



*Daniela Gonçalves*

*Influência da perda de massa óssea  
sobre a doença periodontal induzida. Estudo  
radiográfico e densitométrico em ratas*

**ARARAQUARA**

**2004**



*Daniela Gonçalves*

*Influência da perda de massa óssea  
sobre a doença periodontal induzida. Estudo  
radiográfico e densitométrico em ratas*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – do Campus de Araraquara, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Periodontia.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Silvana Regina Perez Orrico

**ARARAQUARA**

**2004**

Gonçalves, Daniela

Influência da perda de massa óssea sobre a doença periodontal induzida. Estudo radiográfico e densitométrico em ratas / Daniela Gonçalves. – Araraquara : [s.n.], 2004.  
167 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Silvana Regina Perez Orrico

1. Ovariectomia. 2. Doenças periodontais 3. Densitometria por raios X I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley Cristina Chiusoli Montagnoli CRB 8/5646

Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Araraquara / UNESP

# *Dados Curriculares*

*Daniela Gonçalves*

NASCIMENTO 09.01.76 – SÃO CARLOS / SP

FILIAÇÃO José Sergio Gonçalves

Marben Ferraz da Porciúncula Gonçalves

1996/1999 Curso de Graduação.

Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

2001/2002 Curso de Especialização em Periodontia.

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2002/2004 Curso de Pós-Graduação em Periodontia, Nível

Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara –

UNESP.

*“A vida existe para fazer, aprender e desfrutar. Quanto mais se aprende, mais se pode fazer; quanto mais se faz, mais se pode aprender.”*

*Lisa Engelhardt*

# AGRADECIMENTOS...

À Faculdade de Odontologia de Araraquara, nas pessoas de seu diretor, Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached e, Vice-Diretor, Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio, pela competência, dedicação e responsabilidade com que coordena o Curso de Pós-Graduação na área de Periodontia.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

À Profa. Dra. Rosa Maria R. Pereira pela disponibilização do laboratório de densitometria. E à bióloga LÍlian pela colaboração na leitura das peças.

Às funcionárias da Disciplina de Periodontia, D<sup>a</sup>. Maria do Rosário, D<sup>a</sup> Teresinha, Maria José e Fernanda, pela gentileza e respeito que sempre me dispensaram.

À Regina Lúcia, por sua competência, paciência e disponibilidade.

À Cláudia, por sua amizade, atenção, carinho e sua colaboração.

Aos amigos do Curso de Pós-Graduação em Periodontia, Andréia, Bia, Eduardo, Elizângela, Fernanda, Fernando, Jorge, Juliana Moraes, Juliana Rico, Patrícia, Samy, Vanessa e a todos os colegas do doutorado em periodontia. Por todos os momentos em que convivemos e pela oportunidade de aprendizado.

À Patrícia O. Nassar por sua colaboração cedendo as fotos dos animais.

À Gabriela Giro e à Solange Galiazzi pela colaboração na parte prática deste trabalho.

À D<sup>a</sup>. Maria do Carmo, por sua colaboração na execução da parte prática desta pesquisa.

A todos os funcionários do Depto. de Diagnóstico e Cirurgia, em especial à Telma, Sueli e Toninho pela dedicação e eficiência com que sempre me atenderam.

A todos os funcionários da Biblioteca, pela atenção e disponibilidade.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação pela atenção e colaboração.

A todos os alunos de Pós-Graduação pela oportunidade de aprendizagem e pela convivência e amizade conquistada.

À Tia Jana por sua colaboração na revisão gramatical deste texto.

As minhas irmãs de coração: Fernanda, Iriana e Sandra por todo amor, amizade, aprendizagem e convivência durante a graduação.

A todos meus amigos que torceram por mim e me deram coragem para seguir em busca dos meus ideais.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

*Minha eterna gratidão*

## AGRADEÇO ESPECIALMENTE...

À *Profa. Dra. Silvana Regina Perez Orrico*,  
minha orientadora, por sua dedicação, respeito, amizade,  
competência, honestidade e disposição com que me orientou  
durante o mestrado.

Aos docentes do curso de Periodontia, *Prof. Dr. Benedicto Egbert Corrêa de Toledo*, *Prof. Dr. Carlos Rossa Jr.*, *Prof. Dr. Elcio Marcantonio Jr.*, *Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli*, *Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio*, *Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached*, *Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérizi Marcantonio*, pela amizade, pelos conhecimentos transmitidos, e por minha formação pessoal e profissional.

