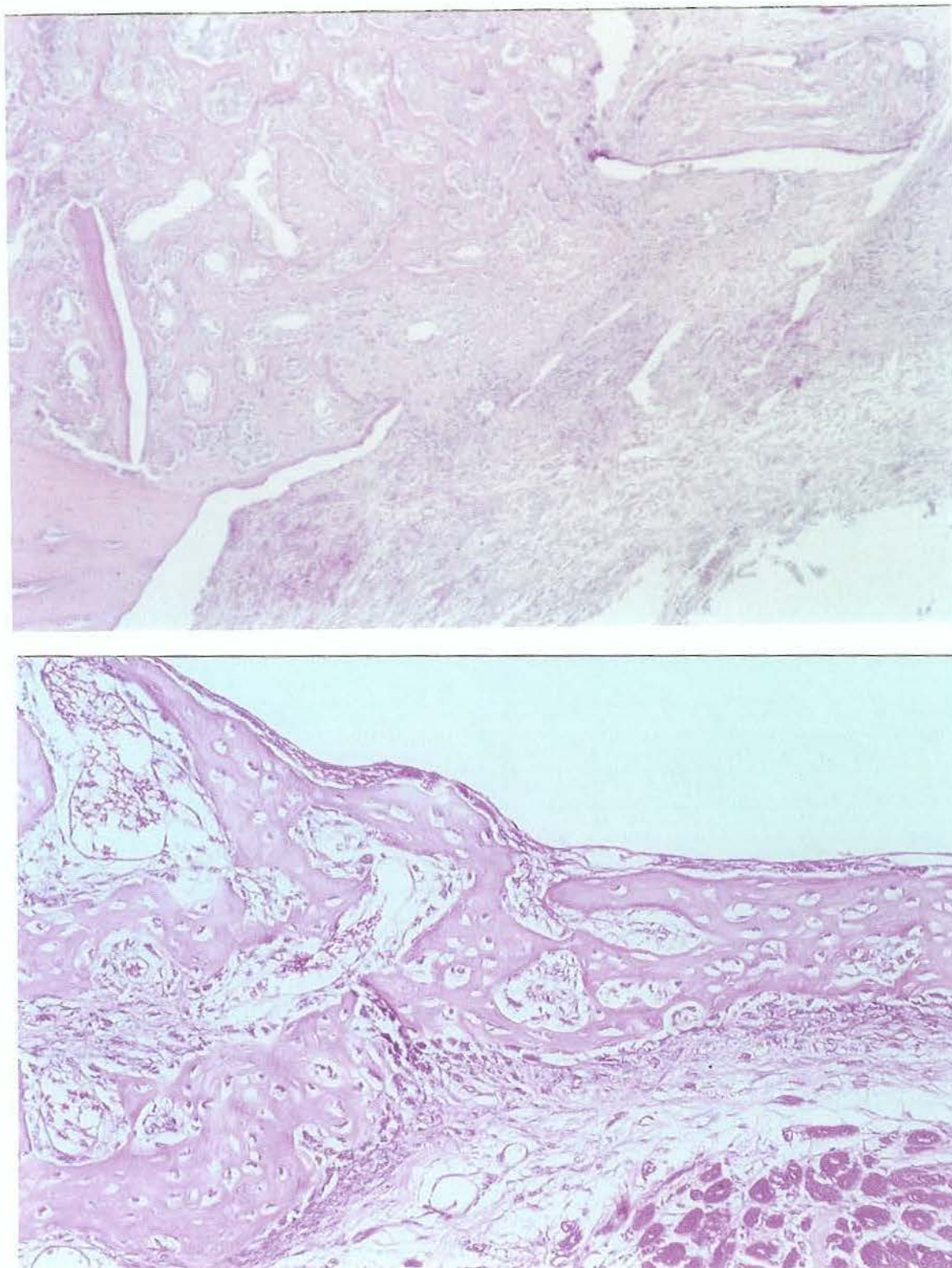


FIGURA 17 – Aspecto histológico do defeito ósseo do grupo ovariectomizado tratado com calcitonina: a) setes dias - neoformação óssea nas bordas da lesão. HE - 100X; b) 14 dias - loja cirúrgica quase totalmente preenchida por trabeculado ósseo imaturo e presença de numerosos osteoblastos. HE - 200X.



