

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 12/01/2018.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

DANIELLA VICENSOTTO BERNARDO

**INFLUÊNCIA DA INALAÇÃO DA FUMAÇA DE CIGARRO NO
REPARO DE ENXERTOS ÓSSEOS AUTÓGENOS *ONLAY*
EM RATAS OVARECTOMIZADAS: estudo histomorfométrico**

2016

DANIELLA VICENSOTTO BERNARDO

**INFLUÊNCIA DA INALAÇÃO DA FUMAÇA DE CIGARRO NO REPARO
DE ENXERTOS ÓSSEOS AUTÓGENOS *ONLAY* EM RATAS
OVARECTOMIZADAS: estudo histomorfométrico**

Dissertação apresentada ao curso de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista, Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós- Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Microbiologia / Imunologia.

Orientadora: Prof^a Adjunta Maria Aparecida Neves Jardimi

São José dos Campos

2016

Apresentação gráfica e normatização de acordo com:
Alvarez S, Coelho DCAG, Couto RAO, Durante APM. Guia prático para
Normalização de Trabalhos Acadêmicos do ICT. Rev. São José dos
Campos: ICT/UNESP; 2016.

Bernardo, Daniella Vicensotto

Influência da inalação da fumaça de cigarro no reparo de enxertos
ósseos autógenos onlay em ratas ovariectomizadas: estudo
histomorfométrico / Daniella Vicensotto Bernardo. - São José dos
Campos : [s.n.], 2016.
61 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em
Biopatologia Bucal - Instituto de Ciência e Tecnologia de São José
dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista, 2016.

Orientadora: Maria Aparecida Neves Jardim.

1. Regeneração óssea. 2. Transplante ósseo. 3. Osteoporose. 4.
Tabaco. I. Jardim, Maria Aparecida Neves, orient. II. Instituto de
Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, UNESP - Univ Estadual
Paulista. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita
Filho'. IV. UNESP - Univ Estadual Paulista. V. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Achille Bassi e Seção Técnica de Informática,
ICMC/USP com adaptações - STATi e STI do ICT/UNESP. Dados fornecidos pelo autor.

AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer
meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 12 de janeiro de 2016
E-mail: daniella.bernardo@ict.unesp.br

Assinatura: _____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Adj. Maria Aparecida Neves Jardim

Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Milton Santamaria Jr.

Fundação Hermínio Ometto
Uniararas

Profa. Dra. Luana M. R. de Vasconcelos

Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

São José dos Campos, 12 de janeiro de 2016.

Dedicatória

Á Deus por sempre me abençoar.

À minha mãe Jeannette, por todo seu amor, carinho, por ter me educado e ajudado muito durante a graduação e pós-graduação.

Ao meu pai Nelson (in memorian), por me ensinar a importância de ser uma pessoa honesta e trabalhadora.

Ao meu irmão Danilo, pelo seu amor incondicional , por sempre ter acreditado em mim, por todos os seus ensinamentos e por ser o exemplo ao qual sigo.

À minha avó Maria (in memorian), por ter sido a melhor avó do mundo e por todo seu amor.

À minha tia Zilda, por todo seu amor, carinho e ajuda.

À minha cunhada Tatiana, que considero como irmã e serei eternamente grata pela sua ajuda.

Agradecimento

À professora Ucha, minha orientadora, por dar-me a oportunidade de realizar este trabalho, pela convivência que tive nesse período e pela amizade.

À Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” por fornecer a toda minha formação acadêmica com ótima qualidade e, por mais uma vez, me receber de braços abertos para realização do mestrado.

À CAPES pela concessão de bolsa.

Ao Professor Dr. Mauro Pedrine Santamaria por todo seu apoio e ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

À Prof. Dra. Andréa Carvalho de Marco por sempre estar à disposição de ajudar e pelo companheirismo por estes dois anos.

Às minhas amigas Camila Lopes e Camilla Magnoni pela amizade, apoio, carinho, sem a ajuda e companheirismo delas, tudo seria mais difícil.

Aos meus amigos da periodontia Marcus, Naira , Nídia, Stefani, Felipe, Camilinha, Thiago, Marcelo, Vinícius e Cassia pela amizade por estes 2 anos.

Ao meu amigo Walter, pois, além de ser um grande profissional, me ajudou muito na realização deste trabalho

À todos que me acompanharam e torceram por mim durante esta jornada.

"Determinação coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho."

