



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



CÁSSIO ROCHA SCARDUELI

**UTILIZAÇÃO SISTÊMICA DE ESTRÔNCIO NÃO RADIOATIVO COMO
POTENCIALIZADOR DA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES.
AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA, MICROTOMOGRÁFICA E
HISTOMORFOMÉTRICA EM RATOS.**

ARARAQUARA

2014



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



CÁSSIO ROCHA SCARDUELI

**UTILIZAÇÃO SISTÊMICA DE ESTRÔNCIO NÃO RADIOATIVO COMO
POTENCIALIZADOR DA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES.
AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA, MICROTOMOGRÁFICA E
HISTOMORFOMÉTRICA EM RATOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para o título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior
Co-orientadora: Profa. Dra. Rosemary Adriana C. Marcantonio

ARARAQUARA

2014

CÁSSIO ROCHA SCARDUELI

**UTILIZAÇÃO SISTÊMICA DE ESTRÔNCIO NÃO RADIOATIVO COMO
POTENCIALIZADOR DA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES.
AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA, MICROTOMOGRÁFICA E
HISTOMORFOMÉTRICA EM RATOS.**

Comissão julgadora

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e orientador Elcio Marcantonio Junior

2º Examinador Luis Antonio Pugliesi Lima

3º Examinador Rubens Spin Neto

Araraquara, 25 de março de 2014

DADOS CURRICULARES

CÁSSIO ROCHA SCARDUELI

NASCIMENTO: 14/10/1986- PIRAJU-SP

FILIAÇÃO GILMAR SCARDUELI
MAIZA ROCHA SCARDUELI

2007-2011 CURSO DE GRADUAÇÃO

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP
Faculdade de Odontologia Araraquara- FOAr

2012-2014 PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA – Nível de Mestrado

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP
Faculdade de Odontologia Araraquara- FOAr

Dedicatória

Dedico este trabalho à **Deus**, que tornou possível a realização de cada etapa de minha jornada.

Aos meus pais, **Gilmar e Maíza**, exemplos de dedicação, esforço, humildade e amor. Pais estes que abrem mão de suas vontades pela minha prosperidade e realização de meus sonhos.

Ao meu irmão **Érico** e minha cunhada **Tati** pelo companheirismo, confiança depositados, durante toda a trajetória desta etapa.

Aos meus **avós, tios, tias, e primos** que de certa forma dividem momentos passados por mim, e acreditam na minha competência e trabalho

...à toda a família Rocha Scardueli.

Agradeço especialmente...

Ao **Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior** e à **Profa. Dra. Rosemary Adriana C.**

Marcantonio, meus orientadores, que são ótimos e exemplares professores, sinônimos de dedicação, competência, transmissão de conhecimentos, além de serem pessoas amigas com um coração muito grande. Me acolheram em meus primeiros passos, como cirurgião dentista, permitindo que me tornasse também pesquisador, saciando minhas dúvidas, anseios, para que num futuro possa associar ambas características e tornar um profissional completo.

Ao **Prof. Dr. Rubens Spin Neto** e a **Carol Bizelli**, pela oportunidade que me deram e pela confiança em meu trabalho depositados. Ótimos amigos, companheiros. Tenho orgulho de tê-los próximos a mim, pessoas exemplares que levarei durante toda vida.

Ao meu tio **Rodney Garcia Rocha**, além de tio, um companheiro e amigo. Através de conselhos, idéias, transmissão de experiências e conversas pudemos nos aproximar muito, o que para mim é muito gratificante e um espelho para a vida.

Ao meu parceiro **Guilherme J. Pimentel Lopes de Oliveira**, pelos bons momentos de convivência, pela ajuda nas horas difíceis, angústias, momentos alegres, descontrações, e dividindo nosso tempo científico.

Agradecimentos

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara-(FOAr-UNESP)**, na pessoa de sua diretora **Profa. Dra. Andréia Affonso Barreto Montandon** e vice diretora **Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato** pela estrutura oferecida e acolhimento.

Aos **diretores** da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP, onde tive a oportunidade de estar presente em diversas gestões.

À **todos os professores** da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP, que de certa forma sempre me puderam ajudar por meio da amizade, conversas, e ensinamentos passados durante a graduação podendo-me fazer crescer profissionalmente.

Aos professores que participaram da qualificação **Prof. Dr. Roberto Barbeiro e Prof. Dr. Marcelo Gonçalves**, pelas dicas, críticas e elogios.

Aos professores convidados da banca examinadora **Prof. Dr. Luiz Antonio Pugliesi Alves de Lima** e **Prof. Dr. Rubens Spin Neto**, juntamente com os demais suplentes pela disponibilidade e solicitude.

Aos professores e amigos **José Maurício Reis** e **Filipe Abi Rached**, sempre me ajudando, ensinando e sendo incríveis pessoas.

Ao **Prof. Dr. Luiz Borelli**, um exemplo de pessoa e professor, sempre com muita motivação.

Aos **funcionários da Disciplina de Periodontia e do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia** pela paciência, ajuda e confiança depositados.

Aos **funcionários do setor de Pós-graduação**, Mara, Cristiano e José Alexandre pela atenção dada aos momentos que precisei.

Aos **funcionários, em geral**, da Faculdade de Odontologia de Araraquara- (FOAr-UNESP).

Aos amigos especiais, aos colegas da faculdade, da pós-graduação e colegas fora do ambiente institucional.

À **CAPES** pela oportunidade e sustentabilidade dada durante todo o projeto.

À **NEODENT**, que financiou o projeto com a doação de implantes.

A todos aqueles que não foram citados, porém têm conhecimento deste trabalho e de sua importância, bem como aqueles que me ajudaram em momentos específicos e essenciais, minha gratidão.

...à todos vocês, meu muito obrigado!!

Tenha em mente que tudo que você aprende na escola é trabalho de muitas gerações. Receba essa herança, honre-a, acrescente a ela e, um dia, fielmente, deposite-a nas mãos de seus filhos.

Albert Einstein

Scardueli CR. Utilização sistêmica de estrôncio não radioativo como potencializador da osseointegração de implantes. Avaliação biomecânica, microtomográfica e histomorfométrica em ratos [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2014.

RESUMO

Medicamentos a base de bisfosfonatos têm sido amplamente empregados para tratar enfermidades como osteoporose, mieloma múltiplo, doenças reumáticas e neoplasias com metástases ósseas. No entanto, não podem ser usados rotineiramente na clínica odontológica em favor da maior reparação óssea e osseointegração devido a seus mecanismos específicos e por estarem constantemente relacionados a problemas como alta permanência da droga no organismo e risco de necroses ósseas. Medicamentos a base de estrôncio surgem como novas formas de tratamento para pacientes osteoporóticos bem como uma possível indicação para o uso coadjuvante em procedimentos cirúrgicos, favorecendo a nova formação óssea. Diante das vantagens oferecidas pelos medicamentos a base de estrôncio, como ranelato de estrôncio e cloreto de estrôncio/carbonato de estrôncio, este trabalho teve como objetivo avaliar a osseointegração de implantes em tíbias de ratos. Foram utilizados 70 ratos *Rattus Norvegicus*, machos, divididos aleatoriamente em 5 grupos: S-Controle (soro); RE 50 (Ranelato de Estrôncio 50 mg); RE 625 (Ranelato de Estrôncio 625 mg); ClECaE 30 (Cloreto Estrôncio e Carbonato Estrôncio 30 mg); ClECaE 365 (Cloreto Estrôncio e Carbonato de Estrôncio 365 mg). Os medicamentos foram administrados diariamente, via gavagem, de acordo com cada grupo, iniciando 15 dias antes do procedimento cirúrgico (1 implante em cada tíbia), persistindo até o final do experimento 15 ou 60 dias. Testes biomecânicos foram realizados com os implantes do lado direito através do contra-troque de remoção, e os implantes no lado esquerdo foram realizadas microtomografias e análises histomorfométricas. Os resultados mostraram uma melhora na osseointegração, principalmente nos grupos ranelato estrôncio 62mg e cloreto estrôncio/carbonato estrôncio 365mg nos testes

biomecânicos e microtomográficos. O medicamento a base de estrôncio teve uma influência positiva na osseointegração dos implantes, principalmente o cloreto estrôncio/ carbonato estrôncio, podendo ser incorporado a prevenção, tratamentos de patologias, bem como adjuntos a procedimentos cirúrgicos de instalação de implantes.

Palavras chaves: Estrôncio; Implantes dentários; Osseointegração; Osteogênese; Administração Oral.

Scardueli CR. Use of non-radioactive strontium systemic as a potentiator of osseointegration of implants. Evaluation biomechanics, microtomográfica and histomorphometry in rats [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2014.

ABSTRACT

Drugs containing bisphosphonates have been widely used to treat diseases such as osteoporosis, multiple myeloma, myeloproliferative disease and cancer with bone metastases. However, can not be used routinely in dental practice in favor of greater bone repair and osseointegration due to its specific mechanisms and are constantly related issues such as high permanence of the drug in the body and risk of bone necrosis. Drugs based on strontium emerge as new forms of treatment for osteoporotic patients as well as a possible indication for adjuvant use in surgical procedures, promoting new bone formation. Given the advantages offered by drugs containing strontium as strontium ranelate and strontium chloride/strontium carbonate , this study aimed to evaluate the osseointegration of implants in rat tibia. Were used 70 rats *Rattus Norvegicus*, males, randomly divided into 5 groups: S (control-serum physiologic); RE50 (Strontium Ranelate 50 mg); RE 625 (Strontium Ranelate 625 mg); CIE/CaE 30 (Strontium Carbonate and Strontium Chloride 30 mg); CIE/CaE 365 (Strontium Carbonate and Chloride Strontium 365 mg). The drugs were administered daily by gavage according to each group, starting 15 days before surgery (1 implant in each tibia) and persisted until the end of the experiment 15 or 60 days. Biomechanical tests were performed with the right implants through shift against removal, and implants in the left side microtomography and histomorphometric analysis were performed. The results showed an improvement in osseointegration, especially in groups strontium ranelate 625mg and strontium chloride/strontium carbonate 365mg in microtomography and biomechanical testing. The drug strontium base had a positive influence on osseointegration of implants, especially

strontium chloride/strontium carbonate, can be incorporated into prevention, treatments of pathologies and surgical procedures as adjunct to implant placement.

Key-words: Strontium; Dental Implants; Osseointegration; Osteogenesis; Administration Oral.

LISTA DE ABREVIATURAS E NOMENCLATURAS

N/cm- newton x centímetro

Sr- estrôncio

CaR- receptor de cálcio

Kg- quilogramas

g- gramas

mg- miligramas

ml-mililitros

C- grupo controle

RE 50- grupo ranelato estrôncio 50 mg

RE 625- grupo ranelato estrôncio 625 mg

CIE/CaE 30- grupo cloreto estrôncio e carbonato estrôncio 30 mg

CIE/CaE 365- grupo cloreto estrôncio e carbonato estrôncio 365 mg

ANOVA- Análise de variância

BIC - Bone-implant contact – contato osso-implante

BA- Bone-area- área óssea na espira

ROI - Region of interest – região de interesse

SUMÁRIO

1 Introdução	16
2 Revisão de literatura	19
3 Proposição	27
4 Material e Método	29
5 Resultado ..	42
5.1 Análise biomecânica.....	43
5.2 Análise de % volume ósseo por radiografias tridimensionais.....	44
5.3 Análise histométrica da % BIC e BA.....	46
5.4 Análise histológica.....	48
6 Discussão	51
7 Conclusão	57
8 Referências	59
9 Anexos	68
9.1 Anexo 1.....	69
9.2 Anexo 2.....	75

1 Introdução

Patologias ósseas são doenças que afetam o tecido ósseo, e dentre as diversas existentes, ganham destaque a osteoporose, neoplasias ósseas, e doenças ósseas inflamatórias, que afetam grande parte da população e são focos de estudos. Estas doenças tem caráter destrutivo do tecido ósseo, tornando os frágeis, e também podendo vir a prejudicar o processo de cicatrização óssea, afetando tanto o processo de osseointegração como preservação de implantes osseointegráveis^{23,24,46,69}.

Medicamentos que inibem a reabsorção ou ativam a formação óssea têm sido usados em vários tratamentos de enfermidades ósseas de caráter óssea-reabsortiva⁷⁰. Estes medicamentos podem ser divididos em 2 grupos: os responsáveis pelo aumento da formação óssea - formadores ósseos (hormônios para-tireóideos, esteróides anabólicos, fragmentos de paratormônio (PTH), alguns fatores de crescimento (como IGF e TGF e prostaglandina E2) ou inibindo a reabsorção óssea- antirreabsortivos (bisfosfonatos, cálcio, vitamina D, estrógenos, calcitonina)¹⁶.

Atualmente os bisfosfonatos tem sido amplamente utilizados devido sua comprovada eficácia no tratamento destas patologias^{1,8,39,77}, impedindo a progressão da reabsorção óssea^{29,70}. Os bisfosfonatos são reguladores endógenos da mineralização óssea, compostos com estrutura química semelhante ao pirofosfato inorgânico, que apresentam propriedade de inibição de células osteoclásticas, tornando-os uma importante classe de agentes antirreabsorção utilizados para a estabilização da perda óssea ocasionada por doenças metabólicas⁷⁰.

No entanto, os bisfosfonados, estão constantemente relacionados a problemas como alta permanência da droga ligada ao tecido ósseo⁵³, fraturas ósseas, lesões renais e gastrointestinais^{31,82}, risco de osteonecrose⁴² e cânceres⁵⁹. Quando utilizado concomitante aos tratamentos cirúrgicos maxilo-faciais como ocorre com os procedimentos de enxertos ósseos e instalação de implantes osseointegrados^{18,80} podem levar a efeitos adversos e até mesmo a

insucessos clínicos^{18,42,53}. Dessa forma, os benefícios que esses fármacos trazem no equilíbrio biológico ósseo não podem ser aproveitados a favor dos procedimentos odontológicos, levando a necessidade de buscas por outras alternativas, tal qual o uso de medicamentos a base de estrôncio⁴⁵.

2 Revisão de Literatura

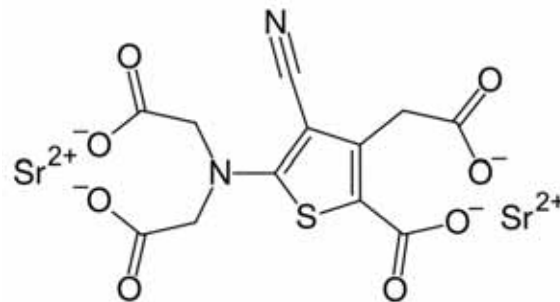
MEDICAMENTOS A BASE DE ESTRÔNCIO NÃO RADIOATIVO

Aspectos bioquímicos e farmacológicos

O estrôncio, elemento químico (Sr) pertencente ao grupo dos metais alcalinos-terrosos, e localizado abaixo do cálcio na tabela periódica, possui muitas semelhanças com o mesmo, como absorção intestinal, incorporação ao tecido ósseo, eliminação renal e alta afinidade pela hidroxiapatita. Devido ao seu mimetismo estrutural ao cálcio, o organismo assimila e incorpora o estrôncio aos tecidos ósseos e dentes⁹. Sua absorção máxima se dá em torno de 3-5 horas após sua ingestão, podendo ser reduzido pela influência da ingestão de alimentos (cálcio, magnésio e alumínio), atingindo seu estado de equilíbrio 2 semanas após o início do tratamento. A permanência do estrôncio no organismo (meia-vida) é em torno de 60 horas e sua excreção é feita pela via renal e trato gastrointestinal. A curto prazo o estrôncio se deposita sobre cristais de hidroxiapatita e a longo prazo permutam com o cálcio, mantendo se ligados com o tecido ósseo⁵⁶.