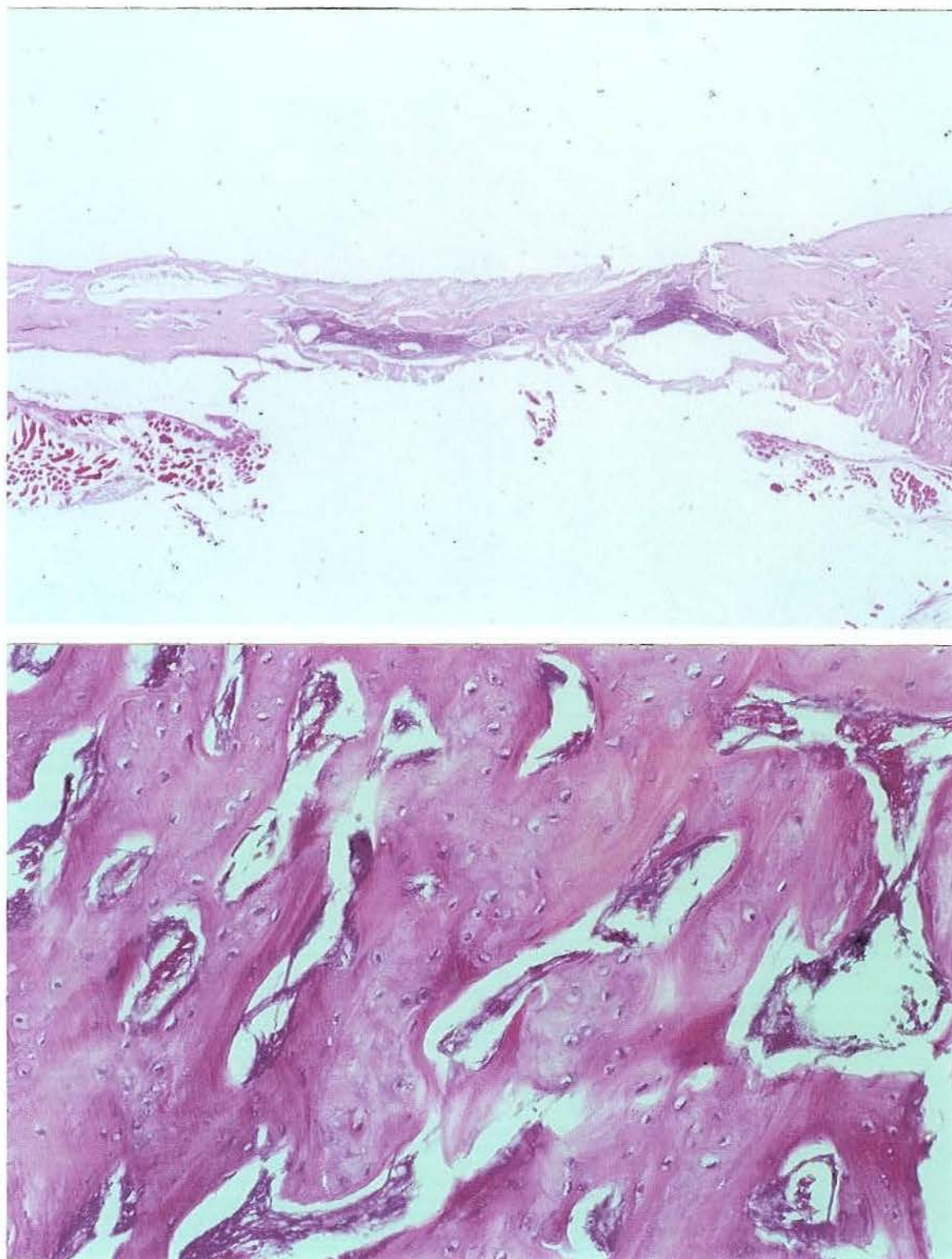


FIGURA 18– Aspecto histológico do defeito ósseo em animais ovariectomizados tratados com calcitonina: a) 21 dias - tecido ósseo com arranjo ora lamelar ora compacto preenchendo a região do defeito. HE – 25X; b) 28 dias –trabéculas ósseas maduras, com pouco tecido medular. HE – 200X.

### 5.3 Análise histomorfométrica

As avaliações histomorfométricas revelaram que diferenças estatisticamente significantes foram observadas entre os grupos C, CM e Ov, em alguns períodos, enquanto que entre os grupos C e OvM o resultado não foi significativo.

Os resultados da análise histomorfométrica encontram-se resumidos na Tabela 2 e nas Figuras 19, 20 e 21.

Tabela 2- Valores médios e desvio padrão dos dados obtidos após análise histomorfométrica dos espécimes estudados de acordo com grupo e período.

	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
<b>C</b>	12,8 ± 3,08	52,4 ± 6,16	61,75 ± 4,75	73,65 ± 4,97	78,50 ± 7,05
<b>CM</b>	14,0 ± 2,71	70,7* ± 10,96	76,8* ± 13,48	76,3 ± 6,66	92,5* ± 2,92
<b>Ov</b>	9,65 ± 6,21	30,05* ± 7,55	46,8* ± 4,45	67,20* ± 6,12	75,65 ± 5,52
<b>OvM</b>	14,4 ± 4,58	45,55 ± 15,65	65,1 ± 7,31	77,60 ± 7,07	78,05 ± 6,82

\*dado estatisticamente significativo ( $p \leq 0,05$ )

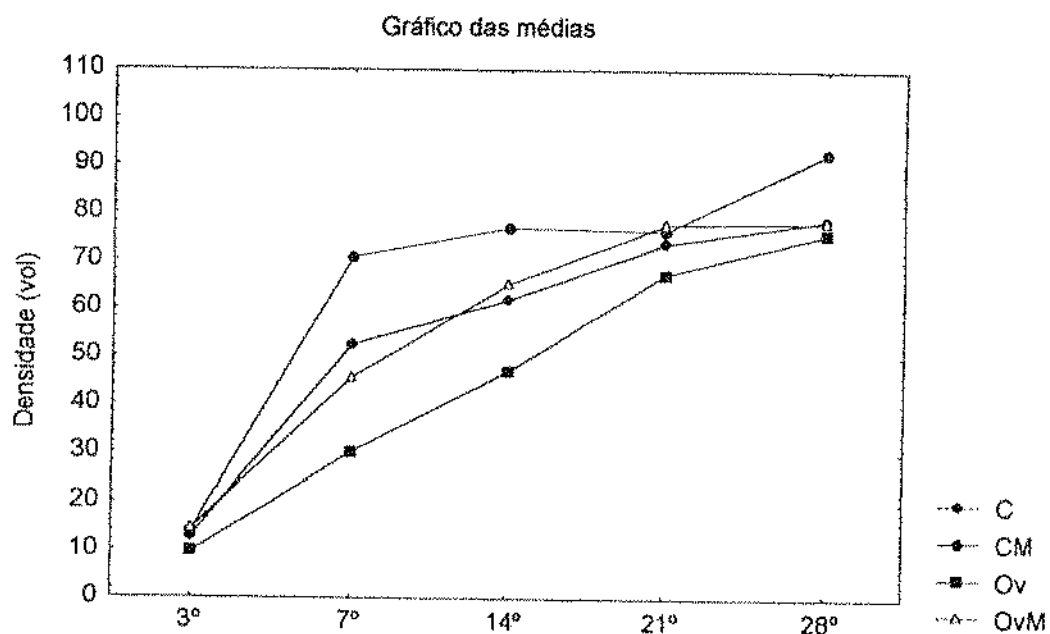


FIGURA 19-- Gráfico demonstrativo das médias histomorfométricas dos grupos controle, controle tratado com calcitonina, ovariectomizado e ovariectomizado com calcitonina com relação aos períodos experimentais (densidade/vol).

C= Controle

CM= Controle tratado com Miacalcic

Ov= Ovariectomizados

OvM= Ovariectomizado tratado com Miacalcic

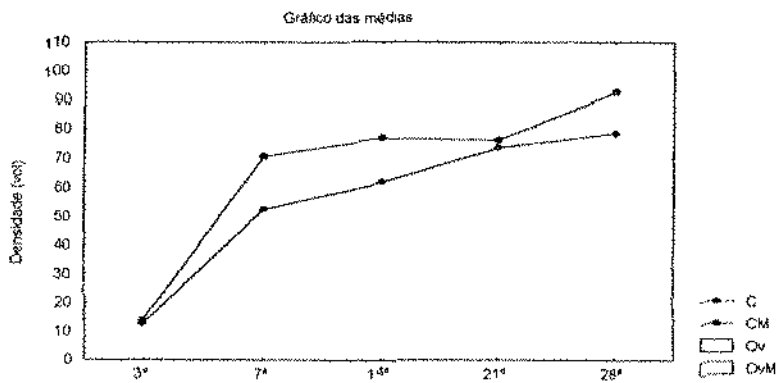
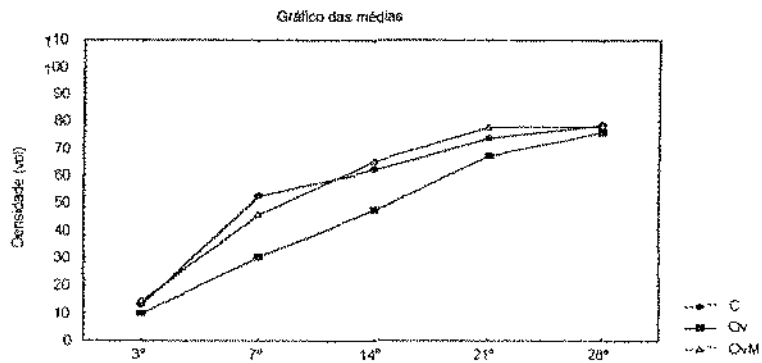


FIGURA-20 Histomorfometria entre os diversos grupos com relação à variável tempo.

