

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 27/03/2020.



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



**Vinícius de Paiva Gonçalves**

**Impacto de andrógenos sobre o processo de reparação tecidual e o mecanismo de reabsorção óssea**

**Araraquara**

**2018**



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



**Vinícius de Paiva Gonçalves**

**Impacto de andrógenos sobre o processo de reparação tecidual e o mecanismo de reabsorção óssea**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara, para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na área de Periodontia

**Orientador:** Prof. Dr. Luís Carlos Spolidorio

**Araraquara**

**2018**

Gonçalves, Vinícius de Paiva

Impacto de andrógenos sobre o processo de reparação  
tecidual e o mecanismo de reabsorção óssea / Vinicius de Paiva  
Gonçalves. – Araraquara: [s.n.], 2018

174 f. ; 30 cm

Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade Estadual  
Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Luis Carlos Spolidorio

1. Tecido de granulação 2. Reabsorção óssea  
3. Periodontite 4. Inflamação 5. Androgênios 6. Ratos  
I. Título

**Vinícius de Paiva Gonçalves**

**Impacto de andrógenos sobre o processo de reparação tecidual e o mecanismo de reabsorção óssea**

**Comissão julgadora**

**Tese para obtenção do grau de Doutor em Odontologia – Área de Periodontia**

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Spolidorio

2º examinadora: Profa. Dra. Flávia Adelino Suaid Malheiros

3º examinadora: Profa. Dra. Marinella Holzhausen Caldeira

4º examinadora: Profa. Dra. Estela Sasso Cerri

5º examinadora: Profa. Dra. Morgana Rodrigues Guimarães Stabili

Araraquara, 27 de março de 2018.

## **DADOS CURRICULARES**

Vinícius de Paiva Gonçalves

NASCIMENTO: 06.10.1989 – Uberaba / MG

FILIAÇÃO: José Augusto Gonçalves da Silva

Ionice Paiva da Silva Gonçalves

2007 – 2010: Curso de Graduação em Odontologia

Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – UNIFEB

2012 – 2014: Curso de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Periodontia

Nível: Mestrado

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2013 – 2014: Curso de Especialização em Periodontia

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2014 – 2018: Curso de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Periodontia

Nível: Doutorado

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

Dedico esse trabalho os meus amados pais, *José Augusto Gonçalves da Silva e Ionice Paiva da Silva Gonçalves*, que como maior incentivo durante esta minha jornada, caminharam arduamente ao meu lado.

Foram incansáveis! E jamais mediram esforços ou questionaram-se sobre qualquer sacrifício por mim realizado. Pelo contrário, são incontáveis os momentos em que abdicaram de suas necessidades em realização às minhas.

À vocês, que sempre incitaram-me o desejo de evoluir e buscar ser a cada dia um ser humano melhor. Não melhor que o próximo, mas ao que era ontem! Tornando-me apto a oferecer o que de melhor possuir, às minhas ações.

À vocês, que são meus melhores mestres. Que um dia me mostraram um caminho, o do bem! E através de seus exemplos, por ele me ensinaram a caminhar e um verdadeiro ser humano me tornar.

Obrigado Pai, por todas as vezes em que disse: “Deus jamais desampara alguém, principalmente o homem bom!”. Obrigado Mãe, pelos inúmeros momentos em que não cansou de repetir: “Com paciência e humildade, a gente chega lá!”. Todo esse amor, carinho e incentivo, foram imprescindíveis não apenas na trajetória do Doutorado, mas durante a vida toda; e sempre apegado a esses melhores sentimentos, os quais me ensinaram, fui caminhando e batalhando em busca de minhas metas. E hoje, por meio deste, concluo mais uma etapa. E os agradecimentos são meus! À vocês, meus queridos pais, agradeço a compreensão em todas as minhas escolhas, e incentivo à conquista delas. Sempre perseveramos juntos! Portanto, recebam este trabalho como retribuição por toda dedicação e amor que sempre a mim dispensaram. Essa conquista é nossa! Vocês são seres humanos incríveis e iluminados, que contribuem dia-a-dia em minha evolução! **AMO MUITO VOCÊS!!**

*“Uma das coisas mais importantes na educação de um filho, é levá-lo a admirar seu educador.” (Augusto Cury)*

## AGRADECIMENTOS

À *Deus*, por prover a vida e nela ser tão generoso, proporcionando diversas oportunidades de evolução, e durante esta trajetória jamais me ver sem seu amparo.

Aos meus queridos avós, *Francisco Nunes da Silva (in memoriam)*, *Jerônima Madalena de Paiva, José Nilton Geraldo (in memoriam)* e *Maria Lúcia Gonçalves da Silva (in memoriam)*, que independente do convívio conseguiram transmitir todo seu amor e carinho, e sempre com extrema simplicidade e humildade me fizeram aprender os verdadeiros valores do ser humano. Vocês caminham comigo diariamente, principalmente através de seus grandiosos ensinamentos! Amo muito vocês!