Ao *Tio Hélio*, por seu exemplo de dignidade, competência e total desprendimento e por seu auxílio na revisão deste trabalho.

Às minhas irmãs de coração: *Vanessa e Cristiane*, pela valiosa convivência, apoio e companherismo durante este curso. E a *Fernanda* (minha Madrinha) por toda colaboração, companherismo, e carinho...

*Dedico Este Trabalho...*

*A Deus, pela vida e por sua presença constante  
Em todos os momentos.*

*Se você tem fé... nada lhe será impossível.  
Mateus, 17:20*

Aos meus queridos pais, *JOSÉ SERGIO* e *MARBEN*,  
pelo amor, atenção, exemplo de vida, e por todas as  
condições que me deram para buscar o conhecimento,  
abrindo mão dos seus sonhos para a realização dos meus.  
Não foram apenas pais, mas amigos e companheiros.

Aos meus irmãos, *Zé, Binha, Kiko e Carlinhos (in  
memorian)* juntamente com meus cunhados e sobrinhos  
pela convivência, amor, aprendizado e apoio.

Ao *Fábio*, por sua paciência, apoio, atenção,  
companherismo, e acima de tudo sua valiosa ajuda na  
conclusão deste trabalho.

*AMO VOCÊS*

# *Sumário*

|                                                     |     |
|-----------------------------------------------------|-----|
| Lista de Abreviaturas                               | 08  |
| 1. INTRODUÇÃO                                       | 10  |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA                            | 14  |
| 2.1. Osteoporose                                    | 15  |
| 2.2. Osteoporose e perda óssea oral                 | 28  |
| 2.3. Modelo animal de osteoporose: ratos            | 55  |
| 2.4. Modelo animal de indução de doença periodontal | 58  |
| 3. PROPOSIÇÃO                                       | 63  |
| 4. MATERIAL E MÉTODO                                | 65  |
| 4.1. Animais                                        | 66  |
| 4.2. Procedimento cirúrgico                         | 67  |
| 4.3. Procedimento de indução de doença periodontal  | 69  |
| 4.4. Sacrifício dos animais                         | 72  |
| 4.5. Avaliação radiográfica e densitométrica        | 73  |
| 4.6. Avaliação da perda óssea vertical              | 77  |
| 4.7. Análise estatística                            | 78  |
| 5. RESULTADO                                        | 80  |
| 6. DISCUSSÃO                                        | 98  |
| 7. CONCLUSÃO                                        | 114 |
| 8. REFERÊNCIAS                                      | 116 |
| ANEXOS                                              | 133 |
| APÊNDICES                                           | 155 |
| RESUMO                                              | 162 |
| ABSTRACT                                            | 165 |

## *Lista de Abreviaturas*

|                |                                                                                                     |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ATM            | Articulação temporomandibular                                                                       |
| BMC            | Bone mineral content<br>(Conteúdo mineral ósseo)                                                    |
| BMD            | Bone mineral density<br>(Densidade mineral óssea)                                                   |
| CT             | Calcitonina                                                                                         |
| DPA            | Dual photon absorptiometry<br>(Densitometria por dupla emissão com fonte de fóton)                  |
| DXA = DEXA     | Dual Energy X-Ray Absorptiometry<br>(Densitometria por dupla emissão com fonte de raios X)          |
| E <sub>2</sub> | Estrógeno                                                                                           |
| IOF            | Fundação Internacional de Osteoporose                                                               |
| JCE            | Junção cimento-esmalte                                                                              |
| OMS            | Organização Mundial de Saúde                                                                        |
| OVX            | Ovariectomy (Ovariectomia - Ooforectomia)                                                           |
| pQCT           | Peripheral Quantitative Computed Tomography<br>(Tomografia Computadorizada Quantitativa Periférica) |
| PTH-c          | Paratormônio                                                                                        |
| RIA            | Radioimunoensaio                                                                                    |
| “SHAM”         | Cirurgia simulada “SHAM Surgery”                                                                    |
| SMCE           | Sistema de Medição de Comprimento de Estruturas                                                     |
| SPA            | Single photon absorptiometry<br>(Densitometria por emissão simples de fóton)                        |
| SXA            | Single x-ray absorptiometry<br>(Densitometria por emissão simples de raios X)                       |
| QCT            | Quantitative computed tomography<br>(Tomografia Computadorizada Quantitativa)                       |

# *Introdução*

# *1. Introdução*

A osteoporose pós-menopausa constitui um sério problema de saúde pública no mundo todo. É uma condição que ocorre principalmente em mulheres após a menopausa, devido à perda de função ovariana e conseqüente redução de estrogênio, culminando com alterações neurovegetativas, psicológicas, tróficas e metabólicas <sup>4,18</sup>.