C= Controle  
 Ov= Ovariectomizados  
 OvM= Ovariectomizado tratado com Miacalcic  
 CM= Controle tratado com Miacalcic

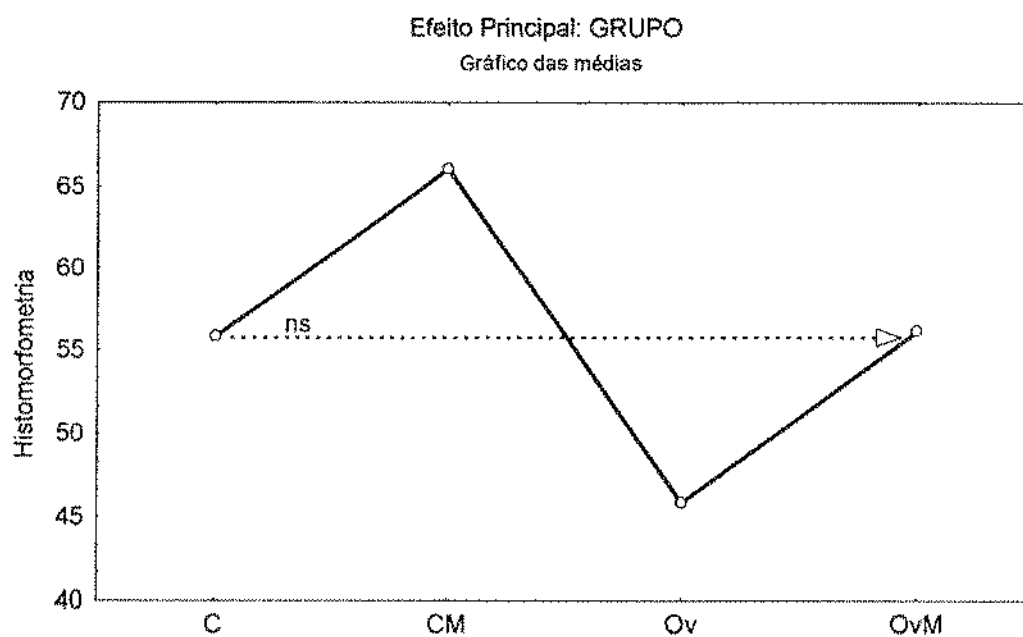


FIGURA 21- Valores médios da análise histomorfométrica para os grupos controle (C), controle tratado com calcitonina (CM), ovariectomizado (Ov) e ovariectomizado com calcitonina (OvM).

Da observação dessas Figuras pode-se argumentar que a regeneração óssea apresentada pelos animais pertencentes aos grupos controle e ovariectomizados tratados com calcitonina foi muito semelhante, fato expressado pela análise estatística dos valores histomorfométricos.

Por sua vez as ratas que sofreram apenas a ovariectomia não apresentaram, em nenhum momento, regeneração da lesão num padrão semelhante ao dos animais do grupo controle.

Ainda, observando-se a Figura 20 nota-se que os animais do grupo controle aos quais foi administrado calcitonina, tiveram valores histomorfométricos superiores aos do grupo controle sem tratamento, indicando uma ação do medicamento favorecendo a regeneração da lesão óssea.

## 6 DISCUSSÃO

A osteoporose constitui um problema mundial cuja importância aumentará na medida em que a população do planeta cresça e envelheça. É caracterizada por uma redução na massa e na densidade óssea e pela alteração na estrutura normal do tecido ósseo (Delmas & Fraser<sup>24</sup>, 1999).

Quando os primeiros sintomas da osteoporose (dor e fraturas) começam a se manifestar, o processo patológico encontra-se em fase muito avançada.

Avaliar a composição e densidade do tecido ósseo, em pacientes com osteoporose, através de métodos não invasivos, tem sido alvo de inúmeras pesquisas com resultados conflitantes (Carvalho et al.<sup>15</sup>, 1980; Riggs et al.<sup>64</sup>, 1986; Kribbs<sup>42</sup>, 1990; Bodner et al.<sup>11</sup>, 1993; LeGeros et al.<sup>44</sup>, 1993; Chen et al.<sup>18</sup>, 1997).

O conhecimento das possíveis implicações clínicas que estão associadas às variações aferidas na densitometria óssea, principalmente em pacientes osteoporóticos, tem incentivado a realização de inúmeros estudos nessa área (Bodner et al.<sup>11</sup>, 1993; Sandberg et al.<sup>67</sup>, 1993; LeGeros et al.<sup>44</sup>, 1993; Chen et al.<sup>18</sup>, 1997; Southard et al.<sup>74</sup>, 2000).

A habilidade da densitometria em detectar neoformação óssea foi demonstrada neste estudo, resultados que estão de acordo com os obtidos por Carvalho et al.<sup>15</sup> (1980) e Bodner et al.<sup>11</sup>

(1993), que também obtiveram dados comparáveis entre os achados histológicos e densitométricos.

Nossos resultados também estão de acordo com os obtidos por diversos autores (Riggs<sup>64</sup>, 1986; Von Wöern<sup>83</sup>, 1988; Kribbs<sup>42</sup>, 1990; Bodner et al.<sup>11</sup>, 1993; Chen et al.<sup>18</sup>, 1997) que indicam a validade da utilização de métodos radiográficos para avaliação de neoformação e regeneração óssea. Resultados estatisticamente significantes foram evidenciados através da análise dos valores obtidos das leituras densitométricas de radiografias das mandíbulas de animais do grupo controle e ovariectomizados, indicando que é possível a comparação do ganho ósseo entre as duas condições clínicas, mesmo em se tratando de animais de pequeno porte, como os utilizados nesta pesquisa.

Além disso também confirmam os relatos por outros autores (Wronski et al.<sup>86</sup>, 1988; Tanaka et al.<sup>78</sup>, 1998; Arisawa et al.<sup>4</sup>, 2000; Silva<sup>71</sup>, 2000) de que o modelo experimental utilizado, ratas ovariectomizadas, simula condição semelhante à observada em humanos, nos quais a deficiência de hormônios esteróides determina uma osteopenia detectável após curto período de tempo.

No nosso estudo a regeneração das lesões ósseas nas ratas ovariectomizadas ocorreu de forma mais lenta, provavelmente por aumento na atividade reabsortiva dos osteoclastos, já que somente nesse grupo foram visualizadas, através da análise histológica, lacunas de reabsorção com células ativas.