À *Lauriê Garcia Belizário*, namorada, amiga e companheira... São incontáveis os motivos a agradecê-la! Mas o maior deles, e o que sustenta os demais, é o grandioso amor que cultiva por mim, demonstrado dia-a-dia, nos mais minuciosos atos. Seu amor me ampara, me guia e fortalece a todo momento. A caminhada com você é mais segura, seu companheirismo contribui constantemente com minha evolução, e seu cuidado reforça a cada dia o desejo de continuar a trajetória por todo o sempre com você! Ao lado de todo grande homem, sempre há uma grande mulher... Obrigado por sê-la! Essa é a forma mais simplificada que encontrei para dizer como é grande e inesgotável o meu amor por você, e o quanto sou grato à Deus por tê-la em minha vida! Gratidão pelos momentos de auxílio durante o Doutorado, e a caminhada em Araraquara! A você também dedico, com imenso carinho, este trabalho! **AMO VOCÊ!**

À minha família materna e paterna... *Paiva e Gonçalves*, que compreende inúmeras pessoas e todas muito queridas e amadas. Meus queridos tios, padrinhos, primos e afilhados, que sempre estiveram na torcida, transmitindo excelentes vibrações, e muitas vezes participando diretamente desta minha caminhada. A união e amor de vocês são imprescindíveis! Amo muito vocês!

À família *Garcia Belizário*, uma segunda família que Deus foi tão generoso em me presentear... À minha sogra, *Laura Belizário* que como uma mãe sempre me acolheu, e sempre demonstrou tanto carinho e zelo... Aos meus cunhados e amigos *Lícia Clara, Lucilara, Sérgio Francisco, Mirela e Giovanni*, e aos sobrinhos de coração *Ana Clara, Maria Paula e Samuel*, agradeço imensamente o carinho e acolhimento de vocês! E ao meu sogro *Sérgio Savik (in memoriam)*, que compartilho diariamente de seus ensinamentos e integridade através de sua amada filha! A todos, meu muito obrigado! Adoro demais vocês!

Ao querido orientador, *Prof. Dr. Luis Carlos Spolidorio*, pelas oportunidades de aprendizado e crescimento, e por toda a confiança e credibilidade na realização deste trabalho, o qual não seria possível sem sua orientação. Agradeço de coração, por acreditar em minhas capacidades! Gratidão pelo convívio diário, alegre, saudável e de tantos momentos de risadas! Esses momentos, os ensinamentos, e nossa amizade, estarão sempre comigo!



À **Walkyria Lacerda Oliveira** (Wal), minha amiga de sempre e para sempre; irmã de alma e coração. Em você sempre encontro a solução de tantas coisas, e o ombro verdadeiramente amigo. Mesmo distante, sua presença fraterna sempre se faz presente. Nossa sintonia transcende qualquer barreira física e laços consanguíneos! Amo muito você minha amiga!

Ao amigo e irmão **Tiago Silva da Fonseca**. Nossa história em Araraquara foi muito bonita! Incontáveis são os momentos de felicidade que compartilhamos. Não podemos falar em dificuldades, em circunstâncias menos alegres, pois nossa amizade grandiosa sempre nos manteve fortes! Juntos perseveramos, sorrimos e algumas vezes choramos, mas em nossa fraternidade sempre nos amparamos, auxiliamos e construímos uma trajetória que tenho muita felicidade e orgulho em recordar. Hoje fica a saudade dos dias de luta, mas continuaremos juntos nos dias de glória, e na batalha constante da vida conte comigo sempre! Tentei ser resistente, porém não consegui... Vou ter que “dar o braço a torcer” e dizer que amo você meu amigo! Estarei sempre emanando boas energias a você, e torcendo pela sua prosperidade e felicidade, pessoal e profissional! Aos seus queridos pais **Josè Anísio** e **Ana**, minha gratidão e carinho pela enorme consideração e acolhimento!

À **Adriana Cabrera Ortega** (Adrianita)... Nesses seis anos de convivência construímos uma relação indescritível, nos tornamos melhores amigos, e sempre caminhando lado a lado cumprimos nossa tarefa da melhor forma possível! Sempre com muita alegria, auxiliamos um ao outro na luta diária, independente dos caminhos que seguimos. São muitas coisas a agradecê-la, e muito tenho a agradecer a Deus pela sua amizade. Obrigado pela nossa convivência fraterna! Adoro você! Estarei sempre na torcida por sua felicidade, sucesso e prosperidade!

À querida amiga **Patrícia Maquera (Patty)**, agradeço por tantos momentos de alegria e risadas! Você é uma amiga muito especial! Obrigado também pela imprescindível colaboração na realização deste trabalho!

À querida **Ana Laura Bizeli**... Agradeço de coração por todo imprescindível auxílio nas jornadas de trabalho! Obrigado pelos ensinamentos frequentes, e a amizade! Estarei sempre torcendo pelo seu melhor, e conte comigo para o que precisar!