(Dalai Lama)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	09
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Estrogênio e a osteoporose.....	17
2.2 Tabagismo.....	18
2.3 Remodelação óssea.....	20
2.4 Enxerto ósseo autógeno <i>onlay</i>	21
3 PROPOSIÇÃO	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Delineamento experimental	24
4.2 Primeiro procedimento cirúrgico – ovariectomia e ovariectomia simulada bilateral.....	26
4.3 Exposição à fumaça de cigarro	27
4.4 Segundo procedimento cirúrgico – enxerto autógeno <i>onlay</i>	29
4.5 Sacrifício	32
4.6 Processamento histológico	33
4.7 Análise histomorfométrica.....	33
4.7.1 Padronização da medição.....	35

4.7.2 Análise histomorfométrica da integração do enxerto ao leito receptor.....	35
4.7.3 Análise histomorfométrica da altura do enxerto.....	36
4.7.4 Análise histomorfométrica da largura do enxerto.....	37
4.8 Análise estatística.....	38
5 RESULTADOS.....	39
5.1 Integração do enxerto.....	39
5.2 Altura do enxerto.....	40
5.3 Largura do enxerto.....	41
6 DISCUSSÃO.....	43
7 CONCLUSÃO.....	49
8 REFERÊNCIAS.....	50
9 ANEXO	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Fluxograma representando a distribuição dos animais.....	25
Figura 2-	Ovarectomia.....	27
Figura 3-	Representação da sequência operacional dos grupos expostos à fumaça de cigarro.....	28
Figura 4-	Desenho esquemático representando o mecanismo de exposição à fumaça de cigarro.....	29
Figura 5-	Área doadora do enxerto.....	30
Figura 6-	Área receptora e enxerto.....	32
Figura 7-	Imagens capturadas para a análise histomorfométrica do subgrupo C+ nos períodos 21, 45 e 60 dias.....	34
Figura 8-	Imagens capturadas para a análise histomorfométrica do subgrupo Fum nos períodos 21, 45 e 60 dias.....	34
Figura 9-	Imagens capturadas para a análise histomorfométrica do subgrupo Ovx nos períodos 21, 45 e 60 dias.....	34
Figura 10-	Imagens capturadas para a análise histomorfométrica do subgrupo Fum+Ovx nos períodos 21, 45 e 60 dias...	34

Figura 11-	Medição da integração na interface leito- enxerto.....	36
Figura 12-	Medição da altura do enxerto.....	37
Figura 13-	Medição da largura do enxerto.....	38
Figura 14-	Gráfico dos valores médios e desvio padrão na integração do enxerto ao leito receptor.....	40
Figura 15-	Gráfico dos valores médios e desvio padrão da altura do enxerto.....	41
Figura 16-	Gráfico dos valores médios e desvio padrão da largura do enxerto.....	42

Bernardo D.V. Influência da inalação da fumaça de cigarro no reparo de enxertos ósseos autógenos *onlay* em ratas ovariectomizadas: estudo histomorfométrico [dissertação]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2016.

RESUMO

O consumo do cigarro pode afetar negativamente o reparo ósseo. A deficiência estrogênica leva à remodelação óssea desproporcional, aumentando a reabsorção mais do que a formação óssea. O objetivo do estudo foi avaliar a influência da fumaça de cigarro, da ovariectomia e das duas situações associadas no reparo de enxertos ósseos autógenos *onlay* nas mandíbulas de ratas. Foram utilizadas 120 ratas adultas (*Rattus norvegicus*, variação albinus, Wistar) divididas aleatoriamente em dois grupos contendo 60 animais cada, compreendidos em Sham e Ovariectomizadas (Ovx). Os grupos Sham e Ovx foram divididos em 2 subgrupos contendo 30 animais cada, constituídos pela ausência ou presença da inalação de fumaça de cigarro, descritos como: Controle positivo (C+) - ratas que não receberam inalação da fumaça de cigarro e não foram ovariectomizadas; (Fum) - ratas que receberam inalação da fumaça de cigarro e não foram ovariectomizadas; (Ovx) - ratas que não receberam inalação da fumaça de cigarro e foram ovariectomizadas; (Fum+Ovx) - ratas que receberam inalação da fumaça de cigarro e foram ovariectomizadas. Em cada subgrupo, os animais foram sacrificados por perfusão cardíaca em três períodos distintos (n=10), entre 21, 45 e 60 dias após a realização da cirurgia de enxerto na hemi mandíbula direita. A análise histomorfométrica foi realizada e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Shapiro-Wilk, ambos com nível de significância convencional de 5%. Os resultados mostraram que houve um aumento na integração do enxerto ao leito receptor nos períodos 21 e 45 dias em todos os subgrupos. Concluiu-se, dentro dos limites do presente estudo que a exposição à fumaça de cigarro não interferiu na reparação dos enxertos ósseos autógenos *onlay* em ratas ovariectomizadas.

Palavras-chave: Regeneração óssea. Transplante ósseo. Osteoporose. Tabaco.

Bernardo D.V. Influence of inhalation of cigarette smoke in the repair of autogenous onlay bone grafts in ovariectomized rats: histomorphometric study [dissertation]. São José dos Campos (SP): Institute of Science and Technology, UNESP - Univ Estadual Paulista, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2016.