A Organização Mundial de Saúde define a osteoporose como uma doença generalizada do esqueleto, caracterizada pela diminuição da massa óssea e pela deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, acarretando fragilidade e, portanto, aumento do risco de fratura <sup>12</sup>.

O excesso de perda de massa óssea que caracteriza a patogênese da osteoporose resulta primeiramente da incapacidade do osso em executar seu ciclo de remodelação óssea <sup>64</sup>.

Na osteoporose pós-menopausa há um aparente excesso de perda óssea trabecular com uma relativa redução do osso cortical, associada à deficiência de estrogênio <sup>42,86</sup>.

A deficiência hormonal resulta em uma alta taxa de remodelação óssea na qual a reabsorção excede a formação, apresentando, dessa forma, uma perda de massa óssea corpórea<sup>18</sup>. Células ósseas de homens e mulheres, quando isoladas, demonstraram

que possuem receptores para estrógenos e andrógenos, sendo que os osteoblastos respondem ao 17  $\beta$ -estradiol por meio do aumento da proliferação e, portanto, da expressão genética do colágeno, e os osteoclastos exibem decréscimo da atividade de reabsorção <sup>17</sup>.

Atualmente, algumas pesquisas indicam que a reposição com 17  $\beta$ -estradiol leva à estagnação da perda de massa óssea <sup>35,37</sup>.

Em ratas, a ooforectomia (OVX) induz à osteopenia <sup>2,39,82,101,102,105</sup>, e tem sido o método mais utilizado para se obter um modelo animal de osteoporose pós-menopausa <sup>20,25,41,81</sup>. Esse procedimento demonstrou que a falta de estrogênio por longo período de tempo leva a uma diminuição da densidade óssea mineral e alteração nas propriedades estruturais da mandíbula, como dureza e quantidade de osso, sendo que a idade pode acentuar essa perda <sup>15</sup>.

A deficiência de estrogênio relaciona-se, em especial, com osteopenia de ossos longos, como tíbia e fêmur <sup>74,100,102</sup>, com a maioria dos estudos em animais avaliando o efeito da ooforectomia sobre esses ossos e coluna vertebral <sup>100</sup>.

Assim, vários estudos <sup>85,101,103</sup> observaram perda óssea na região da diáfise proximal da tíbia, em diferentes períodos (35 a 540 dias) após ooforectomia.

Avaliando o fêmur, Kimmel e Wronski<sup>43</sup> (1990) encontraram menor densidade óssea na região distal, enquanto Yamazaki

e Yamaguchi<sup>109</sup> (1989) observaram significativa perda óssea na região trabecular proximal.

A densitometria óssea constitui um método prático, largamente utilizado para diagnóstico de osteoporose. Estudos, inclusive em animais, demonstram ser esse um método altamente preciso<sup>5,27</sup>. Além disso, uma forma de densitometria, obtida por *Dual Energy X-Ray Absorptiometry* (DXA), é aprovada para medidas de densidade mineral óssea (BMD) de pacientes e pequenos animais<sup>25,26</sup>.

Entretanto, poucos estudos foram encontrados avaliando o efeito da osteoporose sobre os maxilares<sup>15,66,89,90,91</sup>. Os achados mais freqüentes consistem em menor densidade óssea mandibular<sup>15,33,45,50</sup>, severa reabsorção de rebordo residual<sup>13,98</sup>, alterações na região condilar<sup>66,89,91</sup> e maior número de dentes perdidos<sup>36,47,62</sup>.

Além disso, não foram encontrados estudos avaliando a influência da perda de massa óssea sobre a doença periodontal induzida em animais.

# *Revisão da Literatura*

## *2. Revisão da literatura*

### *2.1. Osteoporose*

#### *2.1.1. Definição*

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define a osteoporose como uma doença sistêmica generalizada do esqueleto, caracterizada pela diminuição da massa óssea e pela deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, acarretando fragilidade ao esqueleto e, conseqüentemente, aumento do risco de fratura.