A associação temporal da osteoporose com deficiência de estrogênio, geralmente relacionada com o advento do climatério



ou a ooforectomia, determinou que inúmeros estudos fossem realizados visando a descoberta de substâncias que inibissem ou pelo menos reduzissem os efeitos adversos decorrentes dessa nova situação metabólica (Ziegler et al.<sup>90</sup>, 1972; MacYntyre et al.<sup>49</sup>, 1980; Hedlund et al.<sup>35</sup>, 1983; Grodstein et al.<sup>31</sup>, 1996; Siminoski & Josse<sup>72</sup>, 1996; Combe et al.<sup>20</sup>, 1997; Arisawa et al.<sup>4</sup>, 2000; Silva<sup>71</sup>, 2000).

Analisando-se os dados densitométricos e histomorfométricos obtidos do grupo de animais ovariectomizados (Ov), observamos que estes eram numericamente inferiores quando comparados aos dos demais grupos, indicando que essa condição retarda ou impossibilita a regeneração óssea adequada.

Histologicamente, observamos que as trabéculas ósseas estavam mais dispersas, eram menos volumosas com a presença de pequena quantidade de tecido adiposo no espaço medular, o que pode sugerir alteração na morfologia desse tecido após a ovariectomia, decorrente da diminuição de hormônios esteróides circulantes (Richelson et al.<sup>63</sup>, 1984; Buffo et al.<sup>13</sup>, 1996; Arisawa et al.<sup>4</sup>, 2000). Estes exerceriam um papel controlador da reabsorção óssea orquestrando uma rede de fatores locais que atuam na osteoclastogênese (Manolagas & Jilka<sup>51</sup>, 1992).

As terapias mais utilizadas na prevenção da osteoporose têm sido a reposição hormonal, ou estrogênica, e, para mulheres com restrições à esta terapia indica-se o uso de calcitonina ou de substâncias, como os bifosfonatos, por serem medicamentos que diminuem a taxa de reabsorção óssea ( Siminoski & Josse<sup>72</sup>, 1996; Pereira et al.<sup>59</sup>, 1997; Arisawa et al.<sup>4</sup>, 2000; Bandeira et al.<sup>8</sup>, 2000).

Nossos resultados são concordantes com pesquisas que relatam ganho ósseo após a administração de calcitonina, tanto por via intra-muscular quanto por *spray* nasal, sendo ambas equivalentes, utilizando diferentes modelos animais e em diferentes regiões anatômicas (Combe et al.<sup>20</sup>, 1997; Badurski et al.<sup>7</sup>, 1991; Pereira et al.<sup>59</sup>, 1997; Tanaka et al.<sup>78</sup>, 1998; Arisawa et al.<sup>4</sup>, 2000).

Arisawa et al.<sup>4</sup>, 2000, estudando a ação da calcitonina na regeneração de defeitos ósseos cirúrgicos em tíbias de ratas ovariectomizadas, observaram que defeitos realizados em ossos longos não necessitam a utilização de métodos físicos ou barreiras que impeçam a invasão de tecido mole na lesão.

Resultados semelhantes foram relatados por Silva<sup>71</sup> (2000), após administração de alendronato sódico, um bifosfonato, em tíbias de ratas ovariectomizadas.

Por sua vez, Almeida et al.<sup>3</sup>, 2000, após análise de cortes histológicos de defeitos ósseos cirúrgicos em mandíbulas de ratos machos normais, relataram que as lojas cirúrgicas apresentavam pouca quantidade de tecido ósseo neoformado e grande quantidade de tecido conjuntivo. Isto demonstra que o tecido conjuntivo tende a competir com células ósseas para preenchimento de um espaço vazio, proliferando e se diferenciando com maior rapidez, impedindo dessa forma que a osteogênese ocorra (Dahlin et al.<sup>22</sup>, 1988; Linde et al.<sup>46</sup>, 1993; Pecora et al.<sup>58</sup>, 1997).

Em nosso estudo, a análise dos resultados histomorfométricos somada à observação histológica do grupo OvM nos permitiu concluir que a calcitonina realmente inibiu a reabsorção

óssea. A observação de osteoclastos volumosos em lacunas de reabsorção ocorreu somente nos espécimes ovariectomizados sem tratamento, grupo este que apresentou diminuição da densidade óssea quando comparado com animais do grupo controle. A calcitonina, por atuar diretamente sobre os osteoclastos inibindo sua atividade reabsortiva, reverteria a queda na densidade óssea, permitindo que as ratas desse grupo apresentassem um processo regenerativo normal.

Portanto os animais ovariectomizados tratados com calcitonina (OvM) deveriam apresentar um processo de regeneração da lesão óssea cirúrgica semelhante ao do grupo controle. Este fato foi confirmado em nossa pesquisa, tanto pela análise histológica como pelos dados histomorfométricos.

Segundo Buffo et al.<sup>13</sup>, (1996), um medicamento é eficaz no tratamento da osteoporose se determinar um aumento da massa óssea clinicamente relevante, sem comprometer suas características histológicas, resultando em aumento na resistência mecânica do tecido esquelético. Nosso estudo está de acordo com essa colocação, pois a administração de calcitonina determinou que o processo de regeneração de lesão óssea seguisse um padrão semelhante ao apresentado pelo grupo controle.

O primeiro objetivo de qualquer estratégia terapêutica da osteoporose é manter ou elevar a densidade óssea num nível de segurança e, o segundo, prevenir alterações qualitativas no tecido esquelético, devido à fragmentação das trabéculas, que determinaria uma redução na resistência do osso. A calcitonina cumpriu as duas funções de maneira adequada, apresentando ganho ósseo e mantendo a

composição do osso neoformado semelhante ao existente no local anteriormente.

O processo de regeneração do defeito ósseo cirúrgico dos animais não ovariectomizados tratados com calcitonina (CM) ocorreu num tempo menor (14 dias) do que nos demais grupos, apresentando um trabeculado ósseo semelhante ao dos animais controle. Portanto a calcitonina mostrou exercer uma ação positiva na neoformação óssea nesse grupo de animais, resultado semelhante ao relatado por Weiss et al.<sup>85</sup> (1981), Reginster et al.<sup>62</sup> (1992) e Pereira et al.<sup>59</sup> (1997).

Segundo von Wowern<sup>83</sup> (1988), a mandíbula parece ser o osso do esqueleto humano mais exposto a uma diminuição severa no seu conteúdo ósseo com o avançar da idade e também na ausência de hormônios gonadais. Estudos realizados por Kribbs<sup>42</sup> (1990) e LeGeros & Craig<sup>44</sup> (1993), corroboraram essa afirmação ao compararem a densidade óssea de mandíbulas de mulheres normais e no climatério, relatando que estas últimas apresentavam menor conteúdo ósseo mineralizado.

Esses autores ressaltaram ainda, que a perda óssea decorrente da menopausa é mais rápida e importante do que a observada com o avançar da idade, fato que explicaria o processo mais lento que ocorre no sexo masculino.