ABSTRACT

Cigarette consumption can adversely affect bone repair. The estrogen deficiency leads to bone remodeling disproportionately increasing the resorption rather than bone formation. The aim of the study was to evaluate the influence of cigarette smoke, the ovariectomy and the two situations associated with the repair of bone autogenous onlay grafts in rats jaws. 120 adult rats were used (*Rattus norvegicus*, Albinus variation, Wistar) alheatoriamente divided in two groups of 60 animals each, understood in Sham and ovariectomized (OVX). The Sham and Ovx groups were divided into two subgroups containing 30 animals each, constituted by the absence or presence of inhalation of cigarette smoke, described as positive control (C +) - rats not receiving inhalation of cigarette smoke and were not ovariectomized; (Fum) - rats given inhalation of cigarette smoke and were not ovariectomized; (Ovx) - rats not receiving inhalation of cigarette smoke and were ovariectomized; (Fum + Ovx) - rats given inhalation of cigarette smoke and were ovariectomized. In each subgroup, the animals were sacrificed by cardiac infusion at three different periods (n = 10) among 21, 45 and 60 days after the graft surgery on right hemi jaw. Histomorphometric analysis was performed and the data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and Shapiro-Wilk test, both with conventional significance level of 5%. The results showed an increase in the integration of the graft recipient bed during the periods 21 and 45 days in all subgroups. It was concluded within the limits of this study that exposure to cigarette smoke did not affect the repair of bone autogenous onlay grafts in ovariectomized rats

Keywords: Bone regeneration. Bone transplantation. Osteoporosis. Tobacco.

INTRODUÇÃO

Com o aumento da expectativa de vida associado ao envelhecimento da população, observa-se uma maior demanda por procedimentos estéticos e funcionais reabilitadores, tais como os enxertos ósseos. Por mais de uma década o índice de sucesso desta abordagem terapêutica é observado e aplicado em várias situações na Odontologia. Apesar disso, fatores locais e sistêmicos do paciente podem interferir no processo de osseointegração, comprometendo o sucesso do procedimento (Soares et al., 2010). Dentre as condições sistêmicas mais importantes que vem sendo amplamente discutidas, destaca-se o fumo (Cesar Neto et al., 2003).

O tabagismo é um problema de saúde pública mundial que acarreta, a cada ano, em muitas mortes devido ao seu uso. Segundo dados da World Health Organization (WHO), 2010, é estimado que 10 milhões de mortes ocorrerão até 2020 decorrentes de doenças associadas ao tabaco, sendo que, 70 % destes casos serão observados em países desenvolvidos.

Na Odontologia, o tabagismo também tem sido relacionado à dificuldade na reparação de enxertos ósseos (Jones, Triplett, 1992; Kan et al., 1999), inadequado preenchimento sanguíneo dos alvéolos dentários pós-extração (Meechan et al., 1988), menor taxa de sucesso de implantes de titânio (Bain, Moy, 1993; De Bruyn, Collaert, 1994 ; Nociti et al., 2002b), maior perda óssea ao redor de implantes já osseointegrados (Haas et al., 1996; Lindquist et al., 1997), redução na produção de colágeno e comprometimento da função dos leucócitos polimorfonucleares e macrófagos (Strietzel et al., 2007). Esse conjunto de falhas compõe a limitação da implantologia atual frente à necessidade da

realização de enxertos ósseos, para viabilizar a reabilitação protética de pacientes fumantes (Correa et al., 2009).

A osteoporose é definida como uma doença crônica, multifatorial, determinada por interações entre fatores ambientais e genéticos, provenientes de uma desordem na remodelação óssea que promove fragilidade nos ossos pela redução de sua massa. Tal desordem acarreta no comprometimento da resistência e alteração da microarquitetura do osso que, em conjunto, vão contribuir para uma maior propensão de fraturas ao mínimo trauma (Giampietro et al., 2010 ; Gao et al., 2011).

Para que haja saúde óssea é necessário que exista um equilíbrio no processo de remodelação do osso (McCormick et al., 2007). O estrogênio, principal hormônio regulador desse processo, exerce influência tanto sobre as células osteoblásticas, como as osteoclásticas, além disso, outros hormônios e fatores ambientais são capazes de influenciar esse complexo processo (Young, 2003).

Múltiplos fatores demográficos e ambientais foram avaliados para a contribuição e o desenvolvimento da osteoporose e/ou baixa densidade mineral óssea com resultados contraditórios. Estes incluem tabagismo, excesso de álcool, baixa ingestão de cálcio, insuficiência de vitamina D, baixo índice de massa corporal (IMC), hiperparatireoidismo, raça caucasiana, sexo feminino, e história prévia de fratura (Giampietro et al., 2010). A WHO (2010) classificou o fumo como um fator de risco para fraturas ósseas.

Estudos recentes têm avaliado o efeito do processo da menopausa, que ocorre naturalmente no organismo de mulheres e que, como consequência, pode gerar osteoporose, em associação ao fumo (Kim et al., 2013 ; Tawfik et al., 2015). Ajiro et al. (2010), que avaliaram o impacto do fumo passivo em relação à osteoporose, sugere que essa associação promove um efeito deletério no tecido ósseo uma vez que a redução do fluxo sanguíneo para osso pode gerar um impacto negativo

sobre seu metabolismo. Hapidin et al. (2007), revelaram que a exposição do organismo à nicotina afeta o metabolismo ósseo pela modulação da proliferação de osteoblastos e formação de citocinas de reabsorção óssea IL1 e IL6 em elevados níveis.