Atualmente, a OMS conceitua de forma mais técnica e operacional os pacientes osteoporóticos: aqueles que, ao realizarem o exame de densitometria óssea, têm uma BMD (Densidade Mineral Óssea) abaixo de  $-2,5$  desvios-padrão (T-score) em comparação à massa óssea de adultos jovens (CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON OSTEOPOROSIS<sup>12</sup>,1993).

#### *2.1.2. Classificação*

A osteoporose pode ser classificada em dois tipos principais:

- Osteoporose primária: Tipo mais estudado. Quando a causa de origem advém de alterações intrínsecas ao metabolismo ósseo.

Pode ser dividida em:

- Osteoporose Juvenil Idiopática.
- Osteoporose Idiopática dos Adultos Jovens.
- Osteoporose Involucional:
  - Tipo I (pós-menopáusica): mais importante e freqüente
  - Tipo II (senil).

- Osteoporose secundária: quando a perda de massa óssea é decorrente de outras doenças inflamatórias (doença reumatóide), metabólicas (Doença de Cushing, hipertireoidismo) e do uso crônico de medicamentos como, por exemplo, glicocorticóides.

A osteoporose pós-menopausa afeta todo o esqueleto, sendo que nos primeiros anos de menopausa a média de perda óssea anual é de 2 a 3% e, após os quarenta anos, eleva-se a cifras acima de 5% ao ano. Fatores nutricionais, estilo de vida e dieta inadequada em cálcio, aliados a uma baixa dos estrógenos, contribuem para a queda dos valores da massa óssea. Caracteriza-se por um aparente excesso de perda óssea trabecular com relativa redução do osso cortical, estando associada à deficiência de estrogênio<sup>18</sup>.

Na osteoporose senil, há perda óssea tanto do osso trabecular quanto cortical (principalmente), promovendo um aumento do diâmetro do canal medular com o avançar da idade (CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON OSTEOPOROSIS<sup>12</sup>, 1993).

### *2.1.3. Epidemiologia*

A osteoporose tem sido definida como a “epidemia do século XXI”, devido à alteração do perfil demográfico mundial, conseqüente ao aumento da longevidade e diminuição das taxas de natalidade, principalmente nos Estados Unidos e países europeus.

Dados apresentados durante o último Congresso Mundial da Fundação Internacional de Osteoporose (IOF), em 2000, revelam que nada menos que duzentos milhões de pessoas no planeta sofrem da doença, tornando as fraturas por fragilidade um grande desafio em termos de saúde pública mundial.

A maior ocorrência dessas fraturas ocorre em mulheres, devido às importantes mudanças no metabolismo ósseo no período pós-menopausa. Porém, 20% dos homens também apresentam essa condição.

Trata-se de uma doença crônica, complexa e multifatorial, que pode progredir silenciosamente por décadas, levando à perda de

tecido ósseo até que ocorram fraturas características, as quais propiciam piora na qualidade de vida.

Baixo pico de massa óssea, hereditariedade, baixa estatura e/ou peso corporal, raça caucasiana, tabagismo, sedentarismo, baixa ingestão de cálcio, menopausa precoce, alcoolismo e imobilização prolongada constituem os principais fatores de risco da osteoporose (CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON OSTEOPOROSIS<sup>12</sup>, 1993).

A obesidade oferece alguma proteção em relação à perda de massa óssea, podendo ser pelo aumento da carga em peso distribuída através dos ossos e pela produção aumentada de estrógenos no tecido adiposo (OLIVEIRA<sup>67</sup>, 2002).

#### *2.1.4. Fisiologia do tecido ósseo*

O tecido ósseo é um tipo especial de tecido conjuntivo constituído por cristais de fosfato de cálcio dentro de uma matriz de colágeno (GANONG<sup>21</sup>, 1995).

Esse tecido é responsável pela proteção dos órgãos vitais, pela rigidez, permitindo a locomoção e a sustentação de cargas contra a gravidade, além de ser o principal depósito de minerais, como o cálcio e fósforo, contribuindo para a homeostase desses importantes íons no organismo (BARON<sup>7</sup>, 1996).

O osso é um tecido dinâmico, em contínua renovação, composto primordialmente das seguintes células: osteoblastos (responsáveis pela formação óssea), osteoclastos (responsáveis pela reabsorção óssea) e osteócitos.

Cada elemento ósseo possui morfologia própria, sendo constituído por osso cortical ou compacto, esponjoso ou trabecular e medula óssea, em diferentes proporções.