Ao contrário dos agentes antiosteoporóticos convencionais (bisfosfonatos), os compostos que contém estrôncio possuem o potencial de agir de forma conjunta nos mecanismos de formação e reabsorção óssea^{13,52}, tal como o ranelato de estrôncio, citado na literatura como novo agente antiosteoporótico, devido ao seu reconhecido potencial na diminuição do risco de fraturas ósseas em mulheres pós-menopausa^{60,61,74}. Ele é constituído por dois átomos de estrôncio estável e uma molécula de ácido ranélico, um carregador que torna o tratamento mais tolerável para administração e absorção (Figura 1). Devido à sua elevada polaridade a absorção, distribuição e ligação as proteínas plasmáticas do ácido ranélico são baixas, tendo uma biodisponibilidade em torno de 25%⁵⁶.

Figura 1- Molécula de ranelato de estrôncio ($C_{12} H_6 N_2 O_8 S Sr_2$)



O ranelato de estrôncio cujo medicamento foi desenvolvido pelo laboratório Servier (França) e incorporado ao mercado mundial com inúmeros nomes comerciais (Protos, Protelos, Osseor)⁵² (bula-anexo1), surge como um novo tratamento antiosteoporático, demonstrando diminuição na reabsorção óssea e nos marcadores bioquímicos de reabsorção óssea, ao mesmo tempo em que mantém os marcadores responsáveis pela formação óssea⁵,^{51,56} tendo um duplo efeito no metabolismo ósseo, resultando em um desequilíbrio do “turnover” ósseo a favor da formação óssea⁶⁷. Os estudos demonstraram a sua capacidade de reduzir a reabsorção óssea por inativação ou diminuição de osteoclastos e aumentar a formação óssea por ativação ou aumento de osteoblastos^{12,81}. Essa ativação ou aumento de osteoblastos ocorreu devido ao estímulo as próprias células osteoblásticas ou pela síntese de proteínas colágenas que estimulam a maturação de osteoblastos. A reabsorção óssea é reduzida pela inibição da maturação dos osteoclastos¹³.

Estudos *in vitro* sugerem que o efeito na formação óssea ocorre pela ativação da diferenciação de células pré-osteoblásticas, e consequente atividade de células funcionais e síntese óssea, levando a um aumento na formação óssea^{6,10,12,81}. Em células osteogênicas o estrôncio foi capaz de aumentar a atividade da fosfatase alcalina, enzima marcadora da diferenciação osteoblástica⁶⁰ diminuir marcadores da diferenciação de osteoclastos⁵² e aumentar a expressão de sialoproteína óssea (BSP) e osteocalcina (OCN)⁸⁵, que são proteínas que favorecem a formação óssea.

Mecanismos

Apesar dos mecanismos ainda não estarem totalmente elucidados, estudos recentes mostraram avanço na descoberta das ações do estrôncio^{13,51}. O estrôncio tanto quanto o cálcio podem ativar o receptor sensível ao cálcio (CaR), presente em células não esqueléticas e esqueléticas, induzindo a apoptose de osteoclastos^{47,52,54,63}. Em outros receptores distintos ao cálcio o estrôncio também pode agir, resultando em moléculas sinalizadoras que poderiam mediar o aumento no recrutamento, diferenciação e sobrevivência de pré-osteoblastos^{27,63,71}.

Outros mecanismos também podem estar envolvidos no efeito do estrôncio na formação óssea, como mostrado por Marie⁵², onde o ranelato de estrôncio aumentou a produção de prostaglandinas E2 (PGE2) e conseqüentemente a diferenciação de células da medula (pré-osteoblastos) em osteoblastos^{15,16, 52}.

Estudos recentes mostraram que o estrôncio pode agir sobre o metabolismo ósseo através da regulação do fator do núcleo Kappa B (RANK) expresso em pré-osteoclastos e osteoclastos através dos ligantes RANKL (membro do fator de necrose tumoral TNF) ou da osteoprotegerina (OPG), proteína solúvel produzida por osteoblastos e seus precursores. Quando da presença da ligação RANK/RANKL ocorre a ativação de vias de sinalização que promovem a formação, diferenciação e aumento da sobrevivência dos osteoclastos⁷⁹. No entanto a ligação RANK/OPG atua como um receptor antagonista ao RANKL, impedindo a osteoclastogênese^{41,52}. Assim, o estrôncio teria capacidade de modular o eixo RANKL/OPG, regulando negativamente RANKL e estimulando OPG em células osteoblásticas⁵³.

Estudos *in vivo* demonstram vários efeitos benéficos capazes de prevenir a perda da massa óssea em animais, mantendo a formação óssea a nível elevado e impedindo a reabsorção^{4,11,22,34,50}.

Zheng et al.⁸⁴ avaliaram em ratas ovariectomizadas e osteoporóticas o efeito do

anelato de estrôncio nos tecidos ósseos, e concluíram que o estrôncio foi eficaz na prevenção da deterioração óssea. Adicionalmente outro estudo feito por Li et al.⁴³ com administração de anelato de estrôncio e instalação de implantes em ratas osteoporóticas mostrou um aumento na fixação bem como no volume ósseo ao redor dos implantes, concluindo ser uma abordagem eficaz na osseointegração de implantes em pacientes osteoporóticos.

Em 2004, Ammann et al.⁴ fizeram um estudo em ratos e ratas saudáveis com administração de anelato de estrôncio durante 2 anos, mostrando que houve um aumento da massa óssea (osso trabecular e cortical), e melhora na microarquitetura óssea obtendo uma melhor resistência e sendo muito seguro sua utilização. Maïmoun et al.⁴⁵ instalaram implantes nas tíbias de ratos saudáveis e administraram anelato de estrôncio durante 8 semanas mostrando um aumento da fixação mecânica dos implantes ao tecido ósseo e apresentando altos níveis de qualidade óssea cortical e trabecular quando comparado ao grupo controle.

Diante dos estudos que mostram bons resultados quanto a utilização do estrôncio, Morohashi et al.⁵⁷ e Ammann et al.⁴ demonstraram que os efeitos positivos são dependentes da dose utilizada do estrôncio e só podem ser observados em concentrações farmacológicas ou altas^{2,57}, no entanto, baixas doses, em curto ou longo prazo, podem vir a não provocar efeitos metabólicos no tecido ósseo^{32,33,48,49}. Ao contrário, doses tóxicas podem vir a provocar anormalidades esqueléticas, principalmente em animais com uma dieta restrita em cálcio^{68,75,78}. Na literatura a concentração farmacológica indicada para ratos é de 625mg/kg/dia, uma concentração alta comparada aos níveis farmacológicos indicados para humanos (2g/dia), sendo justificado em virtude da menor absorção intestinal nos animais e consequente níveis plasmáticos se mostrarem próximos a humanos^{3,18}.

Baseado nos níveis aplicados em humanos e no nível plasmático, Fuchs et al.²⁸ administraram anelato de estrôncio em ratas ovariectomizadas na concentração de 25 e 150

mg/kg/dia não havendo estímulo no tecido ósseo e conseqüentemente falha na resistência.

Em 2004, Ammann et al.⁴ administraram ranelato de estrôncio com diferentes concentrações (225; 450; 625; 900 mg/kg/day) em ratas saudáveis demonstrando maior ganho ósseo em doses elevadas quando comparado a doses menores. Adicionalmente um estudo feito por Buehler et al.¹¹ com macacos onde foram aplicadas diferentes doses de ranelato de estrôncio (100; 275; 750 mg/kg/dia) durante 6 meses, se mostrou efetivo na diminuição da reabsorção óssea ao mesmo tempo que manteve a formação óssea com um efeito expressivo apenas na dose máxima .

Assim, os efeitos benéficos do estrôncio em animais apresentam como resultados a maior formação de novo osso com características histológicas de osso maduro, levando a melhora nas propriedades biomecânicas por aumento da resistência óssea^{3,47}.

Estudos realizados em humanos na França (2002), denominado STRATOS, teve como objetivo avaliar diferentes concentrações (0,5;1,0;2,0g/dia) do ranelato de estrôncio no tratamento de mulheres osteoporóticas, mostrando bem tolerados em todas as concentrações, porém a dose de 2g/dia demonstrou uma combinação mais efetiva e segura no tratamento e prevenção de fraturas^{55,56}.

O ranelato de estrôncio também tem sido investigado em 2 programas de tratamento de osteoporose: SOTI (Intervenção Terapêutica de Osteoporose Espinhal) e TROPOS (Tratamento de Osteoporose Periférica)²⁰, que são estudos realizados em vários países, randomizados, duplos-cegos, com grupo controle e com duração de 5 anos. No programa SOTI, após os 3 primeiros anos de tratamento com ranelato de estrôncio houve uma redução de 41% no risco de fraturas^{20,55,56}, concomitantemente ao programa TROPOS com diminuição de 16% em fraturas periféricas^{66,67}.

Em 2013, Kaufman et al.³⁸ avaliaram em homens osteoporóticos a influência do

estrôncio (MALEO- programa de acompanhamento). Os pacientes foram distribuídos em 14 países e divididos em 2 grupos (2g/dia ranelato estrôncio (n=174) e placebo (n=87)). Os resultados apresentaram se similares aos encontrados também em mulheres com osteoporose (SOTI e TROPOS), suportando a idéia da sua ação ser independente do sexo.

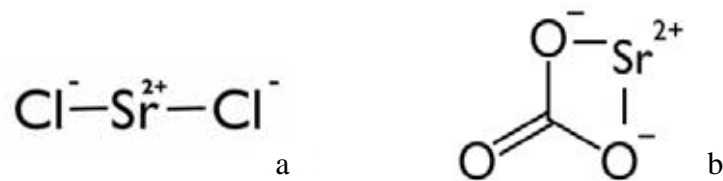
Register et al.⁶⁴ investigaram a ação do estrôncio em pacientes com osteoartrite (SEKIOA- programa de acompanhamento), uma doença degenerativa crônica dos ossos. Nesta revisão o autor reportou a ação do estrôncio na osteoartrite mostrando um aumento significativo da estrutura e menor degradação óssea quando ingeridos 2g/dia de ranelato de estrôncio.

Sendo assim o uso do ranelato de estrôncio é um medicamento comprovado e muito sugerido atualmente para tratamento de diversas enfermidades, fornecendo benefícios clínicos em várias populações de pacientes especiais²⁰. Portanto, devido a sua efetividade, surgem novos medicamentos e suplementos a base de estrôncio para atuar na prevenção, tratamento de patologias ósseas e benefício de procedimentos cirúrgicos.

Cloreto de Estrôncio e Carbonato Estrôncio (Novas formulações)

Diante da apresentação de uma nova substância, o cloreto de estrôncio (Cl_2Sr), uma molécula composta por cloro e estrôncio (Figura 2a), poderia vir a substituir o ranelato, atuando como um suplemento alimentar. Porém sua utilização se torna mais dificultada por se tratar de um sal ácido solúvel (sal resultante da neutralização parcial de um ácido) podendo ser compensado pela adição de uma outra molécula, carbonato de estrôncio (SrCO_3 -Figura 2b), um sal básico pouco solúvel, mantendo o pH equilibrado e conseqüentemente favorecendo a absorção do estrôncio.

Figura 2- Molécula Cloreto Estrôncio (a) e Carbonato de Estrôncio (b)



Em virtude da ação do estrôncio não só o tratamento de patologias pode ser beneficiado como também outras terapias que dependam da neoformação óssea em qualidade e quantidade, em detrimento de eventos de reabsorção óssea. No caso dos procedimentos de instalação de implantes de titânio, aonde se busca um processo de osseointegração mais rápido e eficiente³⁵, sendo um fator importante para a atividade clínica, permitindo reabilitações em menor tempo⁴⁵, que poderia ser alcançado pela dupla ação dos medicamentos a base de estrôncio. Dessa forma, qualquer fármaco que possa agir a favor da neoformação óssea em detrimento da reabsorção pode auxiliar no alcance de maiores taxas de sucesso em Implantodontia.

Levando em consideração as desvantagens dos medicamentos usados atualmente (bisfosfonatos), que não trazem vantagens com seu uso adjunto a tratamentos reabilitadores; o potencial dos medicamentos a base de estrôncio e a pobre literatura a respeito da remodelação óssea na osseointegração de implantes, quando da utilização do carbonato de estrôncio e cloreto de estrôncio, a proposta deste projeto é avaliar, em ratos, a influência da utilização sistêmica do estrôncio não radioativo no tecido ósseo ao redor de implantes osseointegrados.

3 Proposição

A proposta deste estudo é avaliar o efeito sistêmico de medicamentos a base de estrôncio não radioativo na osseointegração de implantes de titânio, em tíbias de ratos, por meio de teste biomecânico, análise microtomográfica (Micro-Ct) e histomorfométrica.

4 Material e Método

Comitê de Ética

O estudo foi submetido ao Conselho de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Odontologia de Araraquara- UNESP (CEUA) e aprovado em 09/05/2012. Proc. CEUA n° 04/2012 (Anexo 2).

Amostra

Neste estudo foram utilizados 70 ratos *Rattus Norvegicus*, variação *albinus*, *Holtzman*, machos, adultos, de aproximadamente 3 meses de idade, com massa corporal entre 300 e 350 gramas, mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia da UNESP de Araraquara (FOAr-UNESP). Os animais foram mantidos em ambiente com luz e temperatura controladas e alimentados com ração sólida e com acesso a água ad libitum antes e durante todo o período experimental.

Grupos Experimentais

Os animais foram divididos aleatoriamente em 5 grupos com 7 animais em cada grupo de acordo com o medicamento e dosagem:

- **Grupo S:** administração diária de 1 ml de soro fisiológico

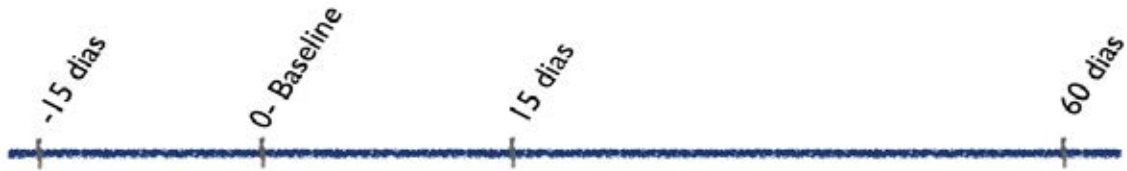
-**Grupo RE/50:** administração diária de 50 mg/kg/dia de Ranelato de Estrôncio (Protos®, Laboratórios Servier do Brasil)

-**Grupo RE/625:** administração diária de 625 mg/kg/dia de Ranelato de Estrôncio (Protos®, Laboratórios Servier do Brasil).