Em relação à osteoporose, Kanis et al. (2005) e Lee et al. (2006), revelaram que mulheres fumantes entram no processo de menopausa antes daquelas que não têm esse hábito e estão sujeitas à infertilidade, mostrando que pode ser um indício de que o fumo aumenta o catabolismo do estrogênio. Além disso, os autores ressaltam que há um menor índice de massa corporal nestas mulheres e que os efeitos protetores promovidos pelo tecido adiposo e pelo metabolismo do estrógeno periférico são prejudicados.

Law e Hackshaw, (1997), relatam que o efeito do fumo na densidade mineral óssea (DMO) aumenta cumulativamente com a idade, tanto que existe um efeito tóxico direto sobre o osso quando o organismo fica exposto à nicotina.

Os resultados clínicos favoráveis obtidos com o uso dos implantes osseointegrados e os resultados documentados sobre a integração tecidual tornaram seu uso confiável no tratamento dos pacientes. Entretanto, um dos principais requisitos para o sítio que receberá o implante é o adequado volume de osso alveolar (Donos et al., 2002; Jardini et al., 2005; Adeyemo et al., 2008).

A técnica do enxerto ósseo autógeno requer remoção de tecido ósseo do próprio paciente e tem sido considerada como “*gold standard*” das técnicas de ganho de tecido ósseo por ser imunologicamente compatível e osteogênico (Jardini et al., 2005; Khan et al., 2005).

A regeneração e a incorporação do enxerto ósseo envolvem a interação entre o enxerto e o leito receptor por meio de um complexo processo de proliferação celular, migração, diferenciação e revascularização (Adeyemo et al., 2008). Levando-se em consideração o

aumento da demanda pelas reabilitações com implantes osseointegrados e procedimentos reconstrutivos, o presente estudo tem como objetivo avaliar por meio da histomorfometria a influência da inalação da fumaça de cigarro no reparo de enxertos autógenos em bloco na mandíbula de ratas com deficiência estrogênica e normais.

7 CONCLUSÃO

Conclui-se, dentro dos limites do presente estudo, que a exposição à fumaça de cigarro e a ovariectomia não influenciaram na integração dos enxertos ósseos autógenos *onlay* em ratas.

8 REFERÊNCIAS*

Adeyemo WL, Reuther T, Bloch W, Korkmaz Y, Fischer JH, Zöller JE, et al. Healing of onlay mandibular bone grafts covered with collagen membrane or bovine bone substitutes: a microscopical and immunohistochemical study in the sheep. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2008;37(7):651-9. doi: 10.1016/j.ijom.2008.02.005.

Ajiro Y, Tokuhashi Y, Matsuzaki H, Nakajima S, Ogawa T. Impact of passive smoking on the bones of rats. *Orthopedics*. 2010;33(2):90-5. doi: 10.3928/01477447-20100104-14.

Albee FH. Certain fundamental laws underlying the surgical use of the bone graft. *Ann Surg*. 1921;74(2):196-205.

Ames MS, Hong S, Lee HR, Fields HW, Johnston WM, Kim DG. Estrogen deficiency increases variability of tissue mineral density of alveolar bone surrounding teeth. *Arch Oral Biol*. 2010 Aug;55(8):599-605. doi: 10.1016/j.archoralbio.2010.05.011.

Bain CA, Moy PK. The association between the failure of dental implants and cigarette smoking. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1993;8(6):609-15.

Barone A, Covani U. Maxillary alveolar ridge reconstruction with nonvascularized autogenous block bone: clinical results. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007 Oct;65(10):2039-46.

Bastos AS, Spin-Neto R, Conte-Neto N, Galina K, Boeck-Neto RJ, Marcantonio C, et al. Calvarial autogenous bone graft for maxillary ridge and sinus reconstruction for rehabilitation with dental implants. *J Oral Implantol*. 2014;40(4):469-78. doi: 10.1563/AAID-JOI-D-11-00090.

*Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 20 ago 2013; acesso em 25 out 2014]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Bernardo DV, Tera TM, De Marco AC, Melo Filho AB, Santamaria MP, Jardini MAN. Osteoclastin expression during autogenous onlay bone grafts with or without resorbable collagen membrane in diabetic rats. *Braz Dent Sci.* 2015;18(2):73-81.

Block MS, Baughman DG. Reconstruction of severe anterior maxillary defects using distraction osteogenesis, bone grafts, and implants. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005 Mar;63(3):291-7.

Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res.* 2011 Feb;26(2):229-38. doi: 10.1002/jbmr.320.

Bonfante S, Bosco AF, Luize DS, de Almeida JM, Cestari TM, Taga R. Influence of nicotine on healing process of autogenous bone block grafts in the mandible: a histomorphometric study in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008 May-Jun;23(3):437-44.

Bosco AF, Bonfante S, de Almeida JM, Luize DS, Nagata MJ, Garcia VG. A histologic and histometric assessment of the influence of nicotine on alveolar bone loss in rats. *J Periodontol.* 2007 Mar;78(3):527-32.