O osso trabecular corresponde a cerca de 20% do esqueleto, localizando-se principalmente nas vértebras, bacia e costelas, sendo metabolicamente mais ativo que o osso cortical. Está organizado tridimensionalmente na forma de trabéculas, onde se localizam as “lining-cells” com receptores para mediadores do metabolismo ósseo, tais como o estrógeno (GANONG<sup>21</sup>,1995).

As trabéculas ósseas estão dispostas aleatoriamente no espaço e entre elas encontra-se a medula hematopoiética (KANIS<sup>42</sup>,1996).

O osso cortical corresponde a 80% do total do esqueleto, conferindo a ele maior rigidez. É encontrado principalmente em ossos longos e organizado em estruturas lamelares e concêntricas, formando os ósteons.

No osso compacto, as “*lining-cells*” encontram-se nas superfícies de revestimento do canal de Havers, no interior de cada ósteon (BARON<sup>7</sup>,1996).

Ao longo da vida, o osso está sendo constantemente reabsorvido, osso novo está sendo formado e o cálcio se renovando.

A remodelação óssea é, sobretudo, um processo local que ocorre em pequenas áreas por populações de células denominadas unidades de remodelação óssea. Inicialmente os osteoclastos absorvem o osso, em seguida os osteoblastos depositam osso novo na mesma área comum, num ciclo de aproximadamente 100 dias (GANONG<sup>21</sup>,1995).

A intensidade de renovação óssea é, por ano, cerca de 20% para o osso trabecular e 4% para o osso cortical. A remodelagem está relacionada, em parte, aos estresses e esforços impostos ao esqueleto e a outros fatores, sendo regulada por hormônios da circulação sistêmica e por fatores de crescimento (GANONG<sup>21</sup>,1995).

Quando os níveis de estrogênio estão reduzidos, há um desequilíbrio da remodelação, com aumento da atividade osteoclástica, em que os osteoclastos formam lacunas profundas que não são completamente preenchidas pela atividade osteoblástica (PARFITT<sup>71</sup>, 1979).

Até a terceira década de vida o esqueleto acumula osso progressivamente, até atingir o pico de massa óssea. Daí por diante

inicia-se a diminuição de massa óssea, sendo que nas mulheres a perda é maior nos primeiros anos pós-menopausa, devido à diminuição na produção do estrogênio (FRIEDLANDER<sup>18</sup>, 2002; KANIS<sup>42</sup>, 1996).

### *2.1.5. Fisiopatologia da osteoporose*

Desde 1940 tem havido um esforço contínuo para se entender as causas ou razões da perda óssea.

Com o tempo, as hipóteses sobre a patogênese da osteoporose têm sofrido mudanças decorrentes do progressivo desenvolvimento científico.

Albright<sup>3</sup>, em 1941, em publicação científica alertou para o fato de que a osteoporose não era um defeito no metabolismo do cálcio isoladamente, mas sim associado a uma deficiência de estrogênios, observada na menopausa, a qual atuaria diminuindo a atividade osteoblástica e, conseqüentemente, a formação óssea. Dessa forma, a idéia de que a menopausa era o principal fator de risco para a osteoporose foi aceita por 20 anos.

Utilizando cálcio radioativo, Heaney e Whedon<sup>30</sup> (1958) não observaram diminuição da atividade osteoblástica em mulheres osteoporóticas, mas sim elevada atividade osteoclástica. Essa hipótese foi confirmada por Frost<sup>19</sup>, em 1961, utilizando tetraciclina em humanos e

posteriormente, por Parfitt<sup>71</sup>, em 1979, por meio de análise histomorfométrica em biópsias ósseas.

Nordin<sup>63</sup> (1964) propôs uma hipótese alternativa onde a osteoporose resultaria de um equilíbrio negativo de cálcio, devido à baixa ingestão ou dieta pobre em cálcio, aumento da excreção urinária de cálcio ou diminuição da absorção de cálcio. Tal equilíbrio negativo causaria a remoção mineral do osso para renovação da matriz, resultando em aumento da reabsorção óssea.

Em 1965, Heaney<sup>31</sup> propôs uma teoria unificando o conceito de osteoporose. Dessa forma, a osteoporose resultaria de um aumento da sensibilidade do osso ao paratormônio (PTH), o qual atuaria na manutenção da homeostase do cálcio, consumindo tecido ósseo em resposta a diversos desafios.

