

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 20/02/2018.

GUSTAVO ANTONIO CORREA MOMESSO

**STRONTIUM RANELATE IMPROVES
ALVEOLAR BONE HEALING IN
OSTEOPENIC RATS**

**(RANELATO DE ESTRÔNCIO MELHORA REPARO ÓSSEO
ALVEOLAR EM RATAS OSTEOPÊNICAS)**

Araçatuba – SP

2017

GUSTAVO ANTONIO CORREA MOMESSO

**STRONTIUM RANELATE IMPROVES
ALVEOLAR BONE HEALING IN
OSTEOPENIC RATS**

**(RANELATO DE ESTRÔNCIO MELHORA REPARO ÓSSEO
ALVEOLAR EM RATAS OSTEOPÊNICAS)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, para obtenção do Título de MESTRE EM ODONTOLOGIA (Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial)

Orientadora: Prof^a. Adj. Dr^a. Roberta Okamoto

Coorientador: Prof. Ass. Dr. Leonardo Perez Faverani

Araçatuba – SP

2017

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

M732s Momesso, Gustavo Antonio Correa.
Strontium Ranelate improves alveolar bone healing in
osteopenic rats / Gustavo Antonio Correa Momesso. -
Araçatuba, 2017
57 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientadora: Profa. Roberta Okamoto
Coorientador: Prof. Leonardo Perez Faverani

1. Strontium 2. Osteoporosis 3. Ovariectomy 4. Tooth
extraction I. T.

Black D7
CDD 617.64

Dedicatória



edico este trabalho às pessoas mais importantes de minha vida:

Ao meu amado pai, **Idanir Antonio Momesso Junior**, fonte de amor infindável. Infelizmente, o destino nos distanciou para que eu pudesse cumprir esta longa jornada, a qual representa um sonho nosso. Hoje completam sete anos que estou longe de casa e, apesar da saudade imensurável e as dificuldades aqui enfrentadas, a conquista de hoje remete à maneira preciosa que dedicastes sua vida inteira pelos seus filhos. Isso é inquestionável! Por muitas vezes o senhor abdicou de seus sonhos para que pudéssemos concretizar nossos anseios. Só Deus é capaz de saber os momentos mais complicados de nossas vidas quando nos encontramos sozinhos, mas o senhor nunca os deixou transparecer para sua família e os enfrentou com dignidade e honra. Um dia queria poder ser a metade do homem de família e pai que o senhor foi para mim. Obrigado por ser fonte eterna de sabedoria e principal referência em minha vida. Sem o seu apoio, persistência e vontade, nada disso seria possível.

A minha amada mãe, **Maria Luiza Correa Momesso**, a quem dedico todo meu amor. Mãe, a senhora participou de todos os momentos de minha vida e esteve presente em todos os pequenos detalhes. Acompanhou todo o meu trajeto, desde meu início de vida escolar até os dias em que estava vivendo a grande ansiedade do vestibular. É impossível transcrever e agradecer toda sua dedicação e amor para com seus filhos. Sem isso, seria impossível transcender estas etapas. Sua participação nesta conquista é fundamental e meu agradecimento e amor por você, é eterno!

Ao meu irmão, **Idanir Antonio Momesso Neto**, por ser meu melhor amigo, em todos os momentos. Temos histórias de vida parecidas. Saímos cedo de casa para realizarmos nossos sonhos. Sempre tive em você minha grande inspiração e referência em minha vida. É notório o amor imensurável que tens pela sua família e toda sua dedicação para com ela e *“um homem que não se dedica à família jamais será um homem de verdade”*. Com certeza, você tornou este percurso mais fácil e é impossível transcrever sua importância

nele. Sou eternamente grato pelo seu companheirismo, amor e por ser esta pessoa a quem considero muito mais que um irmão. Te amo eternamente!

A minha irmã, **Marília Gabriela Correa Momesso**, por todo o apoio e amparo que sempre que me deu, desde meus tempos de colegial me incentivando e ajudando com os estudos, tornando-se uma grande referência em minha vida. Ter a mesma profissão que você é uma grande responsabilidade que carrego por toda sua competência e inteligência. Ao mesmo tempo, tudo se torna mais fácil pelo exemplo que tenho ao meu lado. Obrigado por todo carinho, amor e zelo que sempre teve por mim, como irmão mais novo. Você fez parte de toda minha formação como ser humano. Este título tem parte fundamental sua. Te amo para sempre!

||

*Agradecimentos
especiais*

A Deus, por ser uma pessoa privilegiada. Alguns momentos de dificuldades em

nossas vidas nos deparamos sozinhos. Esta longa jornada, cheia de intempéries e frustrações só poderia ser suportada com o amparo da força maior. O sentimento de proteção, zelo e amor que sentimos com a presença de Deus é que nos fortalece e impulsiona a seguir em frente diante de todas as barreiras impostas a nós. Obrigado, meu Deus, por nunca me abandonar nos momentos que mais precisei, ainda que tivesse todos os motivos para isso.