Boyce BF, Hughes DE, Wright KR, Xing L, Dai A. Recent advances in bone biology provide insight into the pathogenesis of bone diseases [review]. *Lab Invest.* 1999;79(2):83-94.

Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology. I: Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. *Instr Course Lect.* 1996;45:371-86.

Burchardt H, Enneking WF. Transplantation of bone. *Surg Clin North Am.* 1978;58(2):403-27.

Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Relat Res.* 1983 Apr;(174):28-42.

Buser D, Dula K, Hirt HP, Schenk RK. Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes: a clinical study with 40 partially edentulous patients. *J Oral Maxillofac Surg.* 1996 Apr;54(4):420-32. [discussion 32-3].

Cao JJ, Singleton PA, Majumdar S, Boudignon B, Burghardt A, Kurimoto P, et al. Hyaluronan increases RANKL expression in bone marrow stromal cells through CD44. *J Bone Miner Res.* 2005 Jan;20(1):30-40.

Capulli M, Paone R, Rucci N. Osteoblast and osteocyte: games without frontiers. *Arch Biochem Biophys*. 2014 Nov;561:3-12. doi: 10.1016/j.abb.2014.05.003.

Carvalho MD, Benatti BB, César-Neto JB, Nociti FH, da Rocha Nogueira Filho G, Casati MZ, et al. Effect of cigarette smoke inhalation and estrogen deficiency on bone healing around titanium implants: a histometric study in rats. *J Periodontol*. 2006 Apr;77(4):599-605.

Cendon SP, Battlehner C, Lorenzi Filho G, Dohnnikoff M, Pereira PM, Conceição GM, et al. Pulmonary emphysema induced by passive smoking: an experimental study in rats. *Braz J Med Biol Res*. 1997 Oct;30(10):1241-7.

César-Neto JB, Duarte PM, Sallum EA, Barbieri D, Moreno H Jr, Nociti FH Jr. A comparative study on the effect of nicotine administration and cigarette smoke inhalation on bone healing around titanium implants. *J Periodontol*. 2003 Oct;74(10):1454-9.

Chen NT, Glowacki J, Bucky LP, Hong HZ, Kim WK, Yaremchuk MJ. The roles of revascularization and resorption on endurance of craniofacial onlay bone grafts in the rabbit. *Plast Reconstr Surg*. 1994 Apr;93(4):714-22. [discussion 723-4].

Clarke B. Normal bone anatomy and physiology [review]. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008 Nov;3(Suppl 3):S131-9.

Coleman AL, Seitzman RL, Cummings SR, Yu F, Cauley JA, Ensrud KE, et al. The association of smoking and alcohol use with age-related macular degeneration in the oldest old: the study of osteoporotic fractures. *Am J Ophthalmol*. 2010 Jan;149(1):160-9. doi: 10.1016/j.ajo.2009.07.025.

Cornuz J, Feskanich D, Willett WC, Colditz GA. Smoking, smoking cessation, and risk of hip fracture in women. *Am J Med*. 1999 Mar;106(3):311-4.

Correa MG, Gomes Campos ML, César-Neto JB, Casati MZ, Nociti FH, Sallum EA. Histometric evaluation of bone around titanium implants with different surface treatments in rats exposed to cigarette smoke inhalation. *Clin Oral Implants Res*. 2009 Jun;20(6):588-93. doi: 10.1111/j.1600-0501.2008.01695.x.

Crockett JC, Mellis DJ, Scott DI, Helfrich MH. New knowledge on critical osteoclast formation and activation pathways from study of rare genetic diseases of osteoclasts: focus on the RANK/RANKL axis. *Osteoporos Int*. 2011 Jan;22(1):1-20.

Dado DV, Izquierdo R. Absorption of onlay bone grafts in immature rabbits: membranous versus enchondral bone and bone struts versus paste. *Ann Plast Surg*. 1989 Jul;23(1):39-48.

De Bruyn H, Collaert B. The effect of smoking on early implant failure. *Clin Oral Implants Res*. 1994 Dec;5(4):260-4.

de Carvalho PS, Vasconcellos LW, Pi J. Influence of bed preparation on the incorporation of autogenous bone grafts: a study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000 Jul-Aug;15(4):565-70.

De Marco AC, Jardini MA, Modolo F, Nunes FD, de Lima LA. Immunolocalization of bone morphogenetic protein 2 during the early healing events after guided bone regeneration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012 Apr;113(4):533-41. doi: 10.1016/j.oooo.2011.09.016.

Donos N, Kostopoulos L, Karring T. Alveolar ridge augmentation by combining autogenous mandibular bone grafts and non-resorbable membranes. *Clin Oral Implants Res*. 2002 Apr;13(2):185-91.

Donovan MG, Dickerson NC, Hellstein JW, Hanson LJ. Autologous calvarial and iliac onlay bone grafts in miniature swine. *J Oral Maxillofac Surg*. 1993 Aug;51(8):898-903.