- **Grupo CaE/CIE 30:** administração diária de 30 mg/kg/dia da combinação entre 50% de Carbonato de Estrôncio e 50% de Cloreto de Estrôncio (manipulado por Cromoline Química Fina, Diadema- São Paulo).

- **Grupo CaE/CIE 365:** administração diária de 365 mg/kg/dia da combinação de 50% de Carbonato de Estrôncio e 50% Cloreto de Estrôncio (manipulado por Cromoline Química Fina, Diadema- São Paulo).

Os medicamentos foram administrados 15 dias antes do procedimento cirúrgico persistindo até o final do experimento (15 ou 60 dias) .



-15 dias: Início da administração dos medicamentos

0- Baseline: Procedimento cirúrgico de instalação dos implantes osseointegráveis

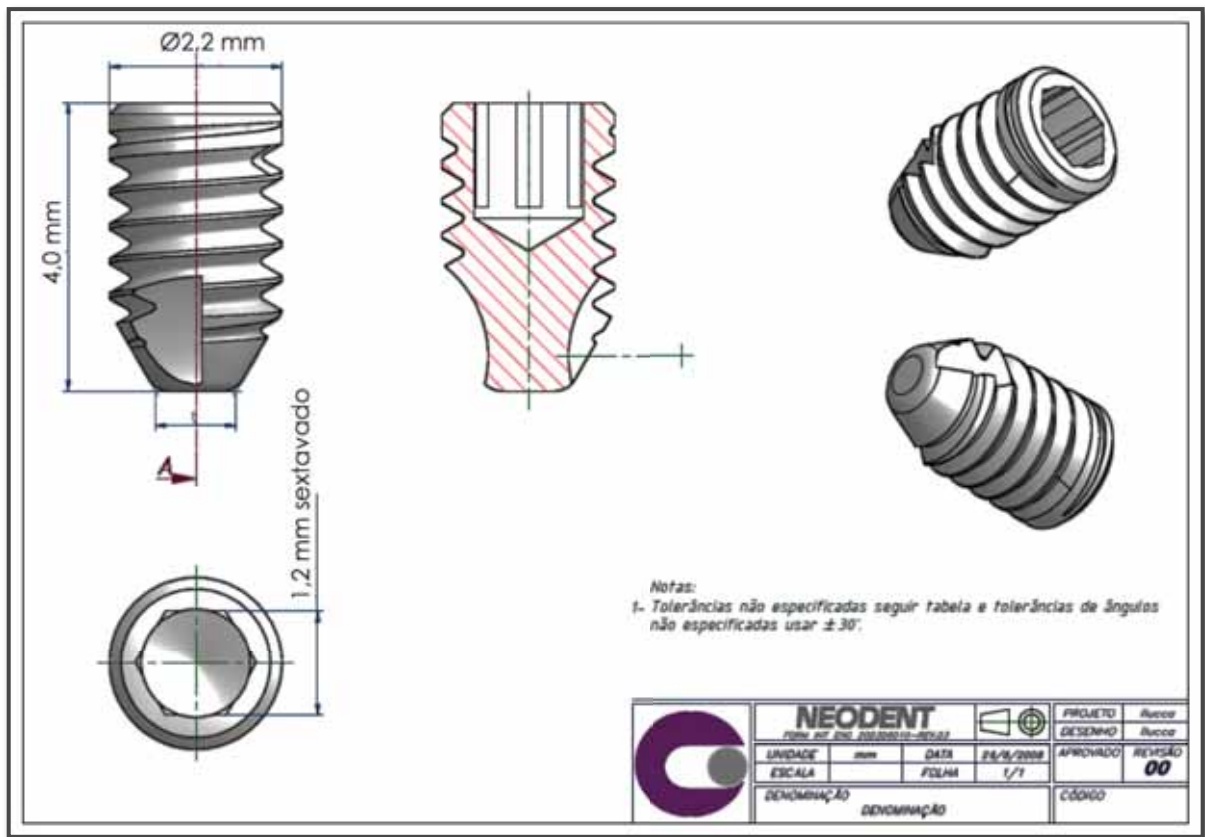
15 dias: Eutanásia dos animais

60 dias: Eutanásia dos animais

Especificação dos implantes

Foram utilizados implantes especialmente desenvolvidos para o projeto. Os implantes utilizados nesse trabalho foram confeccionados pela empresa *Neodent*[®] (Curitiba-PR- Brasil), com superfície tratada por ataque ácido e diâmetros de 4 mm de comprimento por 2.2 mm de espessura e formato especialmente desenhados para a instalação na tíbia de ratos (Figura 3).

Figura 3- Desenho esquemático do tamanho e configuração tridimensional do implante.



Cirurgia para instalação dos implantes

Os animais foram anestesiados por uma combinação de Quetamina com Xilazina, na proporção de 0,08 ml/100g de massa corporal (Cloridrato de Quetamina 10% – Francotar – Virbac do Brasil Ind. Com. Ltda.) e 0,04 ml/100g massa corporal (Cloridrato de Xilazina - Virbaxyl 2% - Virbac do Brasil Ind. E Com. Ltda.), respectivamente.

Posteriormente foram submetidos à tricotomia da região interna das patas direita e esquerda e realizada a antisepsia com gaze estéril embebida em solução de povidine 10% (Figura 4).

Uma incisão de aproximadamente 10 mm foi realizada em planos sobre a metáfise tibial (Figura 5). Após uma dissecação delicada o tecido ósseo foi submetido à osteotomia, realizada por meio de uma sequência progressiva de fresas (fresa lança KG Implant 1,4 – KG Sorensen – Medical Burs Ind. e Com. de Pontas e Brocas Cirúrgicas Ltda;

fresa espiral de 2.0 mm – *Neodent*[®]- Curitiba- PR- Brasil) para instalação e melhor posicionamento do implante de titânio (Figura 6). Todas as perfurações foram realizadas com motor elétrico (BLM 600 – Driller), ajustado a 1200 rpm, sob abundante irrigação com solução salina estéril. O implante foi instalado (Figura 7) com a ajuda de uma chave hexagonal de 1,2 mm (*Neodent*[®]- Curitiba- PR- Brasil) acoplada ao contra ângulo (Mont Blanc Anthogyr, São Paulo- Brasil) (Figura 8). O ferimento foi suturado em planos, internamente com fio reabsorvível Vicryl Ethicon 4.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, Brasil) (Figura 9) e externamente com fio de seda Ethicon 4.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, Brasil) (Figura 10). Os animais receberam, em dose única, penicilina associada à estreptomicina (Pentabiótico pequeno porte, FortDodge, Brasil) na dosagem 0,1 ml/kg de peso e 5mg/kg de dipirona sódica intramuscular (Febrax, Lema Injex Biologic, Brasil).

FIGURAS 4,5,6,7,8,9,10- Protocolo cirúrgico para instalação dos implantes tibiais. 4) Tricotomia e antissepsia da face interna da tíbia; 5) Incisão e descolamento para exposição do tecido ósseo receptor do implante; 6) Cavidade óssea preparada; 7) Posição final do implante na tíbia 8) Implante de titânio com superfície tratada com ácido medindo 4.0 x 2.2 mm acoplado a chave hexagonal 1,2 mm no contra-ângulo; 9) Tecido muscular suturado internamente com fio 4.0 Vicryl; 10) Tecido epitelial suturado com fio de seda 4.0. (continua)

Figura 4



Figura 5



FIGURAS 4,5,6,7,8,9,10- Protocolo cirúrgico para instalação dos implantes tibiais. 4) Tricotomia e antissepsia da face interna da tíbia; 5) Incisão e descolamento para exposição do tecido ósseo receptor do implante; 6) Cavidade óssea preparada; 7) Posição final do implante na tíbia 8) Implante de titânio com superfície tratada com ácido medindo 4.0 x 2.2 mm acoplado a chave hexagonal 1,2 mm no contra-ângulo; 9) Tecido muscular suturado internamente com fio 4.0 Vicryl; 10) Tecido epitelial suturado com fio de seda 4.0. (conclusão)

Figura 6



Figura 7



Figura 8



Figura 9



Figura 10



Foram instalados 140 implantes (dois por animal) na região da metáfise tibial, de acordo com a Tabela 1:

Tabela 1 - Número de animais/implantes segundo período (dias)/grupos

PERÍODO/ GRUPOS	15		60		Total Implantes
	Animais	Implantes	Animais	Implantes	
Grupo S	7	14	7	14	28
Grupo RE/50	7	14	7	14	28
Grupo RE/625	7	14	7	14	28
Grupo CaE/CIE 30	7	14	7	14	28
Grupo CaE/CIE 365	7	14	7	14	28
Total	35	70	35	70	140

Obtenção das peças cirúrgicas

Após os períodos experimentais propostos (15 e 60 dias) os animais foram eutanaziados com sobredose anestésica e as tíbias removidas. As tíbias direitas (70 implantes) foram utilizadas para a avaliação biomecânica (torque de remoção) e as tíbias esquerdas (70 implantes) foram fixadas em paraformoldeído a 4% por 48 horas, lavadas em água corrente por 24 horas e armazenadas em álcool 70%. Estas peças foram avaliadas através de análise radiográfica tridimensional (Micro-CT) e análise histomorfométrica.

Avaliação biomecânica (torque de remoção)

As tíbias removidas foram estabilizadas em uma pequena morsa. Uma chave hexagonal foi conectada no implante e no torquímetro (Tohnichi ATG24CN-S, Japan), (Figura 11) com escala graduada de 0.05 N X cm, com possibilidade de aferir a força no intervalo de 1 a 30 N/cm. Foi realizado um movimento anti-horário com o objetivo de desrosquear o implante. O valor máximo necessário para movimentar o implante foi anotado

como o valor do torque de remoção. As avaliações foram realizadas por um examinador treinado e cego para os grupos experimentais.

Figura 11- Torquímetro onde se acopla a chave hexagonal para medição do contra-torque



Avaliação radiográfica tridimensional (Micro-Ct)

As tíbias armazenadas em álcool 70%, foram primeiramente submetidas a análise por varredura de feixe de raios-X em um sistema de microtomografia digital computadorizada. As peças foram escaneadas pelo microtomógrafo SkyScan (SkyScan 1176 Bruker MicroCT, Aatselaar, Bélgica, 2003) utilizando cortes de 9 μm de espessura (50Kv e 500 μ), passo de rotação de 0.3 mm e filtro de cobre e alumínio, que tem como função diminuir os artefatos gerados pelo metal do implante. As imagens obtidas pela projeção dos raios-X nas amostras foram armazenadas e reconstituídas determinando a área de interesse pelo software NRecon (SkyScan, 2011; Versão 1.6.6.0) (Figura 14-A). No software Data Viewer (SkyScan, Versão 1.4.4 64-bit) (Figura 14-B) as imagens foram reconstruídas para adequação do posicionamento padrão para todas as amostras, podendo ser observada em três

planos (transversal, longitudinal e sagital). Em seguida, utilizando o software CTAnalyser – CTAn (2003-11SkyScan, 2012 Bruker MicroCT Versão 1.12.4.0) (Figura 14-C) foi definida uma área ao redor do implante (ROI) delimitada por 0,5 mm em torno de todo o implante. Esta área ficou definida como Área Total (0,5mm de margem ao redor dos implantes- ROI 4,5mm x 3,2mm) (Figura 12A e 12B). O software CTAn analisa e mede a imagem de acordo com a escalas de cinza (*thersould*). O *thersould* utilizado na análise foi de 25-90 tons de cinza, obtido por meio de testes visando a similaridade com tecido ósseo, possibilitando obter o volume de osso formado ao redor dos implantes. Como os implantes osseointegrados colocados não receberam o *Cover Screw* (vedante) em alguns casos houve a formação óssea dentro da plataforma protética. Para que esta formação óssea não interferisse com a análise da osseointegração foi definido um segundo ROI que compreendeu a região da plataforma protética (Área da Plataforma) (Figura 13A e 13B). Com os resultados obtidos nos dois ROIs, foi possível definir a Área de formação óssea utilizando a fórmula:

$$\text{Área Total} - \text{Área Plataforma} = \text{Área de formação óssea}$$

Figura 12 – A) Imagem ilustrando a definição do ROI 4,5mm x 3,2mm; B) Área Total delimitada pelo ROI (regiões brancas correspondentes ao tecido ósseo neoformado)

Figura 12 A

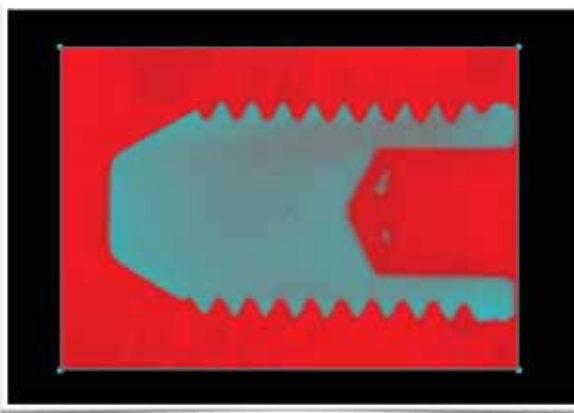


Figura 12 B

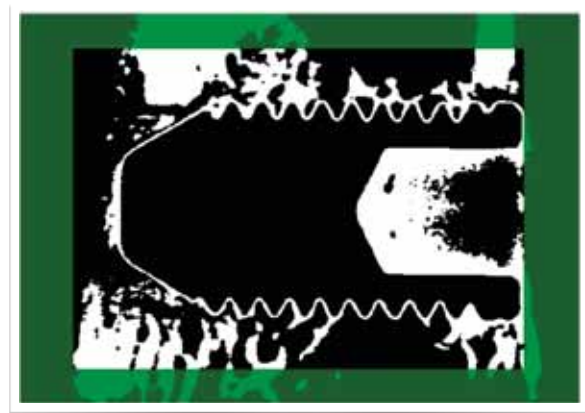


Figura 13 – A) Área Plataforma (ROI); B) Área Plataforma delimitada pelo ROI (regiões brancas correspondentes ao tecido ósseo neoformado na região da plataforma)