Em 1981, Stevenson et al.<sup>85</sup> propuseram que a diminuição dos níveis do hormônio calcitonina era resultante da diminuição de estrogênio, que provocaria um aumento da reabsorção óssea. Porém, em 1985, Tiegs et al.<sup>95</sup> observaram excreção normal desse hormônio em mulheres na menopausa.

Riggs e Melton<sup>77</sup> (1983) propuseram que a deficiência de PTH ou estrógenos pode gerar um equilíbrio negativo de cálcio, uma vez que tais hormônios são estímulos para hidroxilação da vitamina D, essencial na absorção intestinal do cálcio.

A pesquisa por novas teorias sobre a fisiopatologia da osteoporose tem prosseguido, não havendo ainda um consenso sobre a ação desses hormônios.

Um novo impulso para o entendimento da etiologia dos mecanismos da osteoporose foi verificado com a descoberta dos fatores locais produzidos pelo tecido ósseo. (MUNDY<sup>60</sup>, 1993; SUDA; MIYAURA<sup>86</sup>, 1977) Tais fatores atuam na formação e diferenciação celular, sendo os que tem atraído maior interesse:

- Fatores de crescimento CFS (*colony-stimulating factors*);
- IGF-1 (*insulin-like growth factor 1*);
- TGF- $\beta$  (*transforming growth factor beta*);
- Citocinas (*interleukin 1 e 6*);
- TNF –  $\alpha$  (*tumoral necrosis factor  $\alpha$* );
- Prostaglandinas (MUNDY<sup>60</sup>, 1993).

Erikson et al.<sup>16</sup> (1988) alertou para a descoberta de receptores de estrogênios em células osteoblásticas, supondo uma ação direta do hormônio sobre estas.

Por outro lado, Morrison et al.<sup>58</sup> (1994) ressaltou que a herança genética dos receptores da vitamina D pode exercer alguma influência na fisiopatogênese da osteoporose.

### *2.1.6. Quadro clínico ou manifestações clínicas*

A osteoporose é uma doença silenciosa, não apresentando sintomas até que ocorram as fraturas ósseas, sendo que estas e suas complicações constituem as manifestações clínicas da osteoporose.

As fraturas mais típicas (ou freqüentes) são as que envolvem o quadril (colo do fêmur), coluna vertebral e punho (fratura de Colles), porém qualquer seguimento ósseo, com exceção do crânio, pode ser acometido.

As fraturas de quadril são consideradas as manifestações de maior gravidade; 5 a 20% das vítimas deste tipo de fratura morrem um ano após o ocorrido e aproximadamente 50% dos sobreviventes tornam-se incapacitados temporária ou permanentemente.

Já a fratura de coluna vertebral gera dor significativa, deformidade, como diminuição da altura, alterações na postura e longo período de debilidade (CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON OSTEOPOROSIS <sup>12</sup>, 1993).

### *2.1.7. Diagnóstico e predição de risco*

Os métodos para o diagnóstico da osteoporose, e conseqüente cálculo de risco de futuras fraturas, têm sofrido significativo avanço. Métodos que determinam a densidade óssea são seguros, convenientes, não invasivos, rápidos e relativamente de baixo custo para exames do esqueleto axial e apendicular. Apresentam exatidão acima de 95% e o erro de precisão é menor que 1%. O baixo erro de precisão aliado à alta sensibilidade fazem com que a densitometria seja útil, tanto no diagnóstico, quanto no acompanhamento do paciente com osteoporose.

A *Single Photon Absorptiometry* (SPA) e a *Single X-Ray Absorptiometry* (SXA) são mais utilizadas para medidas de ossos do esqueleto apendicular. Já a DXA tem sido largamente utilizada para medidas no esqueleto axial, apendicular proximal e do total da massa óssea corpórea.

Segundo Abbasi-Jahromi et al.<sup>1</sup> (1996), a DXA é capaz de promover precisão e sensibilidade na detecção de alterações na densidade óssea, induzidas por ooforectomia em ratas.

PANIAGUA et al.<sup>70</sup> (1998) sugerem que a DXA possui precisão necessária à obtenção de medidas de BMD e BMC em pequenos animais. Porém, tal precisão e exatidão não foram

demonstradas por Petersen et al.<sup>75</sup> (2000) em um pequeno número de animais saudáveis.

A Tomografia Computadorizada Quantitativa (QCT) tem sido utilizada para densitometria, porém não rotineiramente devido ao limitado acesso e seu alto custo e a análise pelo ultra-som ainda carece de estudos.