Downey PA, Siegel MI. Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. *Phys Ther*. 2006 Jan;86(1):77-91.

Eklund SA, Moller IJ, Leclercq MH. Calibration of examiners for oral health epidemiological surveys. World Health Organization. Geneva: WHO; 1993.

Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (I). Success criteria and epidemiology. *Eur J Oral Sci*. 1998 Feb;106(1):527-51.

Fleischer NL, Diez Roux AV, Hubbard AE. Inequalities in body mass index and smoking behavior in 70 countries: evidence for a social transition in chronic disease risk. *Am J Epidemiol*. 2012 Feb;175(3):167-76. doi: 10.1093/aje/kwr314.

Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *Biomed Res Int.* 2015;2015:421746.doi: 10.1155/2015/421746.

Franz-Odenaal TA, Hall BK, Witten PE. Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Dev Dyn.* 2006 Jan;235(1):176-90.

Gao SG, Li KH, Xu M, Jiang W, Shen H, Luo W, et al. Bone turnover in passive smoking female rat: relationships to change in bone mineral density. *BMC Musculoskelet Disord.* 2011 Jun 11;12:131.doi: 10.1186/1471-2474-12-131.

Giampietro PF, McCarty C, Mukesh B, McKiernan F, Wilson D, Shuldiner A, et al. The role of cigarette smoking and statins in the development of postmenopausal osteoporosis: a pilot study utilizing the Marshfield Clinic Personalized Medicine Cohort. *Osteoporos Int.* 2010 Mar;21(3):467-77. doi: 10.1007/s00198-009-0981-3.

Giorgetti AP, César Neto JB, Ruiz KG, Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH Jr. Cigarette smoke inhalation modulates gene expression in sites of bone healing: a study in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 Oct;110(4):447-52. doi: 10.1016/j.tripleo.2010.02.029.

Gullihorn L, Karpman R, Lippiello L. Differential effects of nicotine and smoke condensate on bone cell metabolic activity. *J Orthop Trauma.* 2005 Jan;19(1):17-22.

Haas R, Haimböck W, Mailath G, Watzek G. The relationship of smoking on peri-implant tissue: a retrospective study. *J Prosthet Dent.* 1996 Dec;76(6):592-6.

Hapidin H, Othman F, Soelaiman IN, Shuid AN, Luke DA, Mohamed N. Negative effects of nicotine on bone-resorbing cytokines and bone histomorphometric parameters in male rats. *J Bone Miner Metab.* 2007;25(2):93-8.

Hardesty RA, Marsh JL. Craniofacial onlay bone grafting: a prospective evaluation of graft morphology, orientation, and embryonic origin. *Plast Reconstr Surg.* 1990 Jan;85(1):5-14; discussion 5.

Hollenbach KA, Barrett-Connor E, Edelstein SL, Holbrook T. Cigarette smoking and bone mineral density in older men and women. *Am J Public Health.* 1993 Sep;83(9):1265-70.

Hollinger JO, Schmitt JM, Hwang K, Soleymani P, Buck D. Impact of nicotine on bone healing. *J Biomed Mater Res.* 1999 Jun;45(4):294-301.

Iwaniec UT, Fung YK, Akhter MP, Haven MC, Nespor S, Haynatzki GR, et al. Effects of nicotine on bone mass, turnover, and strength in adult female rats. *Calcif Tissue Int.* 2001 Jun;68(6):358-64.

Jardini MA, De Marco AC, Lima LA. Early healing pattern of autogenous bone grafts with and without e-PTFE membranes: a histomorphometric study in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005 Dec;100(6):666-73.

Javed F, Al-Rasheed A, Almas K, Romanos GE, Al-Hezaimi K. Effect of cigarette smoking on the clinical outcomes of periodontal surgical procedures. *Am J Med Sci.* 2012 Jan;343(1):78-84.doi: 10.1097/MAJ.0b013e318228283b.

Jones JK, Triplett RG. The relationship of cigarette smoking to impaired intraoral wound healing: a review of evidence and implications for patient care. *J Oral Maxillofac Surg.* 1992 Mar;50(3):237-9;[discussion 239-40].

Kalaitzidis D, Gilmore TD. Transcription factor cross-talk: the estrogen receptor and NF-kappaB. *Trends Endocrinol Metab.* 2005 Mar;16(2):46-52.

Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner.* 1991 Dec;15(3):175-91.

Kan JY, Rungcharassaeng K, Lozada JL, Goodacre CJ. Effects of smoking on implant success in grafted maxillary sinuses. *J Prosthet Dent.* 1999 Sep;82(3):307-11.

Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, De Laet C, Eisman JA, et al. Smoking and fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2005 Feb;16(2):155-62.

Karsenty G, Kronenberg HM, Settembre C. Genetic control of bone formation. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2009;25:629-48.doi: 10.1146/annurev.cellbio.042308.113308.

Khan SN, Cammisa FP, Sandhu HS, Diwan AD, Girardi FP, Lane JM. The biology of bone grafting. *J Am Acad Orthop Surg.* 2005 Jan-Feb;13(1):77-86.