Figura 13 A

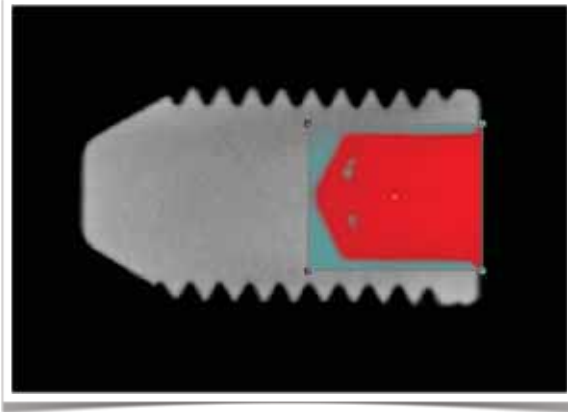
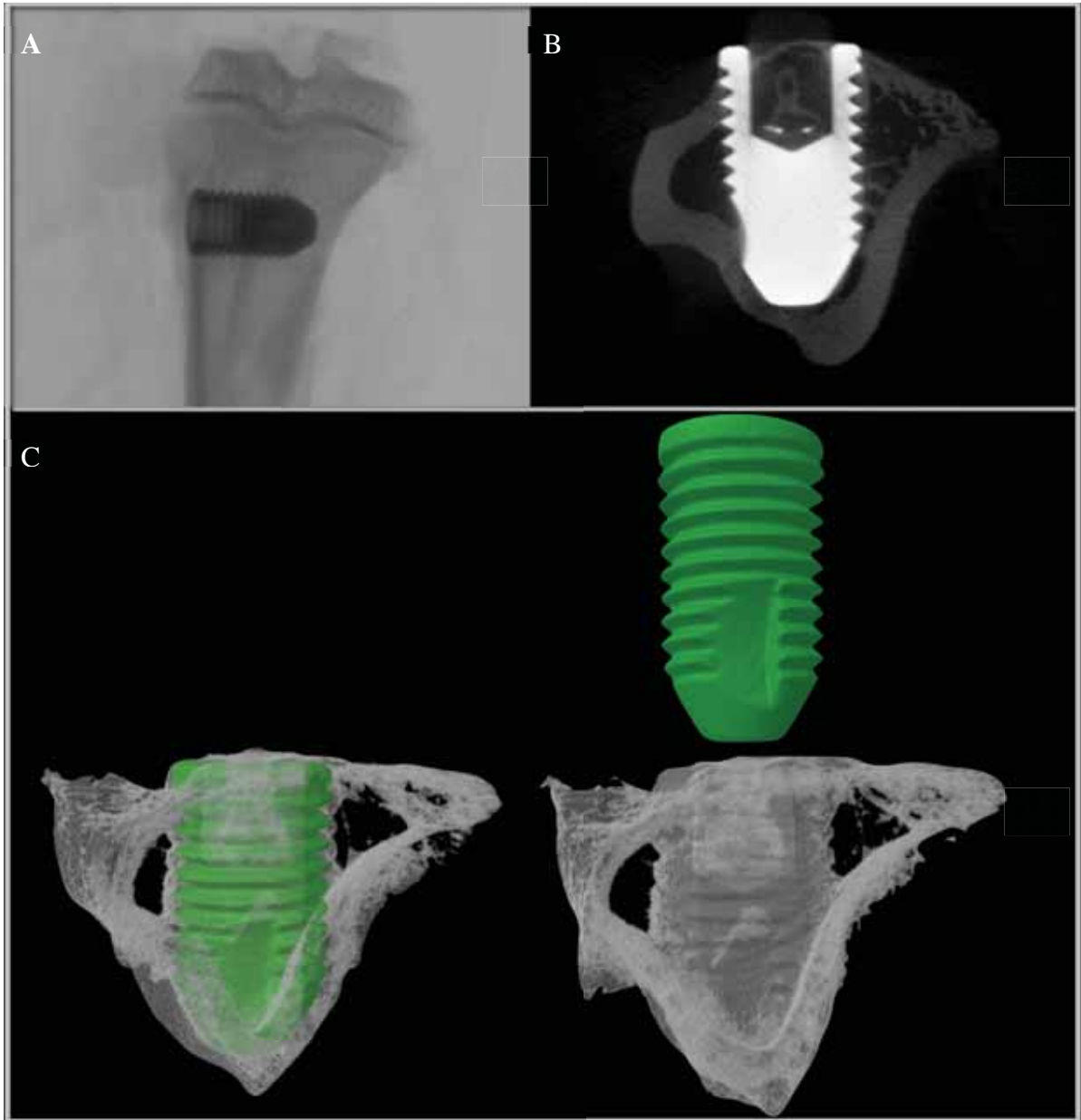


Figura 13 B



O software CTAn, a partir da delimitação da região de interesse em 2D, promove a análise em 3D da mesma pela soma coletiva de todos os “ROI”s de um conjunto contíguo de fatias de imagens transversais. Deste modo foi obtido o percentual de volume do tecido ósseo presente nas áreas de interesse previamente delimitadas (ROIs). Os dados obtidos foram anotados em % de volume ao redor dos implantes.

Figura 14- Figuras ilustrativas das regiões implante/tíbia obtidas pelos Programas NRecon (A), Data Viewer(B) e CTvol(C)-(2003-11SkyScan, 2012 Bruker MicroCT).



Avaliação histomorfométrica

Após o processo de fixação, posterior lavagem com água, armazenamento em álcool 70% e escaneamento, o espécime foi desidratado progressivamente em soluções de álcool etílico (80%, 90% e absoluto). A infiltração plástica foi realizada com misturas de glicolmetacrilato (Technovit 7200 VLC) e álcool etílico, seguindo variações gradativas,

finalizando com duas infiltrações de glicolmetacrilato puro, sob agitação constante. Após a infiltração plástica, os espécimes foram incluídos em resina e polimerizados. Os blocos foram montados em lâmina acrílica com o auxílio da resina Tecnovit 4000 (Kulzer, Wehrheim, Alemanha). Utilizando um sistema de corte e microdesgaste (Exact-Cutting, System, Apparatebau Gmbh, Hamburgo, Alemanha) as lâminas foram processadas até a espessura aproximada de 70 μm . As lâminas foram coradas com Stevenel's Blue. Para a avaliação do padrão de osseointegração foi observado o percentual de osseointegração-BIC (contato osso/implante); e de formação óssea sobre a superfície- BA (área óssea ao redor da superfície da rosca). As análises foram feitas nas 3 primeiras roscas de cada implante.

As mensurações foram realizadas utilizando-se um microscópio de luz convencional DIASTAR (Leica Reichert & Jung products, Alemanha), com objetiva para aumento de 4.0/10 vezes. As imagens foram captadas e enviadas para um microcomputador, com o auxílio de uma câmera Leica Microsystems DFC-300-FX (Leica Microsystems, Alemanha), com resolução de 1.3 megapíxels, e salvas sob a extensão TIFF. A determinação dos valores foi feita utilizando um software analisador de imagens (ImageJ 1.45s, NIH, EUA). Os valores para a extensão linear de contato osso/implante e para a área óssea foram obtidos em μm e μm^2 , respectivamente. As avaliações foram realizadas por um examinador treinado, calibrado e cego para os grupos experimentais.

Análise estatística

O software GraphPad Prism 5 (San Diego, CA, USA) foi utilizado para a análise estatística. Os resultados das avaliações biomecânica, microtomográfica e histomorfométrica foram numéricos e, devido a isso, o teste de normalidade de Shapiro-Wilk foi aplicado para verificar se os dados se distribuíram de acordo com o teorema da distribuição central. Os dados de todas as análises apresentaram distribuição de acordo com a normalidade ($p > 0.05$) e,

dessa forma, testes paramétricos foram utilizados para a análise inferencial dos dados. O teste Anova complementado pelo teste de Tukey foram utilizados para a avaliação entre os grupos dentro de cada período enquanto que o teste t-não pareado foi utilizado para avaliar a evolução temporal dentro de cada grupo. Todos os testes estatísticos utilizados nesse estudo foram aplicados com nível de confiança de 95% ($p < 0.05$).

5 Resultado

5.1 Análise Biomecânica

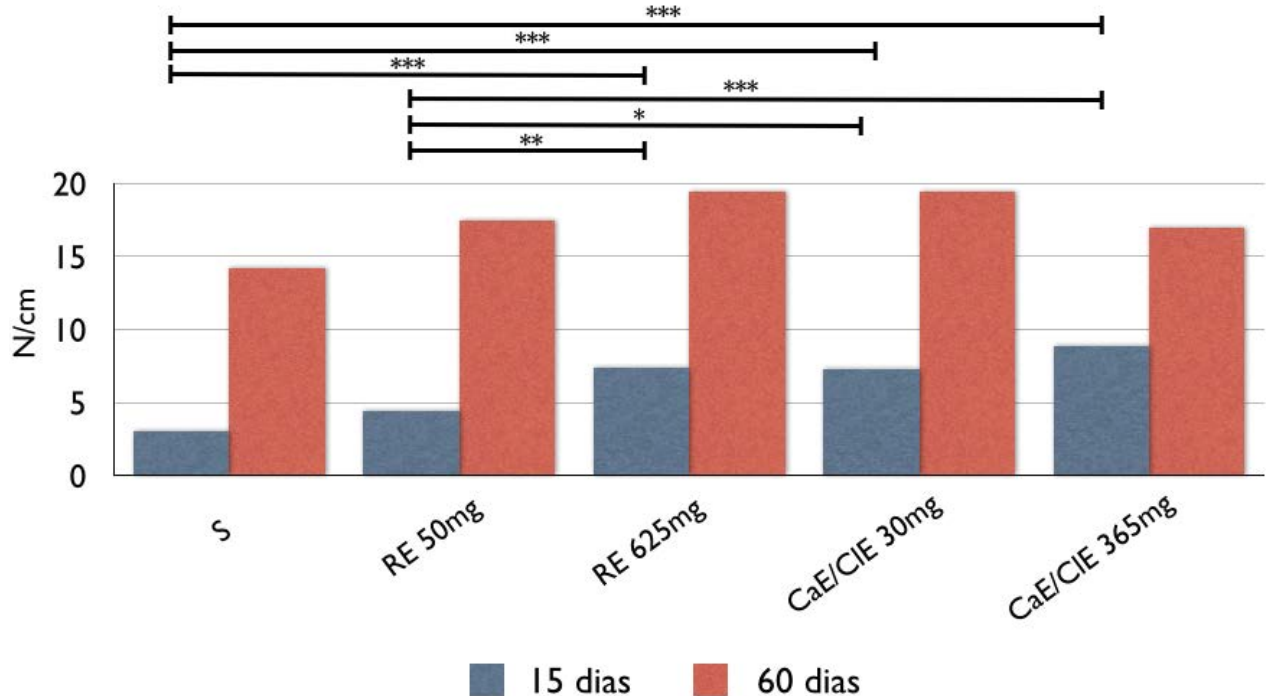
No período de 15 dias os animais que ingeriram o ranelato de estrôncio 625mg, cloreto de estrôncio/carbonato de estrôncio 30mg e o cloreto de estrôncio/carbonato de estrôncio 365mg apresentaram uma maior força de contra-torque de remoção do implante em relação ao grupo controle e grupo ranelato de estrôncio 50mg ($p < 0.01$). No período de 60 dias não foi verificada diferenças estatisticamente significativas entre os grupos avaliados.

Quanto a evolução temporal do contra-torque de remoção dos implantes foi verificado que em todos os grupos houve um aumento significativo da força de remoção no período de 60 dias em relação ao período de 15 dias ($p < 0.001$). A Tabela 2 e o Gráfico 1 expõem a média e o desvio padrão da análise biomecânica dos grupos avaliados.

Tabela 2- Média e desvio padrão referente a análise biomecânica de todos os grupos (NXcm).

Período/Grupos	C	RE	RE	CaE/CIE	CaE/CIE
		50mg	625mg	30mg	365mg
15 dias	3.00±1.00	4.42±2.93	7.42±1.13	7.28±0.95	8.85±0.69
60 dias	14.17±5.98	17.50±2.16	19.43±5.02	19.43±2.93	17.00±2.75

Gráfico 1- Avaliação das médias referentes a análise biomecânica de todos os grupos (NXcm) em relação aos períodos.



*p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001- One-way anova complementado por Tukey

5.2 Análise de % volume ósseo por radiografias tridimensionais (Micro-Ct)

Foi verificado aos 15 dias uma maior % de volume ósseo na área de interesse nos grupos ranelato de estrôncio 625mg e cloreto de estrôncio/carbonato de estrôncio 365mg que no grupo ranelato de estrôncio 50mg ($p<0.05$). Aos 60 dias, os grupos controle e ranelato de estrôncio 50mg apresentaram menor % de volume de tecido ósseo que os grupos ranelato de estrôncio 625mg ($p<0.01$) e que o grupo cloreto de estrôncio/carbonato de estrôncio 365mg ($p<0.05$).

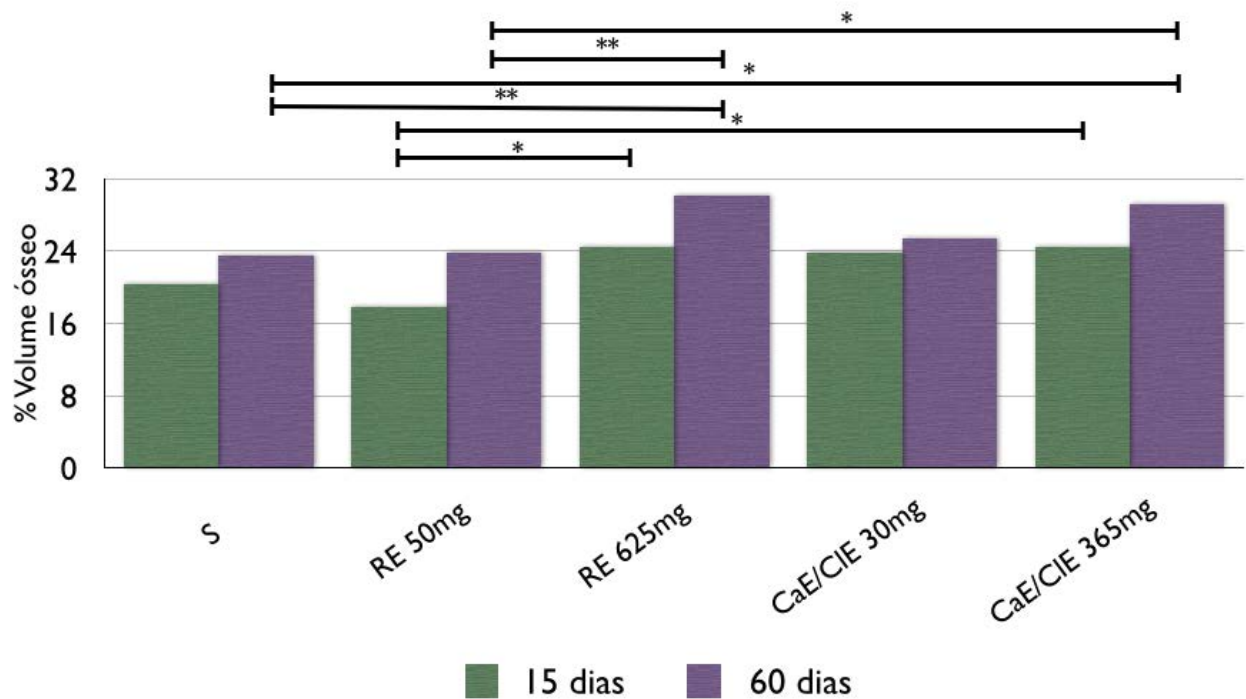
Quanto a evolução temporal da % volume ósseo associado aos implantes foi verificado que em todos os grupos (com exceção do grupo cloreto de estrôncio/carbonato de estrôncio- 30mg) houve um aumento significativo dos valores de % de volume ósseo no período de 60 dias em relação ao período de 15 dias ($p<0.05$). A Tabela 3 e o Gráfico 2

expõem a média e o desvio padrão referente a análise de % volume ósseo avaliada por radiografia microtomográfica de todos os grupos.