Quanto ao raio-x convencional, é relativamente insensível, sendo que a perda de massa óssea torna-se aparente apenas quando diminuiu cerca de 30 a 50%. Dessa forma, uma simples radiografia é inadequada no sentido de se planejar uma intervenção terapêutica na pós-menopausa.

A utilização de biópsia óssea tem se desenvolvido devido ao melhor conhecimento da técnica. Porém, sua utilização requer avaliação dos riscos, desconfortos e da relação custo-benefício para o paciente.

Métodos que utilizam marcadores bioquímicos para estimativa do processo de reabsorção têm sido pesquisados e utilizados.

Os marcadores bioquímicos mais utilizados para detecção de formação óssea são: fosfatase alcalina total, fosfatase alcalina osteoblástica, osteocalcina (*Bone Gla-protein*) e extensões peptídicas do pró-colágeno tipo I. Já os marcadores de reabsorção óssea constituem:

hidroxiprolina dialisável e total, piridinolina e d-piridinolina, hidroxilisina e seus glicosídeos e fosfatase ácida tartrato-resistente.

Juntamente com a medida de massa óssea por meio da densitometria, o estudo de marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo permite o rápido diagnóstico de osteoporose e, conseqüentemente, uma intervenção terapêutica precoce (CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON OSTEOPOROSIS <sup>12</sup>, 1993).

### *2.1.8. Tratamento*

Além de prevenir os fatores de risco relacionados à perda de massa óssea, quando diagnosticado um quadro de osteoporose, os agentes farmacológicos descritos para tratamento são:

- Cálcio;
- Vitamina D;
- Estrógenos;
- Calcitonina;
- Bisfosfonatos;
- Fragmentos de Hormônio Paratireóideo;
- Fluoreto de Sódio;
- Esteróides                      Anabólicos                      (CONSENSUS

DEVELOPMENT CONFERENCE ON OSTEOPOROSIS <sup>12</sup>, 1993).

## 2.2. Osteoporose e perda óssea oral

No campo da Odontologia, a influência da deficiência de estrogênio no osso mandibular tem atraído atenção e os relatos sobre esse problema têm aumentado.

Alguns desses estudos relatam uma correlação positiva entre osteoporose e algumas condições mandibulares como: maior número de dentes perdidos (INAGAKI et al.<sup>36</sup>, 2001; KRIBBS<sup>49</sup>, 1990; NORDERYD et al.<sup>62</sup>), menor densidade mineral óssea na mandíbula (ELOVIC et al.<sup>15</sup>, 1995; KLEMETTI et al.<sup>45</sup>, 1993; KURODA et al.<sup>50</sup>, 2003), severa reabsorção de rebordo residual (DANIELL<sup>13</sup>, 1983; Von WOWERN; KOLLERUP<sup>97</sup>, 1992), e alterações no côndilo mandibular (OKUDA et al.<sup>66</sup>, 1996; TANAKA et al.<sup>89</sup>, 1998; TANAKA et al.<sup>91</sup>, 2000).

Para facilitar a leitura, será realizada uma revisão separada dos estudos em modelo animal e em humanos.

### 2.2.1. Estudos utilizando modelo

#### *animal*

Sones et al.<sup>84</sup> (1986) realizaram um estudo quantitativo da reabsorção óssea mandibular em trinta e quatro ratos *Sprague-Dawley* (18 machos e 16 fêmeas). Dez animais foram mortos no dia zero

(baseline), doze receberam dieta normal e o restante dos animais (12) foram alimentados por noventa dias, com uma dieta de alta concentração protéica e pobre em cálcio, na tentativa de indução de osteoporose.

Os animais receberam injeções com isótopos de tetraciclina para posterior análise da quantidade de reabsorção óssea pela técnica padrão de cintilografia.

Após noventa dias de dieta normal e osteoporótica foi realizada análise de fosfatase alcalina e, em seguida, os 24 animais foram mortos.

Os resultados demonstraram que o nível de fosfatase alcalina foi significativamente maior no grupo com dieta pobre em cálcio.

A análise cintilográfica revelou presença de porosidade na mandíbula, com significante redução na quantidade óssea do grupo experimental quando comparado ao controle (17% maior).

Devlin e Ferguson<sup>14</sup>, em 1990, avaliaram alterações no crescimento dos ossos maxilares