A minha querida orientadora, **Prof.^a Adj. Dra. Roberta Okamoto**. Desde que decidi disputar a seleção do mestrado ansiava ser seu aluno e lhe devo eterna gratidão pela confiança depositada em mim. A competência da senhora é inquestionável. No entanto, é incomparável a naturalidade e humildade que a senhora lida com isso. Sua atenção especial para com o aluno é contagiante e saiba que tenho profunda admiração por sua pessoa. É impressionante como toda a responsabilidade que é depositada sob um projeto de mestrado fica mais leve sob sua tutela. Obrigado pelo aprendizado e convivência nesses dois anos, mestra.

Ao Prof. Adj. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior. Quando iniciei meus estudos na odontologia, tinha a certeza de que queria ser cirurgião buco-maxilo-facial. Almejava chegar logo ao terceiro ano da faculdade para poder cursar a disciplina e, claro, poder conhecer a tão ilustre figura representada pelo senhor. Quando assisti a minha primeira aula de cirurgia, intitulada de “pré-operatório em cirurgia bucal”, ministrada pelo senhor, foi como a realização de um grande sonho e devo dizer que aquilo concretizou meu desejo inicial de seguir a carreira de Professor e Cirurgião. O senhor foi importante em toda minha jornada, desde a graduação e será uma grande inspiração para toda a minha carreira. Obrigado pelos ensinamentos valiosos e a confiança depositada.

Ao meu querido coorientador e amigo Prof. Ass. Dr. Leonardo Perez Faverani. Léo, assim como você, acredito em Deus e no destino que a vida nos proporciona. Dessa forma, tenho plena convicção de que as pessoas não cruzam nossas vidas despreziosamente. Você foi um grande presente que ganhei com a entrada na pós-graduação. Para que este

árduo caminho se faça completo e com sucesso é imprescindível que tenhamos pessoas leais ao nosso lado e que nos queiram bem. A imensidão de seu conhecimento e a plena capacidade transmiti-lo torna-se apenas um detalhe quando conhecemos sua pessoa, de integridade, caráter e companheirismo inspiradores. É um grande orgulho e uma satisfação imensa poder ter sua amizade. Obrigado por tudo que pôde fazer por mim durante esses dois anos e saiba que, não só para mim, você é um grande exemplo e inspiração de cientista, professor e cirurgião. Mas, principalmente, exemplo de amigo. Uma das grandes virtudes do ser humano.

Ao Prof. Ronaldo C. Mariano, por aceitar de prontidão o convite para participar da banca examinadora. Agradeço de coração a atenção e disponibilidade. É uma grande honra ter a presença de uma figura tão importante da ciência odontológica neste momento especial.

Aos Professores da Disciplina da Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial Dr. Osvaldo Magro Filho, Alessandra Marcondes Aranega, Daniela Ponzoni, Ana Paula Farnezi Bassi, Francisley Ávila Souza e ao ilustríssimo Professor Tetuo Okamoto (in memoriam), pelo carinho, coleguismo, auxílio, exemplo e amizade desfrutada em nosso departamento. Recebam o meu carinho e admiração.

A minha amada namorada e companheira **Cecília Alves de Sousa**. Meu amor, você fez parte de toda a minha trajetória dentro desta universidade. Não tenho medo de errar ao dizer que você foi a pessoa que mais esteve perto de mim em todos esses anos. Esteve sempre ao meu lado, seja nos momentos bons ou ruins. Suportou minhas deficiências como ser humano e namorado. Sua participação nisso tudo é, simplesmente, fundamental. Quando nos propomos a realizar um sonho de tamanha magnitude, requer que nos doemos por completo e, infelizmente, isso faz com que tenhamos menos tempo com as pessoas que mais amamos. Seu caminho também está sendo traçado e seu sucesso é garantido. Você é um exemplo de pessoa para mim e aprendo com você todos os dias a me tornar um ser humano melhor. Obrigado por tudo! Você tem minha eterna gratidão e sabe que pode contar comigo para tudo. Te amo!

Ao meu grande amigo Valthierre Nunes de Lima, eterno companheiro. “Macho véi”, obrigado pela sua amizade verdadeira e leal. Desde que iniciamos juntos esta jornada você se mostrou uma pessoa diferenciada, humilde, parceiro e de uma inteligência deslumbrante. Saiba que além de amigo, tenho profunda admiração por você. Sua vinda para Araçatuba me trouxe um grande irmão (agora paulista da gema). Seu companheirismo foi determinante nesta conquista e saiba que pode contar comigo sempre que precisar.

Ao meu grande amigo Tárík Ocon Braga Polo. Parceiro, você foi uma pessoa muito importante nesta jornada. Sempre tive grande admiração por você, desde que era graduando, sempre me espelhando nos seus passos. Quando cheguei à pós-graduação você foi extremamente acolhedor e amigo e agradeço por todo o suporte que você me proporcionou, desde então. Obrigado pela amizade e companheirismo, irmão.