Tabela 3- Média e desvio padrão referente a análise de volume ósseo avaliada por radiografia microtomográfica de todos os grupos (%).

Período/Grupos	S	RE 50mg	RE 625mg	CaE/ CIE 30mg	CaE/ CIE 365mg
15 dias	20.41±1.30	17.87±0.79	24.39±2.52	23.84±7.79	24.52±2.14
60 dias	23.56±2.19	23.83±3.95	30.16±2.30	25.47±0.75	29.19±2.77

Gráfico 2- Média e desvio padrão referente a análise de volume ósseo avaliada por Microtomografia digital de todos os grupos (%).



*p<0.05; **p<0.01-One-way anova complementado por Tukey

5.3 Análise histométrica de %BIC e %BA

Com relação a análise histométrica de %BIC (contato osso implante) da e %BA (osso área), foi verificado que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Com relação a avaliação temporal da evolução da %BIC e da %BA dentro de cada grupo foi verificado que o grupo controle e cloreto de estrôncio/carbonato de estrôncio 30 mg houve um aumento estatisticamente significativo da %BIC no período de 60 dias em relação ao período de 15 dias ($p < 0.05$). Adicionalmente foi verificado nos grupos controle, ranelato de estrôncio 625mg e cloreto de estrôncio/carbonato de estrôncio 30mg um aumento da %BA no período de 60 dias em relação ao período de 15 dias ($p < 0.01$).

A Tabela 4 e o Gráfico 3 expõem as médias e desvio padrão referente a análise do contato entre o osso e o implante analisadas histometricamente (% BIC), enquanto que a Tabela 5 e o Gráfico 4 expõe as médias e desvio padrão referente a análise de área óssea entre as roscas dos implantes analisadas histometricamente (% BA).

Tabela 4- Média e desvio padrão referente a análise do contato entre o osso e o implante analisadas histometricamente (% BIC).

Período/Grupos	S	RE	RE	CaE/ CIE	CaE/ CIE
		50mg	625mg	30mg	365mg
15 dias	34.50±9.47	40.22±12.01	42.48±15.60	34.36±13.66	49.14±13.23
60 dias	48.72±10.64	47.52±12.92	57.84±15.09	67.09±9.76	58.71±13.87

Gráfico 3- Média e desvio padrão referente a análise do contato entre o osso e o implante. analisadas histometricamente (% BIC).

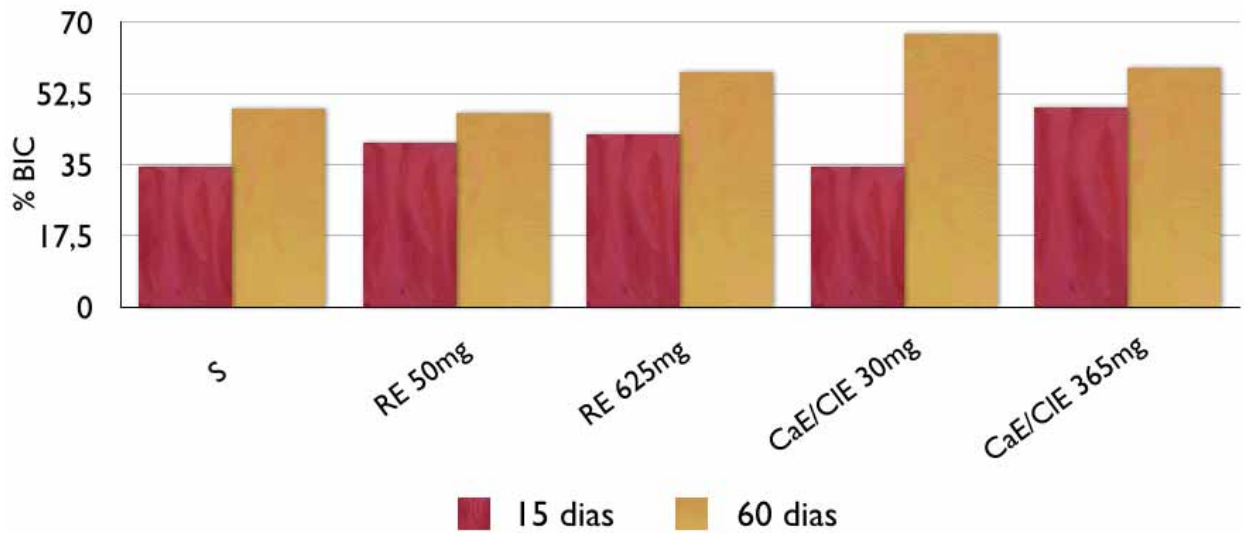
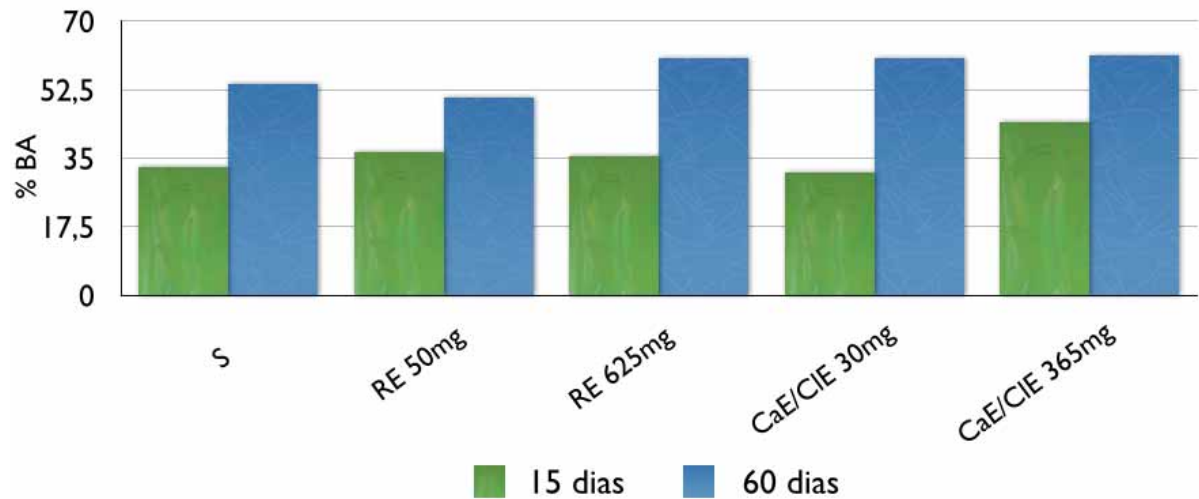


Tabela 5- Média e desvio padrão referente a análise de área óssea entre as roscas dos implantes analisadas histometricamente (% BA).

Período/Grupos	S	RE 50mg	RE 625mg	CaE/ CIE 30mg	CaE/ CIE 365mg
15 dias	32.75±8.06	36.59±10.32	35.65±9.63	31.24±11.40	44.04±12.12
60 dias	54.06±12.76	50.32±19.86	60.59±15.97	60.43±12.03	61.20±16.91

Gráfico 4- Média e desvio padrão referente a análise de área óssea entre as roscas dos implantes analisadas histometricamente (% BA).



5.4 Análise histológica

Os cortes analisados revelaram cortes longitudinais de osso compacto, composto por lamelas circunferenciais envolvendo figuras vasculares, lamelas intersticiais, osteócitos que se apresentam com formato lenticular ocupando espaços naturalmente achatados denominados de lacunas, que por sua vez estavam envolvidas por matriz osteóide (não calcificada). Na periferia, em algumas regiões, observa-se que o tecido ósseo estava envolvido por perióstio. Internamente, em determinadas regiões observa-se tecido medular caracteristicamente basofílico, ocupando os espaços medulares. (Figura 15).

Figura 15 - Painel com cortes histomicrograficos representativos das secções não descalcificadas das regiões femurais com implantes utilizados na avaliação histomorfométrica de acordo com cada grupo tratado (soro ou estrônio) e respectivo período da medicação (4 ou 10 semanas) em um aumento de 10x. Não houve diferenças estatísticas entre os grupos (%BIC / %BA). Coloração Stevenel's Blue/fucsina ácida (continua).

15 dias

60 dias

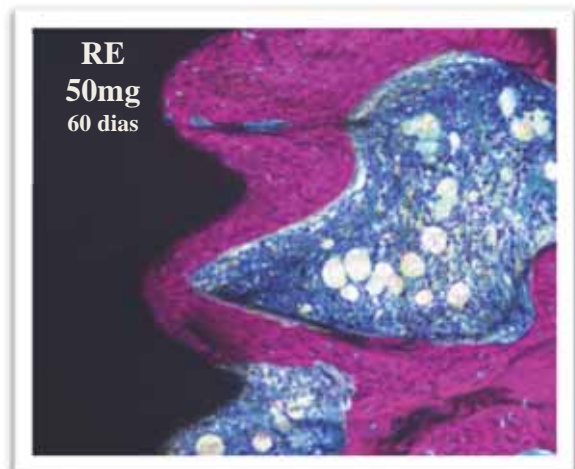
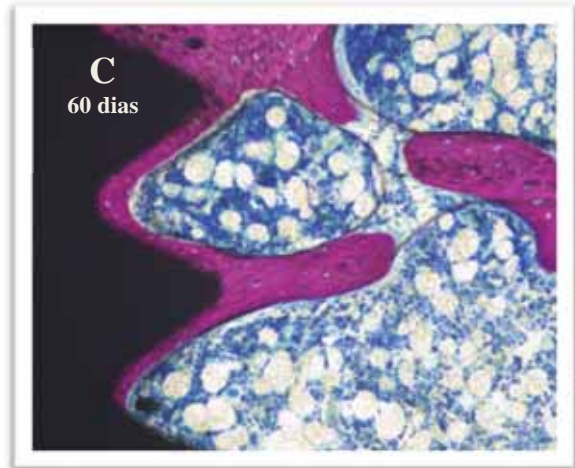
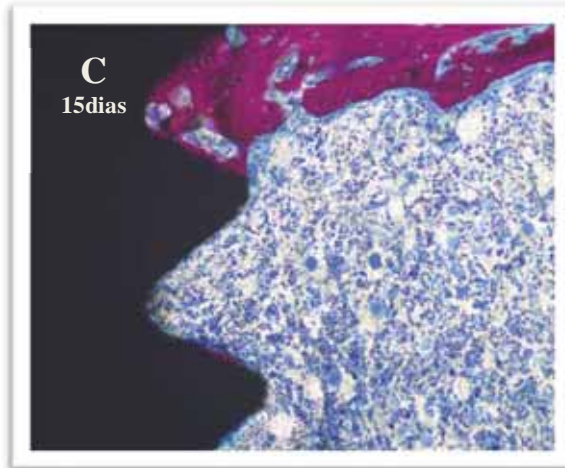
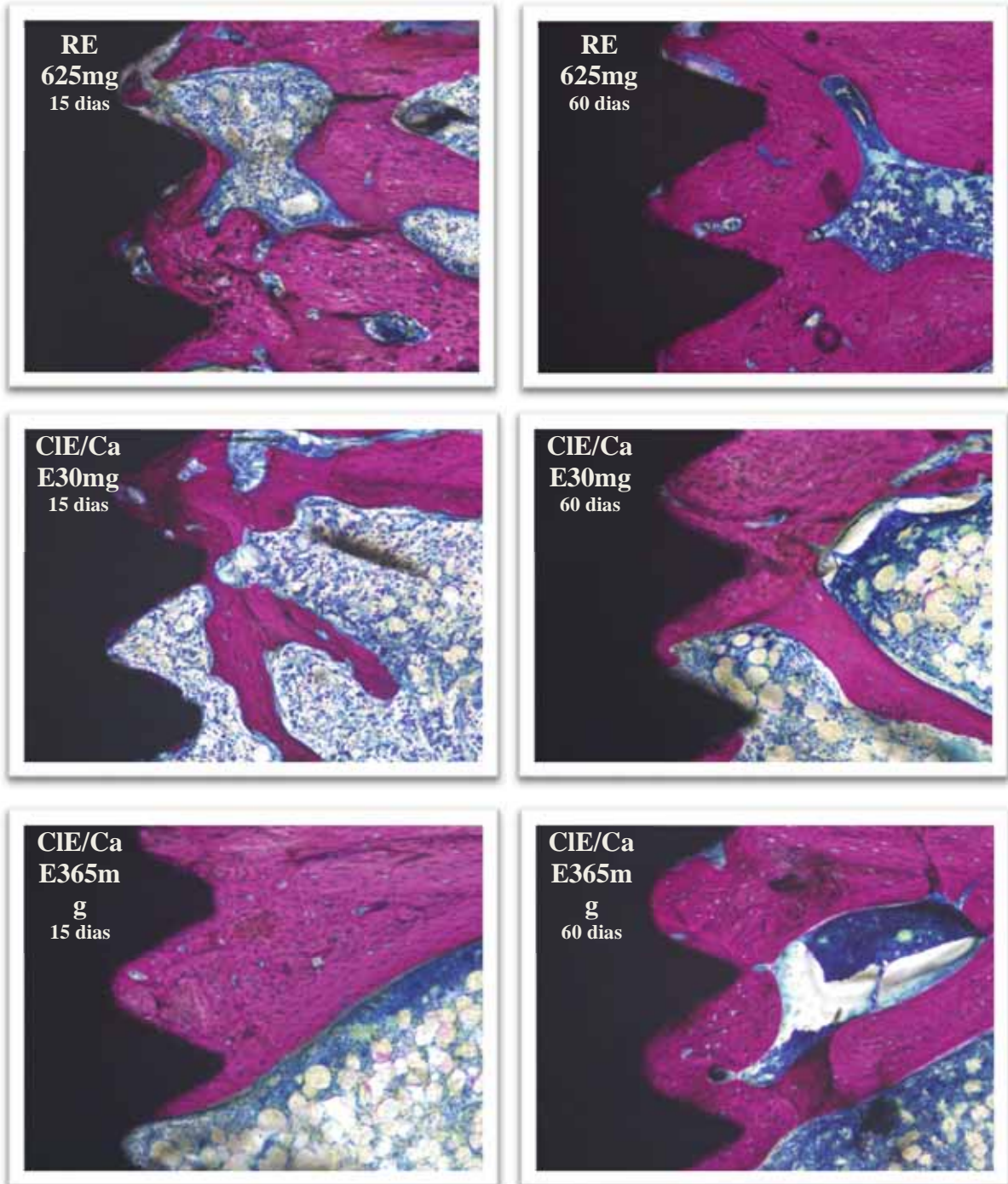


Figura 15 - Paineis com cortes histomicrograficos representativos das secções não descalcificadas das regiões femurais com implantes utilizados na avaliação histomorfométrica de acordo com cada grupo tratado (soro ou estrôncio) e respectivo período da medicação (4 ou 10 semanas) em um aumento de 10x. Não houve diferenças estatísticas entre os grupos (%BIC / %BA). Coloração Stevenel's Blue/fucsina ácida (conclusão).