As implicações clínicas da diminuição de densidade óssea na região craniomandibular são evidentes, refletindo-se em alterações morfofuncionais tais como a perda dentária apresentada pelas mulheres no climatério e diminuição dos processos alveolares

(Kribbs<sup>42</sup>, 1990), além de interferir na regeneração de defeitos ósseos císticos, lesões periapicais, etc. (Dahlin et al.<sup>23</sup>, 1994).

Em nosso estudo associamos a existência de um defeito ósseo na mandíbula, realizado em animais com/ou sem deficiência hormonal, utilizando a técnica de regeneração óssea guiada concomitante à administração de uma substância com ação anti-reabsortiva.

A diminuição na densidade óssea dessa região anatômica específica assume papel relevante tanto por sua associação clínica à doenças deformantes tais como nos casos de carcinomas, ameloblastomas, implantes, problemas periodontais e traumatismos acidentais, como por apresentar aspectos de estética e morfofuncionais muito importantes, definindo o perfil de um indivíduo (Szachowics<sup>76</sup>, 1995).

A utilização de barreiras físicas em estudos experimentais mostra que o resultado da regeneração óssea depende do tipo de tecido que vai colonizar inicialmente a área da ferida cirúrgica (Linghorne<sup>47</sup>, 1960; Macedo<sup>48</sup>, 1999). Essas barreiras são colocadas sobre o defeito adaptando-se às superfícies ósseas adjacentes, criando um espaço no qual o coágulo sanguíneo permanece estabilizado (Linghorne<sup>47</sup>, 1960; Linde et al.<sup>46</sup>, 1993; Dahlin et al.<sup>23</sup>, 1994) proporcionando maiores condições para acúmulo de fatores de crescimento e outras substâncias ligadas à osteogênese (Manolagas<sup>50</sup>, 1995; Manolagas & Jilka<sup>51,52</sup>, 1992, 1995; Teitelbaum<sup>79</sup>, 1993).

O sucesso na utilização dessas barreiras físicas biocompatíveis e oclusivas no tratamento de diversos tipos de defeitos ósseos (Dahlin et al.<sup>22</sup>, 1988; Dahlin et al.<sup>23</sup>, 1994; Schmid et al.<sup>69</sup>, 1997) é devido à formação naquela região de um compartimento no qual células osteogênicas e angiogênicas originárias das margens do defeito proliferem repovoando e regenerando a lesão com tecido ósseo neoformado, prevenindo a invasão de células competidoras não osteogênicas dos tecidos moles vizinhos (Alberius et al.<sup>2</sup>, 1992; Dahlin et al.<sup>22</sup>, 1988; Dahlin et al.<sup>23</sup>, 1994).

O planejamento de nosso estudo possibilitou avaliarmos com segurança se alterações nos níveis hormonais, decorrentes da ovariectomia, influenciariam a regeneração de um defeito ósseo cirúrgico na região mandibular e, ainda, se a administração de uma substância sabidamente antireabsortiva nas mesmas condições poderia reverter à resposta ou não.

Nossos resultados demonstraram que a ovariectomia em ratas sexualmente maduras determina uma situação de perda de densidade óssea semelhante ao observado em mulheres no climatério ou ooforectomizadas; revela também que, nesta situação a resposta de neoformação de tecido ósseo encontra-se prejudicada com relação a indivíduos normais.

Pudemos concluir ainda que a administração de calcitonina produz uma ação positiva no processo de regeneração de lesões ósseas tanto em animais ovariectomizadas como em animais com níveis circulantes normais de hormônios gonadais.

A ação da calcitonina sobre os osteoclastos já foi relatada em vários estudos experimentais tanto *in vivo* como *in vitro* (Akamine et al.<sup>1</sup>, 1994; Farley et al.<sup>26</sup>, 1988; Feldman et al.<sup>27</sup>, 1980; Hedlund et al.<sup>35</sup>, 1983; Lee et al.<sup>43</sup>, 1992), mas como explicar a atividade dessa substância em animais normais, nos quais teoricamente não haveria alta atividade osteoclástica ?

Badurski et al.<sup>7</sup>, (1991) sugerem um efeito estimulador da calcitonina na produção de prostaglandina E<sub>2</sub> e colágeno tipo II, *in vitro*, por mecanismos ainda não elucidados. A prostaglandina E<sub>2</sub> inibe significativamente a reabsorção óssea em cultura de células, agindo diretamente sobre os osteoclastos (Silva<sup>71</sup>, 2000). Segundo Szachowicz<sup>76</sup>, (1995), a cascata de eventos da regeneração óssea é disparada por uma proteína óssea-indutiva, a proteína morfogenética óssea (BMP), que fica armazenada na matriz orgânica do osso sendo a responsável pela indução da diferenciação de células pluripotentes em células formadoras de osso, agindo sincronizadamente com fatores de crescimento que modulam essa resposta. Farley et al.<sup>26</sup> (1988) afirma que a calcitonina tem um efeito agudo indutivo sobre a linhagem de células osteoblásticas que resulta na proliferação destas, que somado a ação antireabsortiva da calcitonina, poderia explicar a resposta obtida no grupo controle tratado com essa substância.

A osteoporose é uma enfermidade que pode ser prevenida, diagnosticada e controlada através de intervenções relativamente simples como dieta adequada, exercícios diários, evitar o tabagismo e o alcoolismo, etc. A tendência mundial é que o número de pessoas afetadas por esta enfermidade aumente e, como

conseqüência, será necessário disponibilizar opções de diagnóstico rápido e tratamento seguro para o profissional da clínica odontológica. As pesquisas neste campo precisam ser ampliadas envolvendo terapia farmacológica, novas técnicas de implante e novos procedimentos na área odontológica que possibilitem não só ganho ósseo, como a manutenção da microarquitetura do tecido esquelético, provendo um osso neoformado morfológica, qualitativa e funcionalmente semelhante ao existente anteriormente.

Pelos nossos resultados podemos concluir que é possível obter efeitos sinérgicos pela combinação de técnicas de osteopromoção com outros fatores estimulatórios da osteogenese, entre os quais medicamentos como a calcitonina.