Kim KH, Lee CM, Park SM, Cho B, Chang Y, Park SG, et al. Secondhand smoke exposure and osteoporosis in never-smoking postmenopausal women: the Fourth Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Osteoporos Int.* 2013 Feb;24(2):523-32.doi: 10.1007/s00198-012-1987-9.

Law MR, Hackshaw AK. A meta-analysis of cigarette smoking, bone mineral density and risk of hip fracture: recognition of a major effect. *BMJ.* 1997 Oct 4;315(7112):841-6.

Le Mesurier SM, Stewart BW, Lykke AW. Injury to type-2 pneumocytes in rats exposed to cigarette smoke. *Environ Res.* 1981 Feb;24(1):207-17.

Lee SH, Rho J, Jeong D, Sul JY, Kim T, Kim N, et al. v-ATPase V0 subunit d2-deficient mice exhibit impaired osteoclast fusion and increased bone formation. *Nat Med.* 2006 Dec;12(12):1403-9.

Lerner UH. Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res.* 2006 Jul;85(7):584-95.

Lindquist LW, Carlsson GE, Jemt T. Association between marginal bone loss around osseointegrated mandibular implants and smoking habits: a 10-year follow-up study. *J Dent Res.* 1997 Oct;76(10):1667-74.

Luize DS, Bosco AF, Bonfante S, de Almeida JM. Influence of ovariectomy on healing of autogenous bone block grafts in the mandible: a histomorphometric study in an aged rat model. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008 Mar-Apr;23(2):207-14.

Machado GJ, Dias SM, Bosco AF, Okamoto T, Bedran de Castro JC, Dornelles RC. Action of nicotine and ovariectomy on bone regeneration after tooth extraction in rats. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010 Nov;68(11):2675-81.

McCormick RK. Osteoporosis: integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility. *Altern Med Rev.* 2007 Jun;12(2):113-45.

Mecall RA, Rosenfeld AL. Influence of residual ridge resorption patterns on implant fixture placement and tooth position. 1. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1991;11(1):8-23.

Meechan JG, Macgregor ID, Rogers SN, Hobson RS, Bate JP, Dennison M. The effect of smoking on immediate post-extraction socket filling with blood and on the incidence of painful socket. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1988 Oct;26(5):402-9.

Milinkovic I, Cordaro L. Are there specific indications for the different alveolar bone augmentation procedures for implant placement? A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2014 May;43(5):606-25. doi: 10.1016/j.ijom.2013.12.004.

Miller SC, de Saint-Georges L, Bowman BM, Jee WS. Bone lining cells: structure and function. *Scanning Microsc*. 1989 Sep;3(3):953-60; [discussion 960-1].

Miquel J, Ramírez-Boscá A, Ramírez-Bosca JV, Alperi JD. Menopause: a review on the role of oxygen stress and favorable effects of dietary antioxidants. *Arch Gerontol Geriatr*. 2006 May-Jul;42(3):289-306.

Munakata M, Tachikawa N, Honda E, Shiota M, Kasugai S. Influence of menopause on mandibular bone quantity and quality in Japanese women receiving dental implants. *Arch Osteoporos*. 2011;6:51-7. doi: 10.1007/s11657-011-0058-8.

Nascimento RD, Cardoso PE, De Marco AC, de Lima LA, Jardini MA. Influence of osteopenia in autogenous bone graft healing with or without expanded polytetrafluoroethylene membranes: histologic and histomorphometric study in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009 Nov-Dec;24(6):1074-82.

Nociti FH Jr, César NJ, Carvalho MD, Sallum EA. Bone density around titanium implants may be influenced by intermittent cigarette smoke inhalation: a histometric study in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002a May-Jun;17(3):347-52

Nociti Júnior FH, Cesar Neto JB, Carvalho MD, Sallum EA, Sallum AW. Intermittent cigarette smoke inhalation may affect bone volume around titanium implants in rats. *J Periodontol*. 2002b Sep;73(9):982-7.

Ortego-Centeno N, Muñoz-Torres M, Jódar E, Hernández-Quero J, Jurado-Duce A, de la Higuera Torres-Puchol J. Effect of tobacco consumption on bone mineral density in healthy young males. *Calcif Tissue Int*. 1997 Jun;60(6):496-500.

Raghoobar GM, Brouwer TJ, Reintsema H, Van Oort RP. Augmentation of the maxillary sinus floor with autogenous bone for the placement of endosseous implants: a preliminary report. *J Oral Maxillofac Surg*. 1993 Nov;51(11):1198-203; [discussion 1203-5].

Roberts WE, Turley PK, Brezniak N, Fielder PJ. Implants: Bone physiology and metabolism. *CDA J*. 1987 Oct;15(10):54-61.

Rothem DE, Rothem L, Soudry M, Dahan A, Eliakim R. Nicotine modulates bone metabolism-associated gene expression in osteoblast cells. *J Bone Miner Metab.* 2009;27(5):555-61. doi: 10.1007/s00774-009-0075-5.