15 dias

60 dias



6 Discussão

O objetivo deste trabalho foi avaliar em ratos a influência de medicamentos a base de estrôncio na osseointegração de implantes. Estes medicamentos atuam de modo a impedir a reabsorção óssea ao mesmo tempo que estimulam a sua formação, através de mecanismos que agem em osteoclastos e osteoblastos, respectivamente²⁰. Devido a ação destes medicamentos sobre o tecido ósseo, estes podem ser utilizados nos procedimentos cirúrgicos odontológicos que necessitam de nova formação óssea, como no caso da reabilitação com implantes osseointegráveis. Para avaliar essa hipótese foram realizadas análises biomecânicas, microtomográficas e histomorfométricas.

Como na literatura não existem estudos com a utilização da associação do cloreto de estrôncio com o carbonato de estrôncio visando a formação óssea, em nosso estudo a dosagem foi definida baseada no peso molecular do ranelato de estrôncio ($C_{12}H_6N_2O_8SSr_2$) que corresponde a 513,49 g (gramas), sendo que 175,24 g são somente de estrôncio. A associação das moléculas de cloreto de estrôncio ($SrCl_2$) e de carbonato de estrôncio ($SrCO_3$) apresentam peso molecular de estrôncio igual a molécula de ranelato estrôncio (175,24 g). Para obter a dosagem dos medicamentos foi obtida a proporção da massa molecular do ranelato de estrôncio em relação a massa total da associação do cloreto de estrôncio com o carbonato de estrôncio (513,49 g de $C_{12}H_6N_2O_8SSr_2$ / 306,14 g de $SrCl_2 + SrCO_3$), obtendo a proporção de 1,7. Sendo assim a dosagem final da associação do cloreto de estrôncio e carbonato de estrôncio foi de 365 mg e 30 mg, de tal maneira que correspondia as mesmas concentrações disponíveis de estrôncio nas formulações de 625 mg e 50 mg de ranelato de estrôncio, respectivamente.

Os animais iniciaram a medicação 15 dias antes do procedimento cirúrgico e o recebiam diariamente no período da manhã, por volta das 7 horas. Esta metodologia esta de acordo com o tempo necessário a se obter um nível plasmático constante do medicamento no organismo de um rato⁵⁶, e o período pela manhã se deve ao fato pelo qual os animais terem

um ciclo circadiano diferente dos humanos, iniciando seu ciclo de sono durante a manhã e persistindo durante o dia, favorecendo a absorção do medicamento sem nenhuma interferência alimentar.

Os resultados biomecânicos, que representam a força necessária para desprender completamente os implantes do tecido ósseo demonstraram que os grupos ranelato de estrôncio 625mg, cloreto de estrôncio e carbonato de estrôncio 30mg e 365mg apresentaram superioridade, com maiores valores no torque de remoção que os grupos controle e ranelato estrôncio 50 no período de 15 dias. Os estudos em animais demonstram que as diferenças estatísticas no torque de remoção se dão em períodos precoces da osseointegração^{25,58,83}. Embora esta análise seja uma forma indireta de observar a osseointegração já foi sugerido que é uma medida válida para esta avaliação^{21,26,40,72,76}. Com relação as dosagens utilizadas, os grupos que obtiveram resultados positivos foram das concentrações maiores, mostrando sua efetividade quando atingido altos níveis plasmáticos⁴⁵. No período de 60 dias todos os grupos apresentaram resultados similares, sem diferenças estatísticas. Esse resultado pode estar relacionado com a utilização de animais saudáveis (sem indução de qualquer patologia) e/ou a utilização de implantes com superfícies tratadas (ácido)³⁷ favorecendo a osseointegração ou a cicatrização óssea. Os estudos de Johansson, Albrektsson³⁶; Schierano et al.⁷³ demonstraram que o processo de osseointegração se encerra com a maturação do tecido ósseo que ocorre em animais ao redor dos implantes após 60 dias de instalação, com evolução temporal de 15 dias para 60 dias.

Em um estudo similar, Maïmoun et al.⁴⁵ avaliaram o uso do ranelato de estrôncio 625 mg em implantes instalados em tíbias de ratos saudáveis, pelo período de 10 semanas. Os resultados demonstraram aumento da força de remoção dos implantes no grupo estrôncio em comparação com o grupo controle após 60 dias.

Na análise microtomográfica no período de 15 dias os grupos ranelato de estrôncio 625 mg e cloreto de estrôncio e carbonato de estrôncio 365mg apresentaram resultados superiores ao grupo ranelato de estrôncio 50mg com maior formação óssea ao redor dos implantes. No período de 60 dias os grupos ranelato de estrôncio 625 mg, e cloreto de estrôncio e carbonato de estrôncio 365mg foram superiores aos grupos controle e ranelato de estrôncio 50mg. Este achado foi semelhante ao encontrado por Li et al.⁴³ que analisaram o efeito do medicamento ranelato de estrôncio 625 mg com a instalação de implantes em ratas osteoporóticas, apresentando maior formação óssea no período de 60 dias, embora esses valores apresentaram resultados maiores quando comparado ao nosso trabalho. Essa diferença pode ser explicada pela administração do medicamento por um período mais longo, em torno de 12 semanas e pela indução de osteoporose, o que facilita demonstrar diferenças no efeito da droga^{7,30,46}. Diferentemente, Linderbäck et al.⁴⁴ não relataram diferença no volume ósseo esponjoso ao redor dos implantes e sim somente um aumento na quantidade óssea após 8 semanas, que possivelmente deve-se ao fato de que o início da administração do medicamento ter acontecido no dia da instalação dos implantes, determinando um período de baixa concentração plasmática inicial¹⁹.

Assim, o estrôncio é capaz de atuar tanto nos processos iniciais de nova formação óssea quanto nos estágios mais avançados de maturação óssea. No entanto, em níveis mais elevados o estrôncio apresenta efeitos benéficos, quando incorporado ao tecido ósseo. Isso pode ocorrer através de dois mecanismos diferentes, de acordo com o tempo de absorção do medicamento. O mecanismo de absorção rápida está diretamente relacionado com a atividade de osteoblastos, onde o estrôncio é absorvido através de processos de troca iônica com o cálcio, ou ligando-se a proteínas osteóides e/ou combinações de ambos. O mecanismo mais lento ocorre através da incorporação dos íons estrôncio na rede cristalina mineral óssea, havendo uma troca gradativa no osso maduro. Isso indica que os mecanismos

de ação do estrôncio estão relacionados com uma absorção relativamente rápida no processo de formação óssea e no osso maduro sua ação é observada a longo prazo, afirmando seu efeito nos processos iniciais como finais da osseointegração, atuando em todas as fases ósseas^{19,44}.

Na avaliação histomorfométrica, tanto a análise de BIC (avaliação da superfície óssea em contato com o implante, em mm) como a de BA (avaliação da área de osso formado entre as roscas, em mm²), foram realizadas nas 3 primeiras roscas de cada implante, conforme estudo anterior²¹. Os resultados não mostraram diferença estatística entre grupos, desta forma os dados obtidos na análise histométrica foram discordantes dos obtidos nas outras análises realizadas no nosso estudo. Isso pode ser devido ao protocolo de preparo das amostras não descalcificadas, onde estas são reduzidas e é obtido somente um corte por implante, o que pode não expressar as condições ósseas reais. Embora alguns trabalhos demonstrem coerência entre análises biomecânicas e/ou histométricas ou por microtomografias^{43,44,45}, essa relação pode ser questionada devido aos motivos já relatados.

Chen et al.¹⁴ quando compararam o estrôncio aos bisfosfonatos (zolendronato e alendronato), em ratas ovariectomizadas encontraram melhora significativa no contato osso implante e fração óssea ao redor das espiras de implantes instalados na região de tíbia nos animais tratados com alendronato, zolendronato e estrôncio quando comparados ao grupo controle. O grupo com zolendronato mostrou-se melhor que os grupos de alendronato e estrôncio. Estes resultados podem estar relacionados com o início da administração do estrôncio, que se iniciou uma semana depois da instalação dos implantes. De acordo com os trabalhos já citados^{4,43,45,50}, a atuação do estrôncio está diretamente relacionado com sua concentração e nível plasmático, sendo estes influenciados pelo tempo de aplicação.

Neste estudo foi avaliado um medicamento (cloreto de estrôncio/carbonato de estrôncio) que não apresentam dados na literatura a respeito de sua utilização, sendo atualmente utilizados na Europa com o nome comercial Strontium D3, porém associado a

vitamina D, para prevenção de patologias como em tratamentos de reparo ósseo. Os resultados indicam que na sua maior concentração apresenta efeitos na osseointegração iguais ao grupo com ranelato estrôncio. Esse dado demonstra que o novo medicamento Cloreto Estrôncio/Carbonato Estrôncio, um medicamento não patenteado, pode vir a substituir o ranelato estrôncio, atuando como um suplemento na prevenção de patologias, no auxílio de procedimentos cirúrgicos maxilo-faciais, bem como tratamento de patologias ósseas.

Podemos considerar que os medicamentos a base de estrôncio não interferiram negativamente na osseointegração. Mais estudos serão necessários para avaliar a ação dos mesmos na osseointegração.

7 Conclusão

De acordo com os resultados obtidos pode se concluir:

- não houve interferência negativa com nenhum dos medicamentos.
- as maiores concentrações de cloreto estrôncio/carbonato estrôncio e ranelato de estrôncio no período de 15 dias apresentaram maior torque de remoção.
- as maiores concentrações de cloreto estrôncio/carbonato estrôncio e ranelato de estrôncio demonstraram maior formação óssea observada na microtomografia no período de 60 dias.
- os medicamentos a base de estrôncio influenciaram positivamente nos testes biomecânicos e microtomográficos.
- cloreto estrôncio/ carbonato estrôncio podem ser novas alternativas com relação ao custo e aplicação em saúde pública.

8 Referências*

**De acordo com o manual da FOAr/UNESP, adaptadas das normas Vancouver. Disponível no site:
<http://www.foar.unesp.br/#!/biblioteca/manual>*

1. Adachi JD, Saag KG, Delmas PD, Liberman UA, Emkey RD, Seeman E, et al. Two-year effects of alendronate on bone mineral density and vertebral fracture in patients receiving glucocorticoids: a randomized, double-blind, placebo-controlled extension trial. *Arthritis Rheum.* 2001; 44(1): 202-11.
2. Ammann P, Rizzoli R, Deloffre P, Tsouderos Y, Meyer JM, Bonjour JP. Long-term administration of a high dose of the strontium salt S12911 has no toxic effect on bone biomechanics in female rats and may improve bone strength of the midshaft humerus. *J Bone Miner Res.* 1995; 10(1): 358.
3. Ammann P. Strontium ranelate: a physiological approach for an improved bone quality. *Bone* 2006; 38(2): 15-8.
4. Ammann P, Shen V, Robin B, Mauras Y, Bonjour JP, Rizzoli R. Strontium ranelate improves bone resistance by increasing bone mass and improving architecture in intact female rats. *J Bone Miner Res* 2004;19(12): 2012–20.
5. Arlot ME, Jiang Y, Genant HK, Zhao J, Burt-Pichat B, Roux JP, et al. Histomorphometric and microCT analysis of bone biopsies from postmenopausal osteoporotic women treated with strontium ranelate. *J Bone Miner Res.* 2008; 23(2): 215-22.
6. Barbara A, Delannoy P, Denis BG, Marie PJ. Normal matrix mineralization induced by strontium ranelate in MC3T3-E1 osteogenic cells. *Metabolism.* 2004; 53(4): 532–7.
7. Belluci MM, Giro G, del Barrio RA, Pereira RM, Marcantonio E Jr, Orrico SR. Effects of magnesium intake deficiency on bone metabolism and bone tissue around osseointegrated implants. *Clin Oral Implants Res.* 2011; 22(7): 716-21.
8. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, Nevitt MC, et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet.* 1996; 348(9041): 1535-41.
9. Blake GM, Fogelman I. Strontium ranelate: a novel treatment for postmenopausal osteoporosis: a review of safety and efficacy. *Clin Interv Aging.* 2006;1(4): 367-75.
10. Brennan TC, Rybchyn MS, Green W, Atwa S, Conigrave AD, Mason RS. Osteoblasts play key roles in the mechanisms of action of strontium ranelate. *Br J Pharmacol.* 2009; 157(7): 1291–300.
11. Buehler J, Chappuis P, Saffar JL, Tsouderos Y, Vignery A. Strontium ranelate inhibits bone resorption while maintaining bone formation in alveolar bone in monkeys (*Macaca fascicularis*). *Bone.* 2001; 29(2): 176–9.

12. Canalis E, Hott M, Deloffre P, Tsouderos Y, Marie PJ. The divalent strontium salt S12911 enhances bone cell replication and bone formation in vitro. *Bone*. 1996; 18(6): 517–23.
13. Chattopadhyay N, Quinn SJ, Kifor O, Ye C, Brown EM. The calcium-sensing receptor (CaR) is involved in strontium ranelate-induced osteoblast proliferation. *Biochem Pharmacol*. 2007; 74(3): 438-47.
14. Chen B, Li Y, Yang X, Xu H, Xie D. Zoledronic acid enhances bone-implant osseointegration more than alendronate and strontium ranelate in ovariectomized rats. *Osteoporos Int*. 2013; 24(7): 2115-21.
15. Choudhary S, Halbout P, Alander C, Raisz LG, Pilbeam CC. Strontium ranelate effects on osteoblastic differentiation: involvement of prostaglandins. *J Bone Miner Res*. 2006; 21(7): 301.
16. Choudhary S, Wadhwa S, Raisz LG, Alander C, Pilbeam CC. Extracellular calcium is a potent inducer of cyclo-oxygenase-2 in murine osteoblasts through an ERK signaling pathway. *J Bone Miner Res*. 2003; 18(10): 1813–24.
17. Consensus Development Conference on Osteoporosis. (1993) Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med*. 94(6):646–50.
18. Conte-Neto N, Bastos AS, Spolidorio LC, Marcantonio RA, Marcantonio E Jr. Oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in rheumatoid arthritis patients: a critical discussion and two case reports. *Head Face Med*. 2011;7:7.
19. Dahl SG, Allain P, Marie PJ, Mauras Y, Boivin G, Ammann P, et al. Incorporation and distribution of strontium in bone. *Bone*. 2001; 28(4): 446-53.
20. Deeks ED, Dhillon S. Spotlight on strontium ranelate: in postmenopausal osteoporosis. *Drugs Aging*. 2010; 27(9): 771-3.
21. De Molon RS, Morais-Camilo JA, Verzola MH, Faeda RS, Pepato MT, Marcantonio E Jr. Impact of diabetes mellitus and metabolic control on bone healing around osseointegrated implants: removal torque and histomorphometric analysis in rats. *Clin Oral Implants Res*. 2013; 24(7): 831-7.
22. Delannoy P, Bazot D, Marie PJ. Long-term treatment with strontium ranelate increases vertebral bone mass without deleterious effect in mice. *Metabolism*. 2002; 51(7): 906–11.