## 7 CONCLUSÕES

A metodologia empregada e os resultados obtidos neste estudo nos permitem concluir que:

- a) ratas ovariectomizadas apresentaram processo mais lento de regeneração de um defeito ósseo cirúrgico quando comparadas a animais normais;
- b) é possível avaliar o processo de regeneração óssea, em animais de pequeno porte, através da utilização de radiografias e medidas densitométricas;
- c) a administração calcitonina sintética de salmão determina uma aceleração no processo de regeneração do defeito ósseo em animais ovariectomizados com equiparando-os aos animais do grupo controle;
- d) a calcitonina sintética de salmão induz aceleração no processo de regeneração óssea de um defeito cirúrgico além de aumento na quantidade de osso neoformado, em animais em condições fisiológicas normais.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

- 1 AKAMINE, A.; KIMURA, R.; MAEDA, K. Implanted bone particles induce osteoclast development in the presence of osteoblast lineage cells. **Bone**, v. 15, n. 3, p. 343-9, 1994.
- 2 ALBERIUS, P.; DAHLIN, C.; LINDE, A. Role of osteopromotion in experimental bone grafting to the skull: a study in adult rats using a membrane technique. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 50, n. 8, p.829-34, Aug. 1992.
- 3 ALMEIDA, J.D. et al. Estudo da reparação óssea em mandíbula de ratos. **Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos**, v.3, n.1, p.49-53, jan./jun. 2000.
- 4 ARISAWA, E.A.L. et al. Influência da calcitonina na reparação óssea de tíbias de ratas ovariectomizadas. **Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos**, v.3, n.1, p.54-59, jan./jun. 2000.
- 5 ARNETT, T.R.; DEMPSTER, D.W. A comparative study of disaggregated chick and rat osteoclasts *in vitro*: effects of calcitonin and prostaglandins. **Endocrinology**, v. 120, n. 2, p.602-8, 1987.
- 6 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA. **Dicionário de especialidades farmacêuticas** 25 ed. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1996/97. 962p.
- 7 BADURSKI, J.E. et al. Chondroprotective action of salmon calcitonin treatment in experimental arthropathies. **Calcif Tissue Int**, v. 49, p. 27-34, 1991.

---

\* Baseado em :  
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Rio de Janeiro. **Referências bibliográficas NBR6023**. Rio de Janeiro, 2000. 22p.

- 8 BANDEIRA, F. et al. **Osteoporose** Rio de Janeiro: Médica e Científica, 2000. 390p.
- 9 BERNE, R.M.; LEVY, M.N. **Fisiologia** 2. ed. Rio de Janeiro: Ed.Guanabara, 1990. 562p.
- 10 BODNER, L et al. Extraction wound healing in desalivated rats. **J Oral Pathol Med**, v. 20, p. 176-8, 1991
- 11 BODNER, L. et al. Extraction site healing in rats: a radiologic densitometric study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v. 75, n.3, p. 367-72, Mar. 1993.
- 12 BODNER, L. et al. Long-term effect of desalivation on extraction wound healing: a densitometric study in rats. **Dentomaxillofac Radiol**, v. 22, n.4, p. 195-8, Nov. 1993
- 13 BUFFO, L. et al. I bifosfanati: un'alternativa al trattamento estrogenico nell'osteoporosi postmenopausale. **Minerva Ginecol.**, v.48, n..6, p.263-72, Giu. 1996.
- 14 CARVALHO, A. et al. Fator de correção em densitometria radiográfica. **Rev Fac Farm Odontol Araraquara**, v.10, supl.1, p. 115-24, 1976.
- 15 CARVALHO, A. et al. Mineralização no processo de reparo em feridas de extração dentária em ratos contribuição ao estudo densitométrico. **Ars Curandi Odontol**, v. 7, n. 7, p.304-12, Out., 1980.
- 16 CARVALHO FILHO, E. et al. **Geriatrics: fundamentos, clínica e terapêutica**. São Paulo: Atheneu, 1994. 447p.
- 17 CHAMBERS, T.J.; MOORE, A. The sensitivity of isolated osteoclasts to morphological transformation by Calcitonin\*. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 57, n. 4, p. 819-24, 1983.

- 18 CHEN, S.K.; HOLLENDER, L.; OMNELL, K.A. Detection of small differences in mass using a direct digital dental X-ray sistem. **Dentomaxillofac Radiol**, v. 26, n. 1, p. 63-6, Jan. 1997.
- 19 CHESMEL, K.D. et al. Healing response to various forms of human demineralized bone matrix in athymic rat cranial defects **J Oral Maxillofac Surg**, v. 56, n. 7, p. 857-63, July 1998.
- 20 COMBE, B.; COHEN, C.; AUBIN, F. Equivalence of nasal spray and subcutaneous formulations of salmon calcitonin. **Calcif Tissue Int**, v. 61, p. 10-15, 1997.
- 21 CORMACK, D.H. Osso. *In*: HAM, A. W. **Histologia**. 9 ed. Rio de Janeiro: Lippincott, 1991. 847p.
- 22 DAHLIN, C. et al. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. **Plast Reconstr Surg**, v. 81, n. 5, p. 672-6, May 1988.
- 23 DAHLIN, C. et al. Restoration of mandibular nonunion bone defects. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 23, n.4, p. 237-42, 1994.
- 24 DELMAS, P.D.; FRASER, M. Huesos fuertes em la tercera edad: um lujo o uma necesidad? **Org Mund De la Salud**, v. 1, p. 159-64, 1999.
- 25 DEMPSTER, D.W. et al. Temporal changes in cancellous bone structure of rats immediately after ovariectomy. **Bone**, v. 16, p. 157-161, 1995.
- 26 FARLEY, J.R. et al. The anti-bone-resorptive agent calcitonin also acts in vitro to directly increase bone formation and bone cell proliferation. **Endocrinology**, v. 123, n. 1, p. 159-67, 1988.
- 27 FELDMAN, R.S.; KRIEGER, N.S.; TASHJIAN, A.H. Effects of parathyroid hormone and calcitonin on osteoclast formation *in vitro*. **Endocrinology**, v. 107, n. 4, p. 1137-39, 1980.

- 28 FRIEDENSTEIN, A.J. Precursor cells of mechanocystes. **Int Rev Cytol**, v. 47, p. 327-30, 1976.
- 29 GOODMAN, A.G. et al. **The pharmacological basis of therapeutics** 9. ed. New York: MacGraw-Hill – Interamericana, 1996.1905p.
- 30 GRIFFITH, J.Q.; FARRIS, E.J. **The rat in laboratory investigation**. Lippincott: J. B. Lippincott, 1942. 488p.
- 31 GRODSTEIN, F.; COLDITZ, G.A.; STAMPFER, M.J. Post-menopausal hormone use and tooth loss: a prospective study. **J. Am Dent Assoc**, v.127, p. 370-7, Mar.1996.
- 32 GUYTON, A.C. **Tratado de fisiologia médica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1997. 1014p.
- 33 HÄMMERLE, C.H.F. et al. A novel model system for the study of experimental guided bone formation in humans. **Clin Oral Impl Res**, v. 7, p. 38-47, 1996.
- 34 HARRISON, T.R. **Medicina interna**. 13. ed. Rio de Janeiro: MacGraw-Hill, Interamericana, 1996. 2765p.
- 35 HEDLUND, T., HULTH A., JOHNELL, O. Early effects of parathormone and calcitonin on the number of osteoclasts and on serum-calcium in rats. **Acta Orthop Scand**, v. 54, p. 802-4, 1983.
- 36 HENTUNEN, T.A. et al. Osteoclast recruiting activity in bone matrix. **Bone Miner**, v. 25, n.3, p. 183-98, 1994.
- 37 HOLLINGER, J.; WONG, M.E.K. The integrated processes of hard tissue regeneration with special emphasis on fracture healing. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** v. 82, n. 6, p. 594-606, Dec. 1996.
- 38 JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 433 p.