À Juliana Zorzi Coléte. “Juju”, muito obrigado pela sua amizade desde que entrei na pós-graduação. Você é uma pessoa iluminada e extremamente especial. Tens um caminho brilhante pela frente e agradeço por ter feito parte da minha história de forma tão enriquecedora. Sempre levarei sua amizade comigo e sempre que precisar estarei aqui.

Aos colegas orientados pela Profa. Roberta, Fábio, Pedro, Gabriel e Igor. Obrigado por sempre estarem à disposição nos momentos necessários e à importante ajuda para a conclusão deste projeto. Agradeço a amizade e convivência nesse percurso.

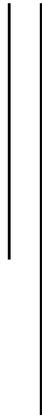
Aos alunos de iniciação científica, pela disponibilidade e ajuda imprescindível que exercem na realização de todos os projetos. Sem o comprometimento e força de vontade de vocês, nada disso seria possível. Recebam minha gratidão.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da Bolsa de Mestrado durante o primeiro ano de curso. Meus sinceros agradecimentos por promover o apoio financeiro durante o primeiro ano de curso e com isso, permitir que fosse possível a realização do mestrado.

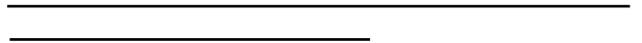
A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da Bolsa de Mestrado (Processo 2015/08456-9), indispensável para a realização deste estudo.

Ao Laboratório de caracterização e avaliação de resposta biológica, na pessoa do **Prof. Dr. Élcio Marcantônio Júnior**, da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, pela facilitação das microtomografias computadorizadas e da utilização do EXAKT para cortes de peças calcificadas.

Ao Prof./Pesq. Alexandre Freire e a Prof^a. Dr^a Ana Claudia Rossi Faculdade de Odontologia de Piracicaba – FOP- UNICAMP, por auxiliar com as análises de MicroCT.



Agradecimentos



À Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, na pessoa do diretor **Prof. Titular Wilson Roberto Poi** pela oportunidade de realização dos cursos de Graduação e Mestrado. Devo tudo que conquistei, principalmente, a esta universidade que me proporcionou os melhores ensinamentos, professores e estrutura que poderia ter. Sou eternamente grato à FOA-UNESP.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” com o atual Coordenador **Prof. Adj. André Luiz Fraga Briso**.

Aos funcionários da Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP pela disponibilidade e paciência em todas as etapas do mestrado. Pelo trabalho honesto e sempre ágil.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP pela prontidão em nos atender e carinho.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada (Paulo Gratão, Renato e Marco). Muito obrigado pelo carinho e respeito.

Aos colegas da pós-graduação da área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial (Erik Neiva, João Paulo, Leonardo Freitas, Carulina Moras, André Oliva, Ciro Duailibe, Andrezinho, Sormani Queiroz, Jonathan Ribeiro, Rodrigo Pereira, Ricardo e Sabrina Ferreira). Aprendi muito a cada momento com cada um de vocês. Obrigado pelo auxílio constante na minha vida e na pós-graduação.

Aos pacientes, pela credibilidade e confiança depositadas a nós pós-graduandos, permitindo-nos aprimorar as habilidades cirúrgicas e, como sempre estaremos em nossas vidas, aprendendo constantemente. Minha eterna gratidão.

Epígrafe

A grandeza não consiste em receber honras, mas em merecê-las

(Aristóteles)

Momesso, G.A.C. Strontium ranelate improves alveolar bone healing in osteopenic rats. ARACATUBA: UNESP – Univ. Estadual Paulista. 2017

ABSTRACT: This study aimed evaluate alveolar bone healing in osteopenic rats treated with strontium ranelate. Thirty-three three months's old female rats were selected and divided into three groups: OVX (animals underwent to ovariectomy with no drug treatment); SHAM (animals underwent to fake surgery with no drug treatment) and OVX-SR (animals underwent to ovariectomy treated with strontium ranelate). Firstly, animals underwent to bilateral ovariectomy to induce osteopenic condition. Drug treatment started at 30 days after, during the all experimental period. Thirty days after, it was performed extraction of the right upper incisor tooth, to further evaluation of alveolar healing. Animals from decalcified group were euthanized at 14 days after tooth extraction, and its samples were destined to histological and immunohistochemistry analysis. Animals from calcified group were euthanized at 60 days and its samples were destined to confocal microscopy and micro-tomography analysis. Histological results showed that OVX-SR group had the better aspect of new bone formation, with few number of trabecular bone and poor presence of connective tissue compared to OVX group. Immunohistochemistry results showed an intense labeling of OPG for OVX-SR group and intense labeling of RANKL for OVX group. Regarding confocal microscopy analysis, it was possible observed that OVX-SR group showed a significance greater amount of alizarin precipitation compared to another both groups (Tukey test – $P < 0.05$). About micro-tomographic parameters, OVX-SR group showed high values for BV/TV (Tukey test – $P > 0.05$) and Tb.Th (Tukey test – $P < 0.05$) and lower valus for Tb.Sp, Po.Tot and Tb.N (Tukey test – $P > 0.05$). It was concluded that strontium ranelate

improves microscopy and morphologic aspects on alveolar bone healing of osteopenic rats.