23. Duarte PM; Cesar Neto JB; Goncalves PF; Sallum EA; Nociti FH. Estrogen deficiency affects bone healing around titanium implants: a histometric study in rats. *Implant Dent.* 2003; 12(4): 340-6.
24. Duarte PM; De Vasconcelos Gurgel BC; Sallum AW; Filho GR; Sallum EA; Nociti FHJr. Alendronate therapy may be effective in the prevention of bone loss around titanium implants inserted in estrogen-deficient rats. *J Periodontol.* 2005; 76(1): 107-14.
25. Elias CN, Oshida Y, Lima JHC, Muller CA. Relationship between surface properties (roughness, wettability and morphology) of titanium and dental implant removal torque. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2008;1(3): 234-42.
26. Faeda RS, Tavares HS, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantonio E Jr. Biological performance of chemical hydroxyapatite coating associated with implant surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibbias. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 67(8): 1706-15.
27. Fromigué O, Barbara A, Hay E, Petrel C, Traiffort E, Ruat M, et al. Strontium ranelate stimulates murine osteoblast replication independently of calcium sensing receptor-mediated ERK1/2 activation. *Calcif Tissue Res.* 2006; 78(1): 417.
28. Fuchs RK, Allen MR, Condon KW, Reinwald S, Miller LM, McClenathan D, et al. Strontium ranelate does not stimulate bone formation in ovariectomized rats. *Osteoporos Int.* 2008; 19(9): 1331-41.
29. Giger EV, Castagner B, Leroux JC: Biomedical applications of bisphosphonates. *J Control Release.* 2013; 167(2):175.
30. Giro G, Sakakura CE, Gonçalves D, Pereira RM, Marcantonio E Jr, Orrico SR. Effect of 17 beta-estradiol and alendronate on the removal torque of osseointegrated titanium implants in ovariectomized rats. *J Periodontol.* 2007; 78(7): 1316-21.
31. Green J, Czanner G, Reeves G, Watson J, Wise L, Beral V. Oral bisphosphonates and risk of cancer of oesophagus, stomach, and colorectum: case-control analysis within a UK primary care cohort. *BMJ.* 2010; 341:c4444.
32. Grynepas MD, Hamilton E, Cheung R, Tsouderos Y, Deloffre P, Hott M, et al. Strontium increases vertebral bone volume in rats at a low dose that does not induce mineralization defect. *Bone.* 1996; 18(3): 253-9.
33. Grynepas MD, Marie PJ. Effects of low doses of strontium on bone quality and quantity in rats. *Bone.* 1990; 11(5):313-9.
34. Hott M, Deloffre P, Tsouderos Y, Marie PJ. S12911-2 reduces bone loss induced by short-term immobilization in rats. *Bone.* 2003; 33(1): 115-23.

35. Jimbo R, Coelho PG, Vandeweghe S, Schwartz-Filho HO, Hayashi M, Ono D, et al. Histological and three-dimensional evaluation of osseointegration to nanostructured calcium phosphate-coated implants. *Acta Biomater.* 2011; 7(12): 4229-34.
36. Johansson C, Albrektsson T. Integration of screw implants in the rabbit: a 1-year follow-up of removal torque of titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1987; 2(2): 69-75.
37. Johansson CB, Han CH, Wennerberg A, Albrektsson T. A quantitative comparison of machined commercially pure titanium and titanium-aluminum-vanadium implants in rabbit bone. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998; 13(3): 315-21.
38. Kaufman JM, Audran M, Bianchi G, Braga V, Diaz-Curiel M, Francis RM, et al. Efficacy and safety of strontium ranelate in the treatment of osteoporosis in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(2): 592-601.
39. Klaus J, Haenle MM, Schroter C, Adler G, von Boyen G, Reinshagen M, et al. A single dose of intravenous zoledronate prevents glucocorticoid therapy-associated bone loss in acute flare of Crohn's disease, a randomized controlled trial. *Am J Gastroenterol.* 2011; 106(4): 786-93.
40. Klokkevold PR, Johnson P, Dadgostari S, Caputo A, Davies JE, Nishimura RD. Early endosseous integration enhanced by dual acid etching of titanium: a torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12(4): 350-7.
41. Kostenuik PJ, Shaloub V. Osteoprotegerin: a physiological and pharmacological inhibitor of bone resorption. *Curr Pharm Des.* 2001; 7(8): 613-35.
42. Lazarovici TS, Yahalom R, Taicher S, Elad S, Hardan I, Yarom N. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a single-center study of 101 patients. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 67(4): 850-5.
43. Li Y, Feng G, Gao Y, Luo E, Liu X, Hu J. Strontium ranelate treatment enhances hydroxyapatite-coated titanium screws fixation in osteoporotic rats. *J Orthop Res.* 2010; 28(5): 578-82.
44. Linderbäck P, Agholme F, Wermelin K, Närhi T, Tengvall P, Aspenberg P. Weak effect of strontium on early implant fixation in rat tibia. *Bone.* 2012; 50(1): 350-6.
45. Maimoun L, Brennan TC, Badoud I, Dubois-Ferriere V, Rizzoli R, Ammann P. Strontium ranelate improves implant osseointegration. *Bone.* 2010; 46(5): 1436-41.
46. Margonar R, Sakakura CE, Holzhausen M, Pepato MT, Alba JR, Marcantonio E Jr. The influence of diabetes mellitus and insulin therapy on biomechanical retention around dental implants: a study in rabbits. *Implant Dent.* 2003; 12(4): 333-9.

47. Marie PJ, Ammann P, Boivin G, Rey C. Mechanisms of action and therapeutic potential of strontium in bone. *Calcif Tissue Int.* 2001; 69(3): 121-9.
48. Marie PJ, Garba MT, Hott M, Miravet L. Effect of low doses of stable strontium on bone metabolism in rats. *Miner Electrolyte Metab.* 1985; 11(1): 5–13.
49. Marie PJ, Hott M. Short-term effects of fluoride and strontium on bone formation and resorption in the mouse. *Metabolism.* 1986; 35(6): 547–51.
50. Marie PJ, Hott M, Modrowski D, De Pollak C, Guillemain J, Deloffre P, et al. An uncoupling agent containing strontium prevents bone loss by depressing bone resorption and maintaining bone formation in estrogen-deficient rats. *J Bone Miner Res.* 1993; 8(5): 607-15.
51. Marie PJ. Strontium ranelate: a physiological approach for optimizing bone formation and reabsorption. *Bone.* 2006; 38(2): 10-4.
52. Marie PJ. Strontium ranelate: new insights into its dual mode of action. *Bone.* 2007; 40 (5 Supl1): 5-8.
53. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005; 63(11): 1567-75.
54. Mentaverri R, Hurtel-Lemaire AS, Wattel A, Kamel S, Brown EM, Brazier M. Calcium-sensing receptor mediates strontium ranelate-induced osteoclast apoptosis. *Bone.* 2005; 36(2): 403.
55. Meunier PJ, Roux C, Ortolani S, Diaz-Curiel M, Compston J, Marquis P, et al. Effects of long-term strontium ranelate treatment on vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2009; 20(10): 1663-73.
56. Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, et al. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 2004; 350(5):459-68.
57. Morohashi T, Sano T, Yamada S. Effects of strontium on calcium metabolism in rats. I. A distinction between the pharmacological and toxic doses. *Jpn J Pharmacol.* 1994; 64(3): 155-62.
58. Omar OM, Lennerås ME, Suska F, Emanuelsson L, Hall JM, Palmquist A, et al. The correlation between gene expression of proinflammatory markers and bone formation during osseointegration with titanium implants. *Biomaterials.* 2011; 32(2): 374-86.
59. Orozco C, Maalouf NM. Safety of bisphosphonates. *Rheum Dis clin North Am.* 2012; 38(4): 681–705.

60. Pemmer B, Hofstaetter JG, Meirer F, Smolek S, Wobrauschek P, Simon R, et al. Increased strontium uptake in trabecular bone of ovariectomized calcium-deficient rats treated with strontium ranelate or strontium chloride. *J Synchrotron Radiat.* 2011; 18(6): 835-41.
61. Peng S, Liu XS, Zhou G, Li Z, Luk KD, Guo XE, et al. Osteoprotegerin deficiency attenuates strontium-mediated inhibition of osteoclastogenesis and bone resorption. *J Bone Miner Res.* 2011; 26(6): 1272-82.
62. Pi M, Faber P, Ekema G, Jackson PD, Ting A, Wang N, et al. Identification of a novel extracellular cation-sensing G-protein-coupled receptor. *J Biol Chem.* 2005; 280(48): 40201-9.
63. Pi M, Quarles LD. A novel cation-sensing mechanism in osteoblasts is a molecular target for strontium. *J Bone Miner Res.* 2004; 19(5): 862-9.
64. Reginster JY, Beudart C, Neuprez A, Bruyère O. Strontium ranelate in the treatment of knee osteoarthritis: new insights and emerging clinical evidence. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2013; 5(5): 268-76.
65. Reginster JY, Felsenberg D, Boonen S, Diez-Perez A, Rizzoli R, Brandi ML, et al. Effects of long-term strontium ranelate treatment on the risk of nonvertebral and vertebral fractures in postmenopausal osteoporosis: results of a five-year, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2008; 58(6): 1687-95.
66. Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC, Adami S, Compston J, Phenekos C, et al. Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(5): 2816-22.
67. Reginster JY; Deroisy R; Neuprez A; Hilgsmann M; Zegels B; Bruyere O. Strontium ranelate: new data on fracture prevention and mechanisms of action. *Curr Osteoporos.* 2009; 7(3): 96-102.
68. Reinholt F, Hjerpe A, Jansson K, Engfeldt B. Stereological studies on the epiphyseal growth plate in strontium-induced rickets. *J Bone Joint Surg Am.* 1984; 66(8): 1274-80.
69. Roberts WE; Simmons KE; Garetto LP; DeCastro RA. Bone physiology and metabolism in dental implantology: risk factors for osteoporosis and other metabolic bone diseases. *Implant Dent.* 1992; 1(1): 11-21.

70. Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, et al. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer*. 2000; 88(12): 2961-78.
71. Saidak Z, Marie PJ. Strontium signaling: molecular mechanisms and therapeutic implications in osteoporosis. *Pharmacol Ther*. 2012; 136(2): 216-26.
72. Sakakura CE, Margonar R, Holzhausen M, Nociti FH Jr., Alba RC Jr., Marcantonio E Jr. Influence of cyclosporin A therapy on bone healing around titanium implants: A histometric and biomechanic study in rabbits. *J Periodontol*. 2003; 74(7): 976-81.
73. Schierano G, Canuto RA, Navone R, Peirone B, Martinasso G, Pagano M, et al. Biological factors involved in the osseointegration of oral titanium implants with different surfaces: a pilot study in minipigs. *J Periodontol*. 2005; 76(10): 1710-20.
74. Seeman E, Vellas B, Benhamou C, Aquino JP, Semler J, Kaufman JM, et al. Strontium ranelate reduces the risk of vertebral and nonvertebral fractures in women eighty years of age and older. *J Bone Miner Res*. 2006; 21(7): 1113-20.
75. Sobel AE, Cohen Y, Kramer B. The nature of the injury to the calcifying mechanisms in rickets due to strontium. *Biochem J*. 1935; 29(12): 2640-5.
76. Spin-Neto R, Belluci MM, Sakakura CE, Scaf G, Pepato MT, Marcantonio E Jr. Homeopathic *Symphytum officinale* increases removal torque and radiographic bone density around titanium implants in rats. *Homeopathy*. 2010; 99(4): 249-54.
77. Stoch SA, Saag KG, Greenwald M, Sebba AI, Cohen S, Verbruggen N, et al. Once-weekly oral alendronate 70 mg in patients with glucocorticoid-induced bone loss: a 12-month randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Rheumatol*. 2009; 36(8): 1705-14.
78. Storey E. Intermittent bone changes and multiple cartilage defects in chronic strontium tickets in rats. *J Bone Joint Surg*. 1962; 44B:194-208.
79. Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev*. 1999; 20(3): 345-57.
80. Sugata Y, Sotome S, Yuasa M, Hirano M, Shinomiya K, Okawa A. Effects of the systemic administration of alendronate on bone formation in a porous hydroxyapatite/collagen composite and resorption by osteoclasts in a bone defect model in rabbits. *J Bone Joint Surg Br* . 2011; 93(4): 510-6.
81. Takahashi N, Sasaki T, Tsouderos Y, Suda T. S12911-2 inhibits osteoclastic bone resorption in vitro. *J Bone Miner Res*. 2003; 18(6): 1082-7.

82. Vestergaard P. Occurrence of gastrointestinal cancer in users of bisphosphonates and other antiresorptive drugs against osteoporosis. *Calcif Tissue Int.* 2011; 89(6): 434-41.
83. Wennerberg A, Albrektsson T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 2009; 20(4):172-84.
84. Zheng Y, Jin W, Wang C, Yang M, Shen H, Eisa MH, Mi Y. The effects of strontium ranelate treatment on ovariectomized Sprague-Dawley rat tibia. *Nucl Instrum Methods Phys Res B.* 2009; 267: 2128–31.
85. Zhu L, Zaidi S, Peng Y, Zhou H, Moonga BS, Blesius A, et al. Induction of a program gene expression during osteoblast differentiation with strontium ranelate. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007; 355(2): 307–11.

9 Anexos

9.1 Anexo 1- Bula medicamentosa do Ranelato de Estrôncio

IDENTIFICAÇÃO DO MEDICAMENTO: PROTOS[®]

Ranelato de estrôncio 2g

APRESENTAÇÕES

Pó granulado para suspensão oral. Embalagem contendo 14, 28 ou 56 sachês de 2g.

USO ORAL

USO ADULTO

COMPOSIÇÃO:

Cada sachê de PROTOS[®] contém:

ranelato de estrôncio hidratado..... 2,632g.

correspondente a 2,0g de ranelato de estrôncio

anidroexcipientes q.s.p1 sachê.

Excipientes: aspartamo, maltodextrina, manitol.

INFORMAÇÕES AO PACIENTE:

1. PARA QUE ESTE MEDICAMENTO É INDICADO?

PROTOS[®] (ranelato de estrôncio), um medicamento não hormonal, é indicado no tratamento da osteoporose:

- em mulheres pós-menopáusia, reduzindo o risco de fraturas vertebrais e do quadril;
- em homens com risco de fraturas aumentado.