- 39 KABAN, L.B.; GLOWACKI, J. Induced osteogenesis in the repair of experimental mandibular defects in rats. **J Dent Res**, v. 60, n. 7, p. 1356-64, July 1981.
- 40 KALLIO, D.M., GARANT, P.R., MINKIN, C. Ultrastructural effects of calcitonin on osteoclasts in tissue culture. **J Ultrastr Res**, v. 39, p. 205-16, 1972.
- 41 KOSTOPOULOS, L.; KARRING, T. Role of periosteum in the formation of jaw bone: an experiment in the rat. **J Clin Periodontol**, v. 22, n. 3, p. 247-54, Mar. 1995.
- 42 KRIBBS, P.J. Comparision of mandibular bone in normal and osteoporotic women. **J Prosthet Dent**, v. 63, n. 2, p. 218-22, Feb. 1990.
- 43 LEE, M.Y.; LOTTSELDT, J.L.; FEVOLD, K.L. Identification and characterization of osteoclast progenitors by clonal analysis of hematopoietic cells. **Blood**, v. 80, n. 7, p. 1710-6, Oct. 1992.
- 44 LeGEROS, R.Z.; CRAIG, R.G. Strategies to affect bone remodeling: osteointegration. **J Bone Miner Res**, v. 8, suppl. 2, p. S583- 96, 1993.
- 45 LEW, D. et al. Repair of craniofacial defects with hydroxyapatite cement. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 55, n. 12, p. 1441- 9, Dec. 1997.
- 46 LINDE, A. et al. Osteopromotion: a soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone neogenesis. **J Periodontol**, v. 64, n. 11, p. 1116-28, Nov. 1993.
- 47 LINGHORNE, W.J. The sequence of events in osteogenesis as studied in polyethylene tubes. **Ann N Y Acad Sci**, v.85, p.445-60, Mar. 1960.

- 48 MACEDO, N.L. **Regeneração óssea vertical usando barreira não-porosa de politetrafluoretileno em implantes osteointegrados inseridos parcialmente na tíbia de coelhos.**, 1999. 131f. Tese (Doutorado em Odontologia)-Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos
- 49 MacINTYRE, I. et al. Chemistry, physiology and therapeutic applications of calcitonin. **Arthritis Rheum**, v.23, n.10, p.1139-47, Oct. 1980.
- 50 MANOLAGAS, S.C. Bone marrow, clastic and blastic cell system: quo vadis? **Calcif Tissue Int**, v.56, suppl.1, p. S52-3, 1995.
- 51 MANOLAGAS, S.C.; JILKA, R.L. Cytokines, hematopoiesis, osteosclatogenesis, and estrogens. **Calcif Tissue Int**, v. 50, p. 199-202, 1992.(Editorial).
- 52 MANOLAGAS, S.C. JILKA, R.L. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling: emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. **N Engl J Med**, v. 332, n. 5, p. 305-11, Feb. 1995.
- 53 MARX, S.J. et al. Calcitonin receptors of kidney and bone. **Science**, v. 178, n.1, p. 999-1001, 1972.
- 54 MOURAD, L.A. Structure and Function of the musculeskeletal system. *In*: McCANCE, K. L., HUETHER, S. E. **Pathophysiology: the biologic basis for disease in adults and children**. 3. ed. Sant Louis: Mosby, 1997. 1630p.
- 55 MUNDY, G.R. Cytokines and growth factors in the regulation of bone remodeling. **J Bone Miner Res**, v. 8, suppl. 2, p. 505-10, 1993.
- 56 NADE, S. Stimulating osteogenesis. **Injury**, v. 25, n. 9, p. 577-83, Oct. 1994.

- 57 NASU, M. et al. Osseointegration in implant-embedded mandible in rats fed calcium-deficient diet: a radiological study. **Oral Dis**, v. 4, suppl. 2, p. 84-9, Jun. 1998.
- 58 PECORA, G. et al. Bone regeneration with a calcium sulfate barrier. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**; v. 84, n. 4, p. 424-9, Oct. 1997.
- 59 PEREIRA, S.L.S. et al. Efeito da calcitonina de salmão sobre a cicatrização de defeitos ósseos. **Rev Odontol UNESP (São Paulo)**, v. 26, n.2, p. 471-88, 1997.
- 60 RABIE, A.B.M. et al. The effect of demineralized bone matrix on the healing of intramembranous bone grafts in rabbit skull defects. **J Dent Res**, v. 75, n. 4, p. 1045-51, Apr. 1996.
- 61 RAUBENHEIMER, E.J. Recent advances in the diagnosis and management of metabolic bone diseases. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF INTERNATIONAL ASSOCIATION OF ORAL PATHOLOGY, 10. 2000, La Antigua.. **Anais**, La Antigua IAOP, 2000, p. 1-14.
- 62 REGINSTER, J.Y. et al. Endogenous production of specific antibodies does not decrease hypocalcemic response to calcitonin in young rabbits. **Calcif Tissue Int**, v. 50,n.6, p. 518-20, 1992.
- 63 RICHELSON, L.S. et al. Relative contributions of aging and estrogen deficiency to postmenopausal bone loss. **N Engl J Med**, v. 311, n.20, p. 1273-5, Nov. 1984.
- 64 RIGGS, B.L., et al. Rates of bone loss in the appendicular and axial skeletons of women.: evidence of substancial vertebral bone loss before menopause. **J Clin Invest**, v.77, p. 1487-91, May 1986.
- 65 ROODMAN, G.D. Application of bone marrow cultures to the study of osteoclast formation and osteoclast precursors in man. **Calcif Tissue Int**, v. 56, suppl. 1, p. S522-3, 1995.



- 66 SALATA, L.A.; CRAIG, G.T.; BROOK, I.M. Bone healing following the use of hydroxyapatite or ionomeric bone substitutes alone or combined with a guided bone regeneration technique: an animal study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 13, n. 1, p. 44-51, 1998.
- 67 SANDBERG, E.; ARO, H.T.; VUORIO, E.I., Gene expression during bone repair. **Clin Orthop Rel Res**, n. 289, p. 292-312, Apr. 1993.
- 68 SANDBERG, E.; DAHLIN, C.; LINDE, A. Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: an experimental study in rats. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 51, n. 10, p. 1106-14, Oct. 1993.
- 69 SCHMID, J. et al. Blood-filled spaces with and without filler materials in guided bone regeneration. **Clin Oral Implant Res**, v. 8, p. 75-81, 1997.
- 70 SCHMITZ, J.P.; HOLLINGER, J.O. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. **Clin Orthop**, n.205, p. 299-307, Apr. 1986.
- 71 SILVA, C.M.O.M. **Avaliação da ação do alendronato sódico sobre a reparação óssea na ausência dos hormônios ovarianos**. 2000. 102f. Tese (Mestrado em Odontologia)-Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos
- 72 SIMINOSKI, K., JOSSE, R.G. Calcitonin in the treatment of osteoporosis. **Can Med Assoc J**, v. 155, n. 7, p.962-5, Oct. 1996.
- 73 SIMION, M. et al. Guided bone regeneration using resorbable and nonresorbable membranes: a comparative histologic study in humans. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 11, n. 6, p. 735-42, 1996.