Saldanha JB, Pimentel SP, Casati MZ, Sallum AW, Sallum EA, Nociti FH. Histologic evaluation of the effect of nicotine administration on bone regeneration. A study in dogs. *Braz Oral Res.* 2004 Oct-Dec;18(4):345-9.

Sbordone L, Toti P, Menchini-Fabris GB, Sbordone C, Piombino P, Guidetti F. Volume changes of autogenous bone grafts after alveolar ridge augmentation of atrophic maxillae and mandibles. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2009 Oct;38(10):1059-65. doi: 10.1016/j.ijom.2009.06.024.

Serletti JM, Moran SL. The combined use of the TRAM and expanders/implants in breast reconstruction. *Ann Plast Surg.* 1998 May;40(5):510-4.

Sipe RV 3rd, Buck DC, Hollinger JO. Nicotine administration in rabbits using Habitrol nicotine patches and nicotine nasal spray. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2000 Jul;27(7):480-2.

Soares EV, Fávaro WJ, Cagnon VH, Bertran CA, Camilli JA. Effects of alcohol and nicotine on the mechanical resistance of bone and bone neoformation around hydroxyapatite implants. *J Bone Miner Metab.* 2010;28(1):101-7. doi: 10.1007/s00774-009-0115-1.

Springfield DS. Autogenous bone grafts: nonvascular and vascular. *Orthopedics.* 1992 Oct;15(10):1237-41.

Springfield DS. Surgical wound healing. *Cancer Treat Res.* 1993;67:81-98

Strietzel FP, Reichart PA, Kale A, Kulkarni M, Wegner B, Kuchler I. Smoking interferes with the prognosis of dental implant treatment: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2007 Jun;34(6):523-44.

Stringa G. Studies of the vascularisation of bone grafts. *J Bone Joint Surg Br.* 1957 May;39-B(2):395-420.

Takayanagi H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat Rev Immunol.* 2007 Apr;7(4):292-304.

Tawfik H, Kline J, Jacobson J, Tehranifar P, Protacio A, Flom JD, et al. Life course exposure to smoke and early menopause and menopausal transition. *Menopause*. 2015 Oct;22(10):1076-83. doi: 10.1097/GME.0000000000000444.

Teitelbaum SL. Osteoclasts: what do they do and how do they do it? *Am J Pathol*. 2007 Feb;170(2):427-35.

Tera TM, Prado RF, De Marco AC, Santamaria MP, Jardini MA. The RANK/ RANKL/ OPG interaction in the repair of autogenous bone grafts in female rats with estrogen deficiency. *Braz Oral Res*. 2014a;28. pii: S1806-83242014000100261.

Tera TM, Nascimento RD, Prado RF, Santamaria MP, Jardini MA. Immunolocalization of markers for bone formation during guided bone regeneration in osteopenic rats. *J Appl Oral Sci*. 2014b Nov-Dec;22(6):541-53. doi: 10.1590/1678-775720140190.

Turner RT, Riggs BL, Spelsberg TC. Skeletal effects of estrogen. *Endocr Rev*. 1994 Jun;15(3):275-300.

Ward KD, Klesges RC. A meta-analysis of the effects of cigarette smoking on bone mineral density. *Calcif Tissue Int*. 2001 May;68(5):259-70.

Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *J Clin Invest*. 2006 May;116(5):1186-94.

World Health Organization. Framework Convention on Tobacco Control. Governments celebrate five years of anti-tobacco convention [Internet]. Geneva: WHO / FCTC; s/d [cited 18 out 2015. Disponível a partir de: <http://www.who.int/fctc/press.pdf>.

Wronski TJ, Cintrón M, Dann LM. Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int*. 1988a;43(3):179-83.

Wronski TJ, Cintrón M, Doherty AL, Dann LM. Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinology*. 1988 Aug b;123(2):681-6.

Wronski TJ, Dann LM, Scott KS, Cintrón M. Long-term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. *Calcif Tissue Int*. 1989 Dec;45(6):360-6.

Xu B, Lovre D, Mauvais-Jarvis F. Effect of selective estrogen receptor modulators on metabolic homeostasis. *Biochimie*. 2015 Jun 29. pii: S0300-9084(15)00197-2. doi: 10.1016/j.biochi.2015.06.018.

Yavropoulou MP, Yovos JG. Osteoclastogenesis--current knowledge and future perspectives. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2008 Jul-Sep;8(3):204-16.

Young MF. Bone matrix proteins: more than markers. *Calcif Tissue Int*. 2003 Jan;72(1):2-4.

Yuhara S, Kasagi S, Inoue A, Otsuka E, Hirose S, Hagiwara H. Effects of nicotine on cultured cells suggest that it can influence the formation and resorption of bone. *Eur J Pharmacol*. 1999 Nov 3;383(3):387-93.

Zeiss IM, Nisbet NW, Heslop BF. Studies on transference of bone. 2. Vascularization of autologous and homologous implants of cortical bone in rats. *Br J Exp Pathol*. 1960 Aug;41:345-63.