Key words: Strontium ranelate, osteoporosis, ovariectomy, bone healing, tooth extraction

Momesso, G.A.C. Ranelato de estrôncio melhora reparo ósseo alveolar em ratas osteopênicas. ARACATUBA: UNESP – Univ. Estadual Paulista. 2017

Este estudo objetivou avaliar o reparo ósseo alveolar em ratas osteopênicas tratadas com ranelato de estrôncio. Trinta e três ratas fêmeas com 3 meses de idade foram selecionadas e divididas em 3 grupos experimentais: OVX (animais submetidos à ovariectomia sem tratamento medicamentoso); SHAM (animais submetidos à cirurgia fictícia sem tratamento medicamentoso) e OVX-RE (animais submetidos à ovariectomia e tratados com ranelato de estrôncio). Inicialmente, os animais foram submetidos à cirurgia de ovariectomia bilateral para indução de condição osteopênica. O tratamento medicamentoso iniciou 30 dias após o procedimento cirúrgico com duração até o momento de eutanásia. Trinta dias após o início do tratamento, foi realizada a extração do incisivo superior direito dos animais para posterior avaliação do reparo alveolar. Os animais do grupo descalcificado foram submetidos à eutanásia aos 14 dias após a extração dentária, sendo as amostras destinadas às análises histológica e imunoistoquímica. Os animais do grupo calcificado foram submetidos à eutanásia aos 60 dias após a extração dentária, sendo as amostras destinadas às análises por microscopia confocal e microtomográfica. Os resultados histológicos evidenciaram que o grupo OVX-RE demonstrou melhor aspecto de neoformação óssea, com trabéculas mais espessas e baixa presença de tecido conjuntivo, comparado ao grupo OVX. Os resultados imunoistoquímicos demonstraram intensa marcação de OPG para o grupo OVX-RE e intensa marcação de RANKL para o grupo OVX. Já a análise por microscopia confocal

evidenciou que o grupo OVX-RE obteve quantidade significativamente maior de marcação para vermelho de alizarina comparado aos outros dois grupos (Tukey test – $P < 0,05$). Em relação aos parâmetros microtomográficos, foi possível observar maiores valores de BV/TV (Tukey test – $P > 0.05$) e Tb.Th (Tukey test – $P < 0.05$) e menores valores de Tb.Sp, Po.Tot e Tb.N (Tukey test – $P > 0.05$) para o grupo OVX-RE. Sendo assim, é possível concluir que o ranelato de estrôncio melhora os aspectos microscópicos e morfológicos do reparo ósseo alveolar em ratas osteopênicas.

Palavras-chave: Ranelato de estrôncio, osteoporose, ovariectomia, reparo ósseo, extração dentária.



Listas



Lista de Figuras

- Figura 1** Experimental groups according drug therapy, euthanasia period and laboratorial analysis. 27
- Figura 2** Bilateral ovariectomy performed to induce osteopenic condition on animals. (A) Exposure of ovaries. (B) Lacquering of the region to avoid excessive bleeding. (C) Removal of both ovaries. (D) Suture of the planes with silk thread 4-0. 28
- Figura 3** Experimental design and time line correspondent to time of the treatment, surgeries procedures and period of euthanasia. 29
- Figura 4** Tooth extraction of right upper incisor. (A) Antisepsis of the region with iodine povidine. (B) Luxation of the right upper incisor with proper instrumental. (C) Movement of proper instrumental to perform tooth extraction. (D) Removal of the dental element followed by suture with silk thread 4-0. 30
- Figura 5** Experimental design and time line correspondent to administration of fluorochromes regarding decalcified group. 31
- Figura 6** Alveolar bone images obtained using confocal microscopy with overlapping of calcein (green) and alizarin (red) fluorochromes in the experimental groups. (A) Precipitation of calcein (green) in alveolar bone images by confocal microscopy. (B) Precipitation of alizarin (red) in alveolar bone images by confocal microscopy. (C) Overlapping of both fluorochromes obtained by software of confocal microscopy to evaluate bone dynamics. 34
- Figura 7** Histometric analysis performed through the ImageJ software to evaluate quantity data. (A) “Freehand” tool selected to measure the fluorochrome area (μm^2) on overlap of both alizarin (red) and calcein (green) fluorochromes 35
- Figura 8** Photomicrographs in a higher original objective (x25) of histologic slices from alveolar bone healing 14 days after extraction of right upper incisor tooth. (A) SHAM group showing a balance amount of bone and connective tissue and few trabecular bone, characterizing a great alveolar bone healing. (B) OVX group showing a poor alveolar bone healing, with several and large trabecular bone and predominance of connective tissue. (C) OVX-SR group showing the best alveolar bone healing aspect, large amount of new bone formed, few number of trabecular bone e predominance of bone tissue against little amount of connective tissue. (B.T: Bone Tissue; C.T: Connective Tissue) . 38
- Figura 9** Photomicrographs in a higher original objective (x25) of histologic slices from alveolar bone healing of different experimental groups (SHAM, OVX and OVX-SR) at 14 days after tooth extraction. It was possible observed an increased area of diaminobenzidine-stained cells (brown areas) around alveolar trabecular bone where the biomarkers OPG and RANKL were intense, represented by red arrows. Representative scores about expression of the biomarker osteoprotegerin in different experimental groups, showing intense labeling for OVX-SR group and moderate labeling for SHAM and OVX group. Biomarker RANKL was intense to OVX group and moderate for SHAM and OVX-SR group. 40
- Figura 10** Alveolar bone images obtained using confocal microscopy with overlapping of calcein (green) and alizarin (red) fluorochromes in the experimental groups. (A) Sham group showed a lower precipitation of calcium for calcein (green) 41