- 74 SOUTHARD, T.E. et al. Mandibular bone density and fractal dimension in rabbits with induced osteoporosis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 89, n. 2, p.244-9, Fev.2000.
- 75 SWEENEY, T.M. et al. Repair of critical size rat calvarial defects using extracellular matrix protein gels. **J Neurosurg**, v. 83, p. 710-5, Oct. 1995.
- 76 SZACHOWICZ, E.H. Facial bone wound healing: an overview. **Otolaryngol Clin North Am**, v. 28, n. 5, p. 865-81, Oct.1995.
- 77 TAGA, R.; STIPP, A.C.M. **Manual prático de morfometria a microscópio óptico: planejamento e desenvolvimento de um experimento**. Bauru:USP/FOB, Departamento de Morfologia. 1994. 35p.
- 78 TANAKA, M. et al. The effect of aging and ovariectomy on mandibular condyle in rats. **J Prosthet Dent**, v. 79, n. 6, p. 685-90, June 1998.
- 79 TEITELBAUM, S.L. Bone remodeling and the osteoclast. **J Bone Min Res**, v. 8, suppl. 2, p. S523-5, 1993.
- 80 TROUERBACH, W.T. et al. A study of the radiographic aluminum equivalent values of the mandible. **Oral Surg**, v. 58, n. 5, p. 610- 6, Nov. 1984.
- 81 URIST, M.R.; STRATES, B.S. Bone morphogenetic protein. **J Dent Res**, v. 50, suppl. 6, p.1392-406, 1971.
- 82 VIEIRA, S. **Introdução à bioestatística** . 4. ed. Rio de Janeiro: Campus, 1986. 294p.
- 83 Von WOWERN, N. Bone mineral content of mandibles: normal reference values--rate of age-related bone loss. **Calcif Tissue Int**, v. 43, p. 193-8, 1988.

- 84 WALLACH, S.; CARSTEN JUNIOR, J.B.; AVIOI, L.V. Calcitonin, osteoclasts and bone turnover. **Calcif Tissue Int**, v. 47, p. 388-91, 1990. (Comment).
- 85 WEISS, R.E. et al. Calcitonin stimulates bone formation when administered prior to initiation of osteogenesis. **J Clin Invest**, v. 68, p. 815-8, Sept. 1981.
- 86 WRONSKI, T. J.; CITRON, M.; DANN, L.M. Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovariectomized rats. **Calcif Tissue Int**, v. 43, p. 179-83, 1988.
- 87 ZAIDI, M. et al. Osteoclast function and its control. **Exp Physiol**, v. 78, p. 721-39, 1993.(Review)
- 88 ZAIDI, M. et al. Role of the endothelial cell in osteoclast control: new perspectives. **Bone**, v. 14, p. 97-102, 1993.
- 89 ZELLIN, G.; GRITLI-LINDE, A.; LINDE, A. Healing of mandibular defects with different biodegradable and non-biodegradable membranes: an experimental study in rats. **Biomaterials**, v. 16, n. 8, p. 601-9, 1995.
- 90 ZIEGLER, R.; DELLING, G. Effect of calcitonin on the regeneration of a circumscribed bone defect (bored hole in the rat tibia). **Acta Endocrinol**, v. 69, n. 3, p. 497-506, 1972.

Anexo A- Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa Animal- São  
José dos Campos

ARISAWA, E.A.L. **Influência da calcitonina na regeneração óssea em mandíbulas de ratas ovariectomizadas.** 2000. 109f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos

## **RESUMO**

Neste trabalho estudou-se a ação da calcitonina no processo de regeneração óssea em mandíbulas de ratas normais e ovariectomizadas, com e sem a administração de calcitonina. Para este estudo foram utilizadas cem ratas com idade aproximada de sessenta dias. Dessas, cinquenta foram ovariectomizadas formando o grupo Ov e, um mês após esta cirurgia, em todos os cem animais foi realizado defeito ósseo cirúrgico, na região do ângulo da mandíbula, criando uma lesão óssea de aproximadamente 4mm, recoberta com uma barreira de PTFE. Os animais Ov foram divididos em dois grupos iguais: Ov (ovariectomizados) e OvM (ovariectomizados com administração de calcitonina). Os outros cinquenta animais, somente com a lesão óssea, também foram divididos em dois grupos: C (controle) e CM (controle com administração de calcitonina). Os grupos tratados receberam a primeira dose da substância imediatamente após a cirurgia, na dose de 2 UI/kg, i.m., três vezes por semana. Os animais foram sacrificados após três, sete, 14, 21 e 28 dias, sendo suas mandíbulas removidas e encaminhadas para preparação histológica. Análises densitométrica, histológica e histomorfométrica foram realizadas verificando-se que foi possível observar que os animais Ov apresentavam diminuição da densidade óssea e um processo regenerativo muito mais lento, quando comparados com os animais controle. A calcitonina mostrou-se efetiva tanto nos animais ovariectomizados quanto naqueles apenas com lesão óssea.

**Palavras-chave:** Calcitonina; mandíbula, regeneração óssea guiada; osteoporose; osteogênese.

ARISAWA, E.A.L. **Calcitonin effect on mandibular bone repair of ovariectomized rats**, 2000. 109f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos

### **ABSTRACT:**

*The aim of this work was to study the effect of calcitonin on mandibular bone repair in ovariectomized and non-ovariectomized rats. We analyzed the mandible of 100 rats, approximately sixty days old. Fifty female rats were previously ovariectomized (OV), 30 days before surgical treatment, and fifty were not ovariectomized to serve as a control group (C). All 100 rats were submitted to a mandibular bone surgery for the realization of a circular defect, with 4mm diameter, in the angle region. The defect was covered with a PTFE barrier in all 100 animals. The OV and C group were subdivided in two groups (n=25 each), creating the groups OV, OVM, C and CM. Only fifty rats were medicated with calcitonin (OVM and CM). They were treated with 2UI/Kg, i.m., three times a week, and the first dose was given immediately after the surgery. The animals were sacrificed after three, seven, 14, 21 and 28 days. Their mandibles they were submitted, and after routine histological processing were submitted to densitometric, histological and histomorphometrical analyses. It was possible to verify that the ovariectomized animals had lower bone density and a slower mandibular bone repair when compared to the control group. The calcitonin treatment showed better bone repair in both ovariectomized and non-ovariectomized rats.*

Key words: Calcitonin; mandibular, guided bone regeneration; osteogenesis; ovariectomy; osteoporosis.