Aos amigos de Conceição das Alagoas, os quais não citarei por receio de esquecer alguém. Agradeço pela amizade e carinho, sempre acompanhando minha caminhada. Adoro vocês!

Aos queridos professores de Lassance, Conceição das Alagoas e Barretos, por todo incentivo e carinho de sempre para com minha pessoa. São incomparáveis!

Às queridas amigas **Paula Macedo (Paulinha)** e **Luana Sabino**... Agradeço imensamente a amizade que muita felicidade me proporcionou nessa trajetória em Araraquara! São inúmeros os momentos bons

e lembranças que cultivo com carinho! Vocês são pessoas muito especiais, que levarei para sempre comigo! Adoro vocês demais da conta!

Às queridas amigas **Miriam Magro** (Miris) e **Ana Carolina Venção** (Carol). Nesses anos compartilhamos momentos alegres e divertidos, e outros nem tanto assim; consolamos um ao outro nos momentos saudosos de casa, e em diversas situações nos vimos como irmãos. Agradeço imensamente pela amizade, e pela solidariedade em vários momentos que necessitei. Adoro vocês!

Aos amigos... **Cássio Rocha, Elton Pichotano, Fernanda Florian, Fernando Magalhães, Jackeline Tsurumaki, Livia Moretti, Mateus Delfino, Rafael Nepomuceno, Sâmara Tfaile, Suzane Pigossi**. Agradeço a amizade, os momentos de diversão e colaboração em vários momentos que necessitei. Adoro vocês!

Aos amigos **Mariana Mena Barreto** e **Gabriel Pivoto**... Amigos de tão pouco tempo, mas que tenho enorme afinidade e apreço! Agradeço por todos os momentos de alegria e auxílio! Amigos “manos manauaras”, contem sempre comigo! Adoro muito vocês!

Aos amigos **Laura Gonzalez** e **Meialagan Velayutham**... Companheiros nas jornadas de biotério e laboratório, agradeço por toda a cooperação nos árduos momentos de trabalho!

A todos os demais amigos da Pós-graduação, por toda a colaboração em muitas circunstâncias que de ajuda necessitei, e sempre atenderam prontamente. Obrigado pela amizade também!

À querida **Gabriela Teixeira**... Que em poucos meses de convívio despertou enorme estima, e ao decorrer do tempo solidifica ainda mais sua amizade!

À querida Profa. **Denise Madalena Palomari Spolidorio**, agradeço pela imprescindível colaboração na realização deste trabalho, os ensinamentos e o carinho sempre!

Aos queridos Professores **Paulo Sergio Cerri** e **Estela Sasso Cerri**, por estarem sempre de portas abertas e prontos a ajudarem em qualquer circunstância! Agradeço a disponibilidade e disposição em compartilhar os ensinamentos e, em colaborarem na realização deste trabalho também ao disponibilizar seu laboratório para trabalho!

Ao **Prof. Dr. Carlos Rossa Junior**, grande colaborador no estabelecimento e desenvolvimento deste trabalho. Obrigado pela disponibilidade de sempre, e paciência dispensada durante os ensinamentos. Agradeço ainda, as oportunidades no desenvolvimento de outras atividades, as quais foram imprescindíveis em meu aprendizado!

Aos Professores Doutores do Curso de Pós-Graduação em Odontologia - Periodontia... **Adriana Marcantonio, Carlos Rossa, Daniela Zandin, Elcio Marcantonio, Joni Augusto, José Eduardo**

*Sampaio, Morgana Rodrigues Guimarães Stabili, Silvana Regina Perez Orrico e Pedro Paulo Chaves de Souza.* Agradeço pelo acolhimento e ensinamentos durante esses seis anos em Araraquara. Acompanharão sempre minha caminhada!

Às queridas amigas dos Departamentos de Diagnóstico e Cirurgia – Periodontia e Fisiologia e Patologia... *Dona Maria, Cláudia (Claudinha), Isabela (Isinha), Suleima (Su), Girlene (Lene), Romilda (Nina) e Sandra.* Agradeço toda atenção e disponibilidade em ajudar! Além da grandiosa cooperação no trabalho diário, sempre facilitando a caminhada, agradeço imensamente a amizade! Vocês são pessoas muito especiais e queridas! Estarão para sempre comigo!

Aos queridos *José Zuanon* e *Juliana Pirola* pela imprescindível e incomparável colaboração na realização deste trabalho, e pela amizade! Adoro vocês!

Aos Professores e toda equipe do Departamento de Fisiologia e Patologia.

Aos queridos *José Alexandre Garcia* e *Cristiano Afonso Lamounier*, pela acessibilidade e disponibilidade em atender toda e qualquer necessidade. São imprescindíveis! Obrigado pela paciência.