administration with a little amount of old bone. **(B)** OVX group showed a large amount of old bone, labeling by the calcium precipitation in the calcein (green) administration. OVX-SR group showed a large amount of new bone, labeling by alizarin red and low amount of old bone (green).

Figura 11 Average and standard deviation values of fluorochromes areas (Calcein and Alizarin red) in μm^2 of experimental groups (SHAM, OVX and OVX-SR) at 60 days after tooth extraction. Different letters A/a or A/b show statistical significance difference between calcein and alizarin precipitation ($P < 0.05$) in the intragroup evaluation; uppercase letters represent similarity among groups ($P > 0.05$) in the intergroups evaluation; different lowercase letters (a/b) show statistical significance difference among groups ($P < 0.05$) in the intergroups evaluation. 42

Figura 12 Average and standard deviation values of micro tomographic parameters in the different experimental groups (SHAM, OVX and OVX-SR) at 60 days after tooth extraction. Different letters a or b show statistical significance difference between groups, according to analyzed parameters ($P < 0.05$); same letters represent similarity among groups ($P > 0.05$) for each parameter analyzed. 43

Lista de Abreviaturas

OVX =	Ovariectomy
SR =	Strontium ranelate
ROI =	Region of interest
mg/kg =	Miligram per kilogram
OPG =	Osteoprotegerin
i.m =	Intra-Muscular
RANKL =	Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
mL =	Mililiters
mm =	Milímetros
µm =	Micrometers
p =	Unit of statistical relevance
E₂ =	Estrogen
BV/TV =	Bone volume percent
Tb.Th =	Trabecular thickness
Tb.Sp =	Trabecular space
Po.Tot =	Total porosity
Tb.N =	Trabecular number

SUMÁRIO

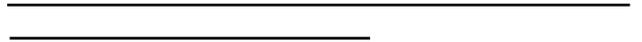
INTRODUCTION.....	24
MATERIALS AND METHODS.....	27
RESULTS.....	38
DISCUSSION.....	46
REFERENCES.....	50
ATTACHMENTS.....	55

*Strontium ranelate improves alveolar bone
healing in osteopenic rats*

*(Ranelato de estrôncio melhora reparo ósseo alveolar em ratas
osteopênicas)*



Introduction



Introduction

After teeth loss, there is a need to maintenance of bone tissue quality, aiming the further maxillofacial rehabilitation with dental implants or bone grafts. However, concomitant emergence of systemic changes, such as diabetes, arterial hypertension and osteopenia could lead to bone dynamics decrease with the consequence of microarchitecture deterioration (Leslie et al. 2012, Hamann et al. 2012, Lerner 2006, Wu et al. 2016). The lack of estrogen on postmenopausal women stimulates osteoclastogenesis cytokines, such as tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), IL6 and macrophage stimulating factor (M-CSF), besides the receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL), enhancing osteoclasts activity and bone resorption (Pacifci 1996, Manolagas, O'Brien, and Almeida 2013, Hofbauer et al. 2000) . This bone *turnover* unbalance may leads to a severe decreasing of bone mass, characterizing osteoporosis condition, which represents a high risk of bone fractures (Riggs, Khosla, and Melton 2002).

Data from world health organization shows that up to three hundred million people worldwide is affected by osteoporosis (Kanis 1994). Furthermore, experimental studies with ovariectomized rats observed that osteoporosis condition could affected the maxillofacial region, increasing its fragility and decreasing bone mass (Luvizuto, Queiroz, et al. 2010, Luvizuto, Dias, et al. 2010a). Therefore, there is many available alternatives for the treatment of osteoporosis. The mainly therapies adopted represents catabolic drugs, as estrogen replacement, selective estrogen-receptors modulator (SERMS), denosumab and bisphosphonates (Marie et al. 2005, Marie 2006). These drugs are beneficial to prevent bone fractures and bone mass loss, since inhibit osteoclast activity. However, the long-term use of bisphosphonates and denosumab have been shown an expressive reducing of bone *turnover*, which may develop medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) (Ruggiero 2013, Ruggiero et al. 2014).