2. COMO ESTE MEDICAMENTO FUNCIONA?

Sobre a osteoporose. O nosso corpo está constantemente destruindo osso antigo e formando novo tecido ósseo. Se você tem osteoporose o seu corpo degrada mais osso do que forma, portanto, gradualmente, ocorre perda óssea e seus ossos ficam mais finos e frágeis. Isto é particularmente comum nas mulheres após a menopausa. Muitas pessoas com osteoporose não têm sintomas e podem não saber que a tem. No entanto, a osteoporose aumenta a sua probabilidade de ter fraturas (quebra de ossos), principalmente na sua coluna vertebral, quadril e punhos. Como funciona PROTOS[®]

PROTOS[®] que contém a substância ranelato de estrôncio pertence a um grupo de medicamentos utilizados para tratar doenças ósseas.

PROTOS[®] funciona através da redução da destruição do osso e da estimulação da sua reconstrução, reduzindo assim o risco de fraturas. O novo osso formado é de qualidade normal.

O início da ação farmacológica de PROTOS[®], na maioria dos pacientes, pode ser observado em exame laboratorial de marcadores sanguíneos a partir de 3 (três) meses. A eficácia terapêutica é comprovada na melhoria da qualidade óssea a partir do 3 mês, com aumento da DMO (Densidade Mineral Óssea) a partir de 6 (seis) meses.

3. QUANDO NÃO DEVO USAR ESTE MEDICAMENTO?

PROTOS[®] não deve ser utilizado:

- se você tem alergia ao ranelato de estrôncio ou a qualquer um dos componentes da fórmula (indicados na seção composição);
- se você tiver ou tiver tido um evento tromboembólico venoso;
- se você estiver imobilizado permanentemente ou durante algum tempo, tal como estar em uma cadeira de rodas ou acamado ou se for submetido a uma operação ou se recuperando de uma cirurgia. O risco de trombose venosa pode estar aumentado nas situações de imobilização prolongada.

Este medicamento é contraindicado para menores de 18 anos.

4. O QUE DEVO SABER ANTES DE USAR ESTE MEDICAMENTO?

Fale com seu médico ou farmacêutico antes de tomar PROTOS[®]

- se você tiver doença renal grave.

Se durante o tratamento com **PROTOS[®]** você tiver uma reação alérgica (tal como inchaço da face, língua ou garganta, dificuldade em respirar ou engolir, eritema), você deve interromper imediatamente o tratamento e procurar um atendimento médico. Foram comunicadas com a utilização de PROTOS[®], erupções na pele que potencialmente colocam a vida em risco (síndrome de Stevens-Johnson, necrólise epidérmica tóxica (TEN) e reação de hipersensibilidade grave (DRESS)).

Na síndrome de Stevens-Johnson e na necrólise epidérmica tóxica aparecem inicialmente no tronco marcas avermelhadas semelhantes a alvos ou manchas circulares geralmente com bolhas no centro. Sinais adicionais que requerem atenção incluem feridas na boca, garganta, nariz, genitais e conjuntivite (olhos vermelhos e inchados). Estas erupções cutâneas que potencialmente colocam a vida em risco são geralmente acompanhadas por sintomas do tipo gripal. A erupção pode progredir para bolhas generalizadas ou descamação da pele.

O DRESS aparece inicialmente com sintomas tipo gripal e uma erupção na face e seguida de uma erupção extensa com febre alta, níveis aumentados das enzimas hepáticas nos testes sanguíneos e aumento de um tipo de glóbulos brancos (eosinófilos), bem como nódulos linfáticos aumentados. O risco de ocorrência de reações cutâneas graves é mais elevado nas primeiras semanas de tratamento para a síndrome de Stevens-Johnson e necrólise epidérmica tóxica e geralmente cerca de 3-6 semanas para o DRESS. Se você tiver tido síndrome de Stevens-Johnson ou necrólise epidérmica tóxica ou DRESS com a utilização de PROTOS[®], não volte mais a tomar PROTOS[®].

Se você teve uma erupção ou estes sintomas cutâneos, pare de tomar PROTOS[®], fale urgente com seu médico e o informe que está tomando PROTOS[®]. Se você for de origem asiática, fale com o seu médico antes de tomar PROTOS[®] uma vez que pode ter um maior risco de reações cutâneas.

Uso em crianças e adolescentes: PROTOS[®] não está indicado para utilização em crianças e adolescentes (com idade inferior a 18 anos).

Este medicamento é contraindicado para menores de 18 anos.

Gravidez e lactação: Não tome PROTOS[®] durante a gravidez ou quando estiver amamentando. Se você tomou PROTOS[®] acidentalmente durante a gravidez ou amamentação, pare imediatamente de tomar o medicamento e informe o seu médico.

Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres grávidas sem orientação médica ou do cirurgião-dentista.

Condução de veículos e operação de máquinas: É improvável que PROTOS[®] afete sua capacidade de conduzir ou utilizar máquinas.

PROTOS[®] contém aspartamo. Se você sofre de fenilcetonúria (uma doença do metabolismo rara e hereditária) fale com seu médico antes de começar a tomar este medicamento.

Atenção fenilcetonúricos: contém fenilalanina.**Atenção: Este medicamento contém açúcar (maltodextrina), portanto, deve ser usado com cautela em portadores de Diabetes.**

INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS: Informe seu médico ou farmacêutico se estiver a tomar, tiver tomado recentemente ou vier a tomar outros medicamentos.

- Você deve parar de tomar PROTOS[®] se tiver que tomar tetraciclinas orais ou quinolonas (dois tipos de antibióticos). Você pode recomeçar a tomar PROTOS[®] quando terminar o tratamento com estes antibióticos. Se tiver alguma dúvida, consulte o seu médico ou farmacêutico.
- Se você estiver a tomar medicamentos contendo cálcio, você deve esperar pelo menos duas horas, antes de tomar PROTOS[®].
- Se você toma antiácidos (medicamentos que aliviam a azia), você deve tomá-los pelo menos duas horas após tomar PROTOS[®]. Se isso não for possível, é aceitável tomar os dois medicamentos ao mesmo tempo.

PROTOS[®] COM ALIMENTOS E BEBIDAS

Alimentos, leite e produtos lácteos reduzem a absorção do ranelato de estrôncio. É recomendável tomar PROTOS[®] entre as refeições, de preferência à hora de deitar, pelo menos duas horas após uma refeição, leite ou produtos lácteos ou suplementos de cálcio.

Informe ao seu médico ou cirurgião-dentista, se você está fazendo uso de algum outro medicamento. Não use medicamento sem o conhecimento do seu médico. Pode ser perigoso para a sua saúde.

5. ONDE, COMO E POR QUANTO TEMPO POSSO GUARDAR ESTE MEDICAMENTO?

PROTOS[®] deve ser guardado na sua embalagem original, em temperatura ambiente (entre 15 e 30 °C) e protegido da luz e umidade. Nestas condições, este medicamento possui prazo de validade de 36 (trinta e seis) meses, a partir da data de fabricação.

Número do lote e datas de fabricação e validade: vide embalagem.

Não use medicamento com o prazo de validade vencido. Guarde-o em sua embalagem original.

Após preparo, consumir imediatamente.

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E ORGANOLÉPTICAS PROTOS[®] é apresentado sob a forma de um pó granulado de coloração amarela para suspensão oral.

Antes de usar, observe o aspecto do medicamento. Caso ele esteja no prazo de validade e você observe alguma mudança no aspecto, consulte o farmacêutico para saber se poderá utilizá-lo.

Todo medicamento deve ser mantido fora do alcance das crianças.

6. COMO DEVO USAR ESTE MEDICAMENTO?

Tome este medicamento exatamente como indicado pelo seu médico ou farmacêutico. Fale com seu médico ou farmacêutico se tiver dúvidas. PROTOS[®] é destinado à via oral. A dose recomendada é de um sachê contendo 2g por dia. É recomendado que você tome PROTOS[®] na hora de deitar, preferencialmente pelo menos 2 horas após o jantar. Você pode deitar-se imediatamente após tomar PROTOS[®] se assim o desejar.

Tome o granulado contido nos sachês como uma suspensão em um copo com água (veja instruções abaixo indicadas). PROTOS[®] pode interagir com leite e produtos lácteos, por isso é importante que você misture PROTOS[®] apenas com água, de forma a assegurar suas propriedades.

1. Esvazie o sachê em um copo; 2. Adicione água; 3. Misture até que o granulado esteja bem disperso na água.

Beba em seguida. Não deixe passar mais de 24 horas até o beber. Se por qualquer razão não puder tomar o medicamento imediatamente, certifique-se que o granulado está bem disperso na água antes de bebê-lo.

O seu médico poderá aconselhá-lo a tomar suplementos de cálcio, Vitamina D e PROTOS[®]. Não tome suplementos de cálcio ao deitar, ao mesmo tempo em que PROTOS[®]. O seu médico irá definir por quanto tempo você deve tomar PROTOS[®]. A terapêutica da osteoporose é geralmente necessária durante um longo período. É importante que continue a tomar PROTOS[®] durante todo o tempo prescrito pelo seu médico.

Siga a orientação de seu médico, respeitando sempre os horários, as doses e a duração do tratamento. Não interrompa o tratamento sem o conhecimento do seu médico.

7. O QUE DEVO FAZER QUANDO EU ME ESQUECER DE USAR ESTE MEDICAMENTO?

Caso você esqueça de tomar PROTOS[®] no horário receitado pelo seu médico, tome-o assim que se lembrar. Porém, se já estiver próximo ao horário de tomar a dose seguinte, pule a dose esquecida e tome a próxima, continuando normalmente o esquema de doses receitado pelo seu médico. Neste caso, não tome o medicamento duas vezes para compensar a dose esquecida. O esquecimento da dose pode, entretanto, comprometer a eficácia do tratamento.

Em caso de dúvidas, procure orientação do farmacêutico ou de seu médico, ou do cirurgião-dentista.

8. QUAIS OS MALES QUE ESTE MEDICAMENTO PODE ME CAUSAR?

Como todos os medicamentos, este medicamento pode causar efeitos secundários, embora estes não se manifestem em todas as pessoas.

A frequência dos possíveis efeitos secundários listados a seguir foi definida usando a seguinte convenção: Reações muito comuns: podem ocorrer em mais de 10% dos pacientes que utilizam este medicamento. Reações comuns: podem ocorrer entre 1% e 10% dos pacientes que utilizam este medicamento. Reações incomuns: podem ocorrer entre 0,1% e 1% dos pacientes que utilizam este medicamento. Reações raras: podem ocorrer entre 0,01% e 0,1% dos pacientes que utilizam este medicamento.

Reações muito raras: podem ocorrer em menos de 0,01% dos pacientes que utilizam este medicamento. Reações desconhecidas: a frequência não pode ser calculada a partir dos dados disponíveis.

Reações comuns: Evento tromboembólico venoso. Os sinais incluem inchaço doloroso das pernas, dor súbita no peito ou dificuldade em respirar. Se você tiver qualquer um destes sintomas, consulte imediatamente o médico. Náusea, diarreia, dor de cabeça, irritação cutânea (da pele), perturbações da memória e desmaios. Entretanto, estas reações foram ligeiras e passageiras e habitualmente não causaram a interrupção do tratamento. Fale com o seu médico se qualquer um destes efeitos o incomodar ou persistir.

Reações incomuns: Convulsões.

Reações raras: Reações de hipersensibilidade grave (DRESS: ver item 4)

Reações muito raras: Têm sido notificadas reações cutâneas que colocam a vida em risco (Stevens-Johnson, necrólise epidérmica tóxica) (ver item 4).

Reações desconhecidas: Vômitos, dor abdominal (de barriga), refluxo, indigestão, constipação (prisão de ventre), flatulência (liberação de gases com mais frequência), boca seca, dormência e formigamentos, tonturas, vertigem, dificuldade em dormir, inflamação do fígado (hepatite), irritação da mucosa oral (tal como úlceras da boca e inflamação da gengiva), dor óssea, muscular e/ou articular, câibras musculares, perda de cabelo, diminuição da produção de células do sangue na medula óssea, comichão, urticária, formação de bolhas, angioedema (tal como inchaço da face, língua ou garganta, dificuldade em respirar ou engolir), inchaço dos membros, sentir-se mal, sentir-se confuso, hiper-reatividade brônquica (os sintomas incluem respirar com dificuldade e ruidosamente, falta de ar e tosse).

Se o tratamento foi interrompido devido à reações de hipersensibilidade, esta interrupção deverá ser permanente e não se deve reiniciar a terapêutica com PROTOS[®].

Se você tiver quaisquer efeitos secundários, incluindo possíveis efeitos secundários não indicados nesta bula, fale com o seu médico ou farmacêutico.

Informe ao seu médico, cirurgião-dentista ou farmacêutico o aparecimento de reações indesejáveis pelo uso do medicamento. Informe também à empresa através do Sistema de Atendimento ao Consumidor (SAC).

9. O QUE FAZER SE ALGUÉM USAR UMA QUANTIDADE MAIOR DO QUE A INDICADA DESTES MEDICAMENTOS? Se tomar sachês a mais de PROTOS[®], fale com seu médico ou farmacêutico. Eles poderão aconselhá-lo a beber leite ou tomar antiácidos para

reduzir a absorção da substância ativa.

Em caso de uso de grande quantidade deste medicamento, procure rapidamente socorro médico e leve a embalagem ou bula do medicamento, se possível. Ligue para 0800 722 6001, se você precisar de mais orientações.

DIZERES LEGAIS:

MS N° 1.1278.0070 Farm. Responsável: Patrícia Kasesky de Avellar – CRF-RJ n°6350

VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA

Fabricado por: Les Laboratoires Servier Industrie 905 Route de Saran 45520 Gidy - França.

Importado por: Laboratórios Servier do Brasil Ltda, Estrada dos Bandeirantes, n° 4211, Jacarepaguá – CEP: 22.775-113 Rio de Janeiro – RJ – Indústria Brasileira CNPJ: 42.374.207/0001-76 Serviço de Atendimento ao Consumidor: 0800-7033431.

Esta bula foi aprovada pela ANVISA em 27/03/2013.

9.2 Anexo 2- Aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Araraquara
FACULDADE DE ODONTOLOGIA



DECLARAÇÃO

DECLARO, para os devidos fins, que a CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais, desta Faculdade de Odontologia, recebeu o projeto *"UTILIZAÇÃO DO ESTRÔNCIO NÃO RADIOATIVO COMO POTENCIALIZADOR DA REMODELAÇÃO ÓSSEA EM ÁREAS ENXERTADAS E DA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA, RADIOGRÁFICA, MICROTOMOGRÁFICA E IMUNOINFLAMATÓRIA EM RATOS"* (Processo CEUA nº 4/2012), apresentado pela Pesquisadora Profa. Dra. ROSEMARY ADRIANA CHIÉRICI MARCANTONIO. O referido projeto deu entrada nesta Comissão em 15/03/2012, não apresenta pendências até o momento, e seu relatório final deverá ser entregue em MARÇO/2015.

Araraquara, 07 de fevereiro de 2014.


Prof. Dr. PAULO SÉRGIO CERRI
Coordenador da CEUA

Não autorizo a publicação desse trabalho até 25/03/2017

Araraquara, 25 de março de 2014

Cássio Rocha Scardueli