À Diretoria da FOAr-UNESP, agradeço a estrutura proporcionada à realização do Curso de Pós-Graduação.

A todos os funcionários da FOAr-UNESP que em vários momentos, e às vezes de forma anônima, fizeram a caminhada menos árdua. Muito Obrigado!

Ao CNPq (Processo 141788/2014-3) e FAPESP (Processo 2015/20281-0), pelo apoio financeiro, imprescindível ao decorrer do curso e desenvolvimento deste trabalho.

*“Agradeço a todas as dificuldades enfrentadas.  
Não fossem por elas não teria saído do lugar. As facilidades  
nos impedem de caminhar, e mesmo as críticas nos auxiliam,  
e muito!”*  
(Chico Xavier)

*“Creio em mim mesmo. Creio naqueles que trabalham comigo, creio nos meus amigos e creio na minha família. Creio que Deus me emprestará tudo que necessito para triunfar, contanto que eu me esforce para alcançar com meios lícitos e honestos. Creio nas orações, e nunca fecharei meus olhos para dormir, sem pedir antes a devida orientação a fim de ser paciente com os outros e tolerante com os que não acreditam no que eu acredito. Creio que o triunfo é resultado de esforço inteligente, que não depende da sorte, da magia, de amigos, companheiros duvidosos ou de meu chefe. Creio que tirarei da vida exatamente o que nela colocar. Serei cauteloso quando tratar os outros, como quero que eles sejam comigo. Não caluniarei aqueles que não gosto. Não diminuirei meu trabalho por ver que os outros o fazem. Prestarei o melhor serviço de que sou capaz, porque jurei a mim mesmo triunfar na vida, e sei que o triunfo é sempre resultado do esforço consciente e eficaz. Finalmente, perdoo os que me ofendem, porque compreendo que às vezes ofendo os outros e necessito de perdão.”*

*Mahatma Gandhi*

Gonçalves VP. Impacto de andrógenos sobre o processo de reparação tecidual e o mecanismo de reabsorção óssea [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2018.

## RESUMO

O propósito do trabalho foi avaliar o impacto da depleção de testosterona e sua administração exógena, bem como de drogas bloqueadoras dos receptores de andrógenos (flutamida) e estrógeno (fulvestranto), e inibidoras da conversão de testosterona em estradiol (anastrozol), sobre a reparação tecidual cutânea e reabsorção óssea inflamatória. Foram utilizados 80 ratos, divididos em 8 grupos (n=10/grupo): G1-Sem tratamento, G2-Durateston, G3-Orquiectomia (OQX), G4-OQX+Durateston; G5-Anastrozol, G6-Fulvestranto, G7-Flutamida, G8-Durateston+Anastrozol. Os animais foram submetidos aos diferentes tratamentos por um período de 15 dias e, em seguida, foi realizada a indução de ferida cirúrgica cutânea e reabsorção óssea em calvária durante mais 7 dias. Através dos cortes histológicos foi avaliada a contração das feridas, análise estereométrica e qualitativa do tecido de granulação e mensuração da formação de colágeno; e, ainda, foi realizada reação de imunohistoquímica para os anticorpos PCNA e KGF, e análise da resposta imunoinflamatória por ensaio multiplex. As calvárias foram submetidas a avaliação da porcentagem de tecido ósseo (% BV/TV) através da análise de micromotografia computadorizada ( $\mu$ CT), quantificação do número de osteoclastos e pontos de reabsorção (lacunas de Howship) (H&E), marcação de osteoclastos TRAP+ (imunohistoquímica), e avaliação da resposta imunoinflamatória por ensaio multiplex. Foram utilizados ainda, 60 ratos divididos em 6 grupos (n=10/grupo): 1-Sham, 2-Sham+Ligadura, 3-Orquiectomia (OQX), 4-OQX+Ligadura, 5-OQX+Testosterona, 6-OQX+Testosterona+Ligadura. Os animais foram submetidos aos diferentes tratamentos de acordo com cada grupo e, em seguida, receberam ligadura ao redor dos primeiros molares inferiores, pelo período de 15 dias. Foram analisadas, a expressão de citocinas inflamatórias gengivais através de ensaio ELISA, análise estereométrica do processo inflamatório gengival e quantificação da reabsorção óssea inflamatória por  $\mu$ CT. No modelo de reparo, o tratamento com durateston aumentou a porcentagem de matriz extracelular e vasos sanguíneos, a imunomarcagem para KGF e PCNA, estimulou uma maior contração das feridas, e elevou a produção de TNF- $\alpha$  e TGF- $\beta$ 1 (p<0.05). A flutamida aumentou a proliferação de fibroblastos (imunomarcados por PCNA) e imunomarcagem para KGF, estimulou a contração das feridas (p<0.05) e, ainda, elevou a produção de TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 e VEGF, e reduziu IL-6 e PDGF (p<0.05). No modelo de reabsorção óssea em calvária, a OQX aumentou o número de pontos

de reabsorção e de osteoclastos, assim como a atividade dos osteoclastos ( $p < 0.05$ ), e o tratamento com durateston reduziu esses eventos e preservou o percentual de volume ósseo ( $p < 0.05$ ). O número de pontos de reabsorção foi elevado pela flutamida, e a droga, assim como o fulvestranto, aumentaram a atividade de osteoclastos e elevaram a expressão de RANKL ( $p < 0.05$ ). No modelo de periodontite experimental, a reabsorção óssea foi significativamente atenuada pela orquiectomia ( $p < 0.05$ ). A periodontite experimental induziu um aumento significativo da interleucina IL-1 $\beta$ , que foi reduzido pela orquiectomia. Os níveis de IL-6 não foram afetados pela OQX, mas foram significativamente reduzidos em animais orquiectomizados e tratados com testosterona. Os achados sugerem que níveis sub ou supra fisiológicos de testosterona circulante, em resposta ao bloqueio ou não dos receptores desses hormônios, alteram parte ou partes dos complexos eventos associados a formação do tecido de granulação e reabsorção óssea inflamatória.

**Palavras-chave:** Tecido de granulação. Reabsorção óssea. Periodontite. Inflamação. Androgênios. Ratos.

Gonçalves VP. Impact of androgens on the tissue repair process and the mechanism of bone resorption [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2018.

## **ABSTRACT**

The aim of the study was to evaluate the impact of testosterone depletion and its exogenous administration, as well as androgen receptor blockers (flutamide) and estrogen (fulvestrant), and inhibitors of the conversion of testosterone to estradiol (anastrozol) on the cutaneous tissue repair and inflammatory bone resorption. Eighty rats were divided into eight groups (n=10/group): G1-No treatment, G2-Durateston, G3-Orchiectomy (OQX), G4-OQX+Durateston; G5-Anastrozol, G6-Fulvestrant, G7-Flutamide, G8-Durateston+Anastrozol. The animals were submitted to the different treatments for a period of 15 days and then the induction of cutaneous surgical wound and bone resorption in calvaria was performed for another 7 days. Through the histological sections the wound contraction, stereometric and qualitative analysis of the granulation tissue and measurement of collagen formation were evaluated; and also immunohistochemical reaction was performed for PCNA and KGF antibodies and analysis of the immunoinflammatory response by multiplex assay. The calvaria were submitted to evaluation of the percentage of bone tissue (% BV / TV) through computerized micromotography ( $\mu$ CT) analysis, quantification of the number of osteoclasts and reabsorption points (Howship lacunes) (H&E), labeling of TRAP+ osteoclasts (immunohistochemistry), and evaluation of the immunoinflammatory response by multiplex assay. In addition, 60 rats were divided into 6 groups (n = 10 / group): 1-Sham, 2-Sham+Ligature, 3-Orchiectomy (OQX), 4-OQX+Ligation, 5-OQX+Testosterone, 6-OQX+Testosterone + Ligature. The animals were submitted to different treatments according to each group and then received ligature around the lower first molars, for a period of 15 days. It was performed the expression of gingival inflammatory cytokines by ELISA, stereometric analysis of the inflammatory gingival process and quantification of inflammatory bone resorption by  $\mu$ CT. In the repair model, the durateston treatment increased the extracellular matrix and blood vessels percentage, the immunostaining for KGF and PCNA, stimulated a greater contraction of the wounds, and increased the production of TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ 1 (p <0.05). Flutamide increased the fibroblasts proliferation (immunolabelled by PCNA) and immunolabelling to KGF, stimulated wound contraction (p <0.05), and increased TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 and VEGF production and reduced IL-6 and PDGF (p <0.05). In the calvariae bone resorption model, OQX increased the number of resorption points and osteoclasts, as well as

the activity of osteoclasts ( $p < 0.05$ ), and the treatment with durateston reduced these events and preserved the percentage of bone volume ( $p < 0.05$ ). The reabsorption points number was elevated by flutamide, and the drug, as well as fulvestrant, increased osteoclast activity and elevated RANKL expression ( $p < 0.05$ ). In the experimental periodontitis model, bone resorption was significantly attenuated by orchietomy ( $p < 0.05$ ). Experimental periodontitis induced a significant increase in IL-1 $\beta$  interleukin, which was reduced by orchietomy. IL-6 levels were not affected by OQX, but were significantly reduced in orchietomized and testosterone-treated animals. The findings suggest that sub- or supraphysiological levels of circulating testosterone, in response to or not blocking the receptors of these hormones, alter part or all of the complex events associated with granulation tissue formation and inflammatory bone resorption.

**Keywords:** Granulation tissue. Bone resorption. Periodontitis. Inflammation. Androgens. Rats.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1 Andrógenos – Síntese e Ação.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2 Influência dos Andrógenos Sobre o Processo de Reparo Tecidual.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3 Impacto dos Andrógenos Sobre a Perda Óssea Induzida por Processo Inflamatório.....</b>	<b>20</b>
<b>3 PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1 Hipótese .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2 Objetivo. ....</b>	<b>22</b>
<b>4 PUBLICAÇÕES.....</b>	<b>23</b>
<b>4.1 Publicação 1 .....</b>	<b>23</b>
<b>4.2 Publicação 2 .....</b>	<b>51</b>
<b>4.3 Publicação 3 .....</b>	<b>76</b>
<b>4.4 Publicação 4 .....</b>	<b>102</b>
<b>4.5 Publicação 5 .....</b>	<b>129</b>
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>151</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>152</b>
<b>APÊNDICE – Descrição do Material e Método (Publicações 1 a 5).....</b>	<b>156</b>
<b>ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Experimentação Animal.....</b>	<b>170</b>
<b>ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Experimentação Animal.....</b>	<b>171</b>
<b>ANEXO C – Documentos Comprobatório (Submissão do artigo).....</b>	<b>172</b>
<b>ANEXO D – Documentos Comprobatório (Aceite do artigo).....</b>	<b>173</b>
<b>ANEXO E – Documentos Comprobatório (Autorização do periódico).....</b>	<b>174</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A lesão às células e tecidos resulta na ativação de uma série de eventos que imediatamente iniciam o processo de cura. Em tecidos saudáveis, a cura na forma de regeneração ou reparo, ocorre praticamente após qualquer injúria que cause destruição tecidual e é essencial para a sobrevivência do organismo. De modo geral, o processo de reparo consiste frequentemente em uma combinação de regeneração e formação de cicatriz. A relativa contribuição da regeneração e cicatrização no reparo tecidual depende da habilidade do tecido em regenerar-se e da extensão da lesão<sup>1</sup>. A cura por reparo envolve eventos caracterizados pela complexa reação imunoinflamatória, controle e proliferação celular normal e do crescimento tecidual respeitando as especificidades inerentes a cada tecido lesado, sempre orquestrados por fatores biologicamente ativos e solúveis, como por exemplo as citocinas e fatores de crescimento<sup>2,3</sup>.

A adequação da cura de feridas por reparação pode ser comprometida por fatores locais e sistêmicos que podem reduzir, retardar ou impedir o processo de cura<sup>1,4</sup>. A depender das variadas condições experimentais, sugerem-se que tanto baixos quanto altos níveis de testosterona biodisponível atuam de maneira distinta na regulação de eventos participantes do complexo processo de reparo<sup>4,5,6,7,8,9,10</sup>.

Ashcroft e Mills<sup>5</sup> observaram, em homens, correlação negativa entre níveis elevados de testosterona e o processo natural de reparo de feridas. Por outro lado, alguns trabalhos que utilizam modelos murinos demonstram que a reparação de feridas cutâneas evolui mais rapidamente em animais com baixa disponibilidade de testosterona, enquanto a terapia com o hormônio favorece a angiogênese e prevenção de isquemia e necrose tecidual<sup>4,10,11</sup>; e de modo semelhante, o tratamento sistêmico com antagonista do receptor de andrógeno (RA),

como por exemplo, a flutamida, atua acelerando a reparação tecidual e atenuando a resposta inflamatória<sup>4,5</sup>.

Acrescido a essas informações, é inegável que ocorreram avanços substanciais na compreensão dos eventos que controlam o funcionamento de células e tecidos e, dos efeitos seletivos da testosterona, capazes de alterar e modular as funções celulares. Verificou-se de modo incontestável avanços significativos na compreensão de ação dos andrógenos, incluindo a testosterona, também sobre o metabolismo ósseo. Essa preeminência apoia-se nos receptores de testosterona presentes nas células que compõe esse tecido, assim como, nos efeitos diretos e indiretos marcantes no metabolismo dessas células ósseas<sup>8, 9, 12, 13, 14, 15</sup>. Por fim, a elucidação do efeito da testosterona e de seus receptores sobre o processo de reparo e de reabsorção óssea faz desse hormônio um alvo potencial para a prevenção e conduta terapêutica de diversas condições patológicas a ele vinculadas.

## 5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados deste trabalho, conclui-se que:

Concentração supra e subfisiológica de testosterona, o bloqueio de seus receptores e inibição da aromatase, alteraram parte ou partes dos complexos eventos associados a formação do tecido de granulação e a reabsorção óssea.

- **No modelo de reparo tecidual cutâneo:**

Nível suprafisiológico de testosterona estimulou a maturação do tecido de granulação;  
Flutamida, fulvestranto e anastrozol não alteraram o processo inflamatório;  
Flutamida e fulvestranto aceleraram a retração da ferida cutânea.

- **No modelo de reabsorção óssea em calvária:**

Nível subfisiológico de testosterona mostrou tendência em aumentar a reabsorção óssea;  
Concentração suprafisiológica atuou preservando o percentual de volume ósseo;  
Flutamida e fulvestranto favoreceram a atividade de osteoclastos;  
Flutamida acentuou a reabsorção óssea.

- **No modelo de doença periodontal:**

Depleção de testosterona atenuou a reabsorção óssea inflamatória.

## REFERÊNCIAS\*

1. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins patologia básica. 9ªed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2013.
2. Eming SA, Martin, P, Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Sci Transl Med.* 2014; 6(265): 265sr6.
3. Zhang C, Ponugoti B, Tian C, Xu F, Tarapore R, Batres A, et al. FOXO1 differentially regulates both normal and diabetic wound healing. *J Cell Biol.* 2015; 209(2): 289-303.
4. Gilliver SC, Ashworth JJ, Mills SJ, Hardman MJ, Ashcroft GS. Androgens modulate the inflammatory response during acute wound healing. *J Cell Sci.* 2006; 119(Pt 4):722-32.
5. Ashcroft GS, Mills SJ. Androgen receptor-mediated inhibition of cutaneous wound healing. *J Clin Invest.* 2002; 110(5): 615-24
6. Clarke BL, Khosla S. Androgens and bone. *Steroids.* 2009; 74(3): 296-305.
7. Gilliver SC. Sex steroids as inflammatory regulators. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010; 120(2-3): 105-15.
8. Steffens JP, Herrera BS, Coimbra LS, Stephens DN, Rossa C Jr, Spolidorio LC, et al. Testosterone regulates bone response to inflammation. *Horm Metab Res.* 2014; 46(3): 193-200.
9. Steffens JP, Coimbra LS, Rossa C Jr, Kantarci A, Van Dyke TE, Spolidorio LC. Androgen receptors and experimental bone loss - an in vivo and in vitro study. *Bone.* 2015; 81: 683-90.
10. Chenu C, Adlanmerini M, Boudou F, Chantalat E, Guihot AL, Toutain C, et al. Testosterone prevents cutaneous ischemia and necrosis in males through complementary estrogenic and androgenic actions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017; 37(5): 909-19.
11. Romana-Souza B, Assis de Brito TL, Pereira GR, Monte-Alto-Costa A. Gonadal hormones differently modulate cutaneous wound healing of chronical stressed mice. *Brain Behav Immun.* 2014; 36: 101-10.
12. Colvard DS, Eriksen EF, Keeting PE, Wilson EM, Lubahn DB, French FS, et al. Identification of androgen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Proc Natl Acad Sci.* 1989; 86(3): 854-7.

\*De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacaoatualizado.pdf>

13. Vanderschueren D, Laurent MR, Claessens F, Gielen E, Lagerquist MK, Vandenput L, et al. Sex steroid actions in male bone. *Endocr Rev.* 2014; 35(6): 906-60.
14. Ucer S, Iyer S, Bartell SM, Martin-Millan M, Han L, Kim HN, et al. The effects of androgens on murine cortical bone do not require ar or era signaling in osteoblasts and osteoclasts. *J Bone Miner Res.* 2015; 30(7): 1138-49.
15. Steffens JP, Coimbra LS, Ramalho-Lucas PD, Rossa C Jr, Spolidorio LC. The effect of supra and subphysiologic testosterone levels on ligature-induced bone loss in rats — a radiographic and histologic pilot study. *J Periodontol.* 2012; 83(11): 1432-9.
16. Vandenput L, Ohlsson C. Sex steroid metabolism in the regulation of bone health in men. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010; 121(3-5): 582-8.
17. Golds G, Houdek D, Arnason T. Male hypogonadism and osteoporosis: the effects, clinical consequences, and treatment of testosterone deficiency in bone health. *Int J Endocrinol.* 2017; 2017: 4602129.
18. Osta RE, Almont T, Diligent C, Hubert N, Eschwège P, Hubert J. Anabolic steroids abuse and male infertility. *Basic Clin Androl.* 2016; 26: 2.
19. Giorgetti R, di Muzio M, Giorgetti A, Girolami D, Borgia L, Tagliabracci A. Flutamide-induced hepatotoxicity: ethical and scientific issues. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017; 21(1): 69-77.
20. Hohl A, Marques MO, Coral MH, Walz R. Evaluation of late-onset hypogonadism (andropause) treatment using three different formulations of injectable testosterone. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009; 53(8): 989-95.
21. Brahm J, Brahm M, Segovia R, Latorre R, Zapata R, Poniachik J. Acute and fulminant hepatitis induced by flutamide: case series report and review of the literature. *Ann Hepatol.* 2011; 10(1): 93-8.
22. Carlson RW. The history and mechanism of action of fulvestrant. *Clin Breast Cancer.* 2005; 6 (Suppl 1): S5-8.
23. Poggio F, Lambertini M, Blondeaux E, Vaglica M, Levaggi A, Pronzato P. Role of fulvestrant in the treatment of postmenopausal metastatic breast cancer patients. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2016; 9(9): 1153-61.
24. Pizzuti L, Natoli C, Gamucci T, Mauri M, Sergi D, Di Lauro L, et al. Anthropometric, clinical and molecular determinants of treatment outcomes in postmenopausal, hormone receptor positive metastatic breast cancer patients treated with fulvestrant. Results from a real world setting. *Oncotarget.* 2017; 8(40):69025-37.
25. Schlegel PN. Aromatase inhibitors for male infertility. *Fertil Steril.* 2012; 98(6): 1359-62.
26. Majzoub A, Sabanegh E Jr. Testosterone replacement in the infertile man. *Transl Androl Urol.* 2016; 5(6): 859-65.

27. Losurdo A, Rota S, Gullo G, Masci G, Torrisi R, Bottai G, et al. Controversies in clinicopathological characteristics and treatment strategies of male breast cancer: a review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2017; 113: 283-91.
28. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res*. 2012; 49(1): 35-43.
29. Daley JM, Reichner JS, Mahoney EJ, Manfield L, Henry WL, Mastrofrancesco B, et al. Modulation of macrophage phenotype by soluble product(s) released from neutrophils. *J Immunol*. 2005; 174(4): 2265-72.
30. Tziotzios C, Profyris C, Sterling J. Cutaneous scarring: pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics Part II. Strategies to reduce scar formation after dermatologic procedures. *J Am Acad Dermatol*. 2012; 66(1): 13-24.
31. Profyris C, Tziotzios C, Do Vale I. Cutaneous scarring: pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics Part I. The molecular basis of scar formation. *J Am Acad Dermatol* 2012; 66(1): 1-10.
32. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008; 453(7193): 314-21.
33. Endrich B, Menger MD. Regeneration of the microcirculation during wound healing? *Unfallchirurg*. 2000; 103(11): 1006-8.
34. Robson MC, Steed DL, Franz MG. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg*. 2001; 38(2): 72-140.
35. Bauer SM. Angiogenesis, vasculogenesis, and induction of healing in chronic wounds. *Vasc Endovasc Surg* 2005; 39(4): 293-306.
36. Ashcroft GS, Greenwell-Wild T, Horan MA, Wahl SM, Ferguson MW. Topical estrogen accelerates cutaneous wound healing in aged humans associated with an altered inflammatory response. *Am J Pathol*. 1999; 155(4): 1137-46.
37. Lai JJ, Lai KP, Chuang KH, Chang P, Yu IC, Lin WJ et al. Monocyte/macrophage androgen receptor suppresses cutaneous wound healing in mice by enhancing local TNF-alpha expression. *J Clin Invest*. 2009; 119(12): 3739-51.
38. Wang Y, Simanainen U, Cheer K, Suarez FG, Gao YR, Li Z, et al. Androgen actions in mouse wound healing: Minimal in vivo effects of local antiandrogen delivery. *Wound Repair Regen*. 2016; 24(3): 478-88.
39. Siddiqui JA, Partridge NC. Physiological bone remodeling: systemic regulation and growth factor involvement. *Physiology (Bethesda)*. 2016; 31(3): 233-45.
40. Redlich K, Smolen JS. Inflammatory bone loss: pathogenesis and therapeutic intervention. *Nat Rev Drug Discov*. 2012; 11(3): 234-50.

41. Kawano H, Sato T, Yamada T, Matsumoto T, Sekine K, Watanabe T., et al. Suppressive function of androgen receptor in bone resorption. *Proc Natl Acad Sci.* 2003; 100(16): 9416-21.
42. Notini AJ, McManus JF, Moore A, Bouxsein M, Jimenez M, Chiu WS, et al. Osteoblast deletion of exon 3 of the androgen receptor gene results in trabecular bone loss in adult male mice. *J Bone Miner Res.* 2007; 22(3): 347-56.
43. Chiang C, Chiu M, Moore AJ, Anderson PH, Ghasem-Zadeh A, McManus JF et al. Mineralization and bone resorption are regulated by the androgen receptor in male mice. *J Bone Miner Res.* 2009; 24(4): 621-31.
44. Windahl SH, Börjesson AE, Farman HH, Engdahl C, Movérare-Skrtic S, Sjögren K, et al. Estrogen receptor- $\alpha$  in osteocytes is important for trabecular bone formation in male mice. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2013; 110(6): 2294-9.
45. Melville KM, Kelly NH, Surita G, Buchalter DB, Schimenti JC, Main RP, et al. Effects of deletion of  $er\alpha$  in osteoblast-lineage cells on bone mass and adaptation to mechanical loading differ in female and male mice. *J Bone Miner Res.* 2015; 30(8): 1468-80.
46. Famili P, Cauley JA, Greenspan SL. The effect of androgen deprivation therapy on periodontal disease in men with prostate cancer. *J Urol.* 2007; 177(3): 921-4.