On the other hands, new antiosteoporotic therapies have been emerging, between them, strontium ranelate (SR), which is an anabolic drug that acts reducing bone resorption as promotes bone formation. SR is composed by an organic molecule (ranelic acid) binding two stable strontium atoms (Marie 2006). The mechanism of action of this drug still controversial, however two hypothesis have been described. Some studies

suggest that SR activating calcium-sensing receptors (CaSR) presents on osteoblastic cells, stimulating bone formation (Chattopadhyay et al. 2007, Brennan et al. 2009). Moreover, it is believed that SR downregulates expression of RANKL and enhances the expression of osteoprotegerin (OPG), decreasing osteoclast activity (Atkins et al. 2009, Marie, Felsenberg, and Brandi 2011).

Relevant clinical trials evidenced that SR reduced the incidence of vertebral and hip fractures (Reginster et al. 2005, Kanis et al. 2011). Besides that, experimental studies showed that this drug was beneficial for ovariectomized rats (Zacchetti et al. 2014). However, there is no study evaluated the action of this drug on alveolar bone healing. Thus, this study aimed evaluate alveolar bone healing of osteopenic rats treated with strontium ranelate.

References

References

- Atkins, G. J., K. J. Welldon, P. Halbout, and D. M. Findlay. 2009. "Strontium ranelate treatment of human primary osteoblasts promotes an osteocyte-like phenotype while eliciting an osteoprotegerin response." *Osteoporos Int* 20 (4):653-64. doi: 10.1007/s00198-008-0728-6.
- Bain, SD, C Jerome, V Shen, I Dupin-Roger, and Patrick Ammann. 2009. "Strontium ranelate improves bone strength in ovariectomized rat by positively influencing bone resistance determinants." *Osteoporosis international* 20 (8):1417-1428.
- Bonnelye, E., A. Chabadel, F. Saltel, and P. Jurdic. 2008. "Dual effect of strontium ranelate: stimulation of osteoblast differentiation and inhibition of osteoclast formation and resorption in vitro." *Bone* 42 (1):129-38. doi: 10.1016/j.bone.2007.08.043.
- Bouxsein, M. L., S. K. Boyd, B. A. Christiansen, R. E. Guldborg, K. J. Jepsen, and R. Müller. 2010. "Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography." *J Bone Miner Res* 25 (7):1468-86. doi: 10.1002/jbmr.141.
- Brennan, TC, MS Rybchyn, W Green, S Atwa, AD Conigrave, and RS Mason. 2009. "Osteoblasts play key roles in the mechanisms of action of strontium ranelate." *British journal of pharmacology* 157 (7):1291-1300.
- Burghardt, A. J., T. M. Link, and S. Majumdar. 2011. "High-resolution computed tomography for clinical imaging of bone microarchitecture." *Clin Orthop Relat Res* 469 (8):2179-93. doi: 10.1007/s11999-010-1766-x.
- Chattopadhyay, N., S. J. Quinn, O. Kifor, C. Ye, and E. M. Brown. 2007. "The calcium-sensing receptor (CaR) is involved in strontium ranelate-induced osteoblast proliferation." *Biochem Pharmacol* 74 (3):438-47. doi: 10.1016/j.bcp.2007.04.020.
- Evans, H. M., and J. A. Long. 1922. "Characteristic Effects upon Growth, Oestrus and Ovulation Induced by the Intraperitoneal Administration of Fresh Anterior Hypophyseal Substance." *Proc Natl Acad Sci U S A* 8 (3):38-9.
- Gallacher, S. J., and T. Dixon. 2010. "Impact of treatments for postmenopausal osteoporosis (bisphosphonates, parathyroid hormone, strontium ranelate, and denosumab) on bone quality: a systematic review." *Calcif Tissue Int* 87 (6):469-84. doi: 10.1007/s00223-010-9420-x.
- Hamann, C., S. Kirschner, K. P. Günther, and L. C. Hofbauer. 2012. "Bone, sweet bone--osteoporotic fractures in diabetes mellitus." *Nat Rev Endocrinol* 8 (5):297-305. doi: 10.1038/nrendo.2011.233.
- Hofbauer, L. C., S. Khosla, C. R. Dunstan, D. L. Lacey, W. J. Boyle, and B. L. Riggs. 2000. "The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption." *J Bone Miner Res* 15 (1):2-12. doi: 10.1359/jbmr.2000.15.1.2.
- Jaffin, R. A., and C. L. Berman. 1991. "The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone: a 5-year analysis." *J Periodontol* 62 (1):2-4. doi: 10.1902/jop.1991.62.1.2.
- Jemt, T., K. Book, B. Lindén, and G. Urde. 1992. "Failures and complications in 92 consecutively inserted overdentures supported by Brånemark implants in severely resorbed edentulous maxillae: a study from prosthetic treatment to first annual check-up." *Int J Oral Maxillofac Implants* 7 (2):162-7.
- Kanis, J. A. 1994. "Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO report. WHO Study Group." *Osteoporos Int* 4 (6):368-81.
- Kanis, J. A., H. Johansson, A. Oden, and E. V. McCloskey. 2011. "A meta-analysis of the effect of strontium ranelate on the risk of vertebral and non-vertebral fracture in

-
- postmenopausal osteoporosis and the interaction with FRAX(®)." *Osteoporos Int* 22 (8):2347-55. doi: 10.1007/s00198-010-1474-0.
- Lerner, U. H. 2006. "Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis." *J Dent Res* 85 (7):584-95.
- Leslie, W. D., M. R. Rubin, A. V. Schwartz, and J. A. Kanis. 2012. "Type 2 diabetes and bone." *J Bone Miner Res* 27 (11):2231-7. doi: 10.1002/jbmr.1759.
- Luvizuto, E. R., S. M. Dias, T. P. Queiroz, T. Okamoto, I. R. Garcia, R. Okamoto, and R. C. Dornelles. 2010a. "Osteocalcin immunolabeling during the alveolar healing process in ovariectomized rats treated with estrogen or raloxifene." *Bone* 46 (4):1021-9. doi: 10.1016/j.bone.2009.12.016.
- Luvizuto, E. R., S. S. Dias, T. Okamoto, R. C. Dornelles, and R. Okamoto. 2011. "Raloxifene therapy inhibits osteoclastogenesis during the alveolar healing process in rats." *Arch Oral Biol* 56 (10):984-90. doi: 10.1016/j.archoralbio.2011.03.015.
- Luvizuto, Eloa Rodrigues, Thallita Pereira Queiroz, Sheila Mônica Damásio Dias, Tetuo Okamoto, Rita Cássia Menegati Dornelles, Idelmo Rangel Garcia, and Roberta Okamoto. 2010. "Histomorphometric analysis and immunolocalization of RANKL and OPG during the alveolar healing process in female ovariectomized rats treated with oestrogen or raloxifene." *archives of oral biology* 55 (1):52-59.
- Luvizuto, Eloá Rodrigues, Sheila Mônica Damásio Dias, Thallita Pereira Queiroz, Tetuo Okamoto, Idelmo Rangel Garcia, Roberta Okamoto, and Rita Cássia Menegati Dornelles. 2010b. "Osteocalcin immunolabeling during the alveolar healing process in ovariectomized rats treated with estrogen or raloxifene." *Bone* 46 (4):1021-1029.
- Manolagas, S. C., C. A. O'Brien, and M. Almeida. 2013. "The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease." *Nat Rev Endocrinol* 9 (12):699-712. doi: 10.1038/nrendo.2013.179.
- Manrique, N., C. C. Pereira, E. R. Luvizuto, M. el P Sánchez, T. Okamoto, R. Okamoto, D. H. Sumida, and C. Antoniali. 2015. "Hypertension modifies OPG, RANK, and RANKL expression during the dental socket bone healing process in spontaneously hypertensive rats." *Clin Oral Investig* 19 (6):1319-27. doi: 10.1007/s00784-014-1369-0.
- Marie, P. J., D. Felsenberg, and M. L. Brandi. 2011. "How strontium ranelate, via opposite effects on bone resorption and formation, prevents osteoporosis." *Osteoporos Int* 22 (6):1659-67. doi: 10.1007/s00198-010-1369-0.
- Marie, Pierre J. 2006. "Strontium ranelate: a dual mode of action rebalancing bone turnover in favour of bone formation." *Current opinion in rheumatology* 18:S11-S15.
- Marie, Pierre J, Monique Hott, Dominique Modrowski, Cinderella De Pollak, Joel Guillemain, Pascale Deloffre, and Yannis Tsouderos. 2005. "An uncoupling agent containing strontium prevents bone loss by depressing bone resorption and maintaining bone formation in estrogen-deficient rats." *Journal of Bone and Mineral Research* 20 (6):1065-1074.
- Meunier, P. J., C. Roux, S. Ortolani, M. Diaz-Curiel, J. Compston, P. Marquis, C. Cormier, G. Isaia, J. Badurski, J. D. Wark, J. Collette, and J. Y. Reginster. 2009. "Effects of long-term strontium ranelate treatment on vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis." *Osteoporos Int* 20 (10):1663-73. doi: 10.1007/s00198-008-0825-6.
- Morabito, N., A. Catalano, A. Gaudio, E. Morini, L. M. Bruno, G. Basile, E. Tsiantouli, F. Bellone, R. M. Agostino, B. Piraino, M. A. La Rosa, C. Salpietro, and A. Lasco. 2016. "Effects of strontium ranelate on bone mass and bone turnover in women with thalassemia major-related osteoporosis." *J Bone Miner Metab* 34 (5):540-6. doi: 10.1007/s00774-015-0689-8.

-
- O'Donnell, S., A. Cranney, G. A. Wells, J. D. Adachi, and J. Y. Reginster. 2006. "Strontium ranelate for preventing and treating postmenopausal osteoporosis." *Cochrane Database Syst Rev* (4):CD005326. doi: 10.1002/14651858.CD005326.pub3.
- Okamoto, T., and M. C. de Russo. 1973. "Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats." *Revista da Faculdade de Odontologia de Araçatuba* 2 (2):153.
- Pacifici, Roberto. 1996. "Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis." *Journal of Bone and Mineral Research* 11 (8):1043-1051.
- Papalexioiu, V., A. B. Novaes, M. F. Grisi, S. S. Souza, M. Taba, and J. K. Kajiwarra. 2004. "Influence of implant microstructure on the dynamics of bone healing around immediate implants placed into periodontally infected sites. A confocal laser scanning microscopic study." *Clin Oral Implants Res* 15 (1):44-53.
- Parfitt, A. M., M. K. Drezner, F. H. Glorieux, J. A. Kanis, H. Malluche, P. J. Meunier, S. M. Ott, and R. R. Recker. 1987. "Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee." *J Bone Miner Res* 2 (6):595-610. doi: 10.1002/jbmr.5650020617.
- Ramalho-Ferreira, G., L. P. Faverani, G. A. Momesso, E. R. Luvizuto, I. de Oliveira Puttini, and R. Okamoto. 2016. "Effect of antiresorptive drugs in the alveolar bone healing. A histometric and immunohistochemical study in ovariectomized rats." *Clin Oral Investig.* doi: 10.1007/s00784-016-1909-x.
- Ramalho-Ferreira, G., L. P. Faverani, F. B. Prado, I. R. Garcia, and R. Okamoto. 2015. "Raloxifene enhances peri-implant bone healing in osteoporotic rats." *International journal of oral and maxillofacial surgery* 44 (6):798-805.
- Ramalho-Ferreira, Gabriel, Leonardo Perez Faverani, Gustavo Augusto Grossi-Oliveira, Tetuo Okamoto, and Roberta Okamoto. 2015. "Alveolar bone dynamics in osteoporotic rats treated with raloxifene or alendronate: confocal microscopy analysis." *Journal of Biomedical Optics* 20 (3). doi: 038003.
- Reginster, J. Y., E. Seeman, M. C. De Vernejoul, S. Adami, J. Compston, C. Phenekos, J. P. Devogelaer, M. D. Curiel, A. Sawicki, S. Goemaere, O. H. Sorensen, D. Felsenberg, and P. J. Meunier. 2005. "Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study." *J Clin Endocrinol Metab* 90 (5):2816-22. doi: 10.1210/jc.2004-1774.
- Riggs, B. L., S. Khosla, and L. J. Melton. 1998. "A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men." *J Bone Miner Res* 13 (5):763-73. doi: 10.1359/jbmr.1998.13.5.763.
- Riggs, B. L., S. Khosla, and L. J. Melton. 2002. "Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton." *Endocr Rev* 23 (3):279-302. doi: 10.1210/edrv.23.3.0465.
- Ruggiero, S. L., and S. J. Drew. 2007. "Osteonecrosis of the jaws and bisphosphonate therapy." *Journal of dental research* 86 (11):1013-1021.
- Ruggiero, Salvatore L. 2013. "Emerging concepts in the management and treatment of osteonecrosis of the jaw." *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America* 25 (1):11-20.
- Ruggiero, Salvatore L., Thomas B. Dodson, John Fantasia, Reginald Goodday, Tara Aghaloo, Bhoomi Mehrotra, and Felice O'Ryan. 2014. "American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw—2014 update." *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 72 (10):1938-1956.
- Seeman, E., B. Vellas, C. Benhamou, J. P. Aquino, J. Semler, J. M. Kaufman, K. Hoszowski, A. R. Varela, C. Fiore, K. Brixen, J. Y. Reginster, and S. Boonen. 2006. "Strontium ranelate

-
- reduces the risk of vertebral and nonvertebral fractures in women eighty years of age and older." *J Bone Miner Res* 21 (7):1113-20. doi: 10.1359/jbmr.060404.
- Shapurian, T., P. D. Damoulis, G. M. Reiser, T. J. Griffin, and W. M. Rand. 2006. "Quantitative evaluation of bone density using the Hounsfield index." *Int J Oral Maxillofac Implants* 21 (2):290-7.
- Wells, G. A., A. Cranney, J. Peterson, M. Boucher, B. Shea, V. Robinson, D. Coyle, and P. Tugwell. 2008. "Alendronate for the primary and secondary prevention of osteoporotic fractures in postmenopausal women." *Cochrane Database Syst Rev* (1):CD001155. doi: 10.1002/14651858.CD001155.pub2.
- Wu, X., K. Al-Abedalla, H. Eimar, S. Arekunnath Madathil, S. Abi-Nader, N. G. Daniel, B. Nicolau, and F. Tamimi. 2016. "Antihypertensive Medications and the Survival Rate of Osseointegrated Dental Implants: A Cohort Study." *Clin Implant Dent Relat Res* 18 (6):1171-1182. doi: 10.1111/cid.12414.
- Zacchetti, Giovanna, Romain Dayer, René Rizzoli, and Patrick Ammann. 2014. "Systemic treatment with strontium ranelate accelerates the filling of a bone defect and improves the material level properties of the healing bone." *BioMed research international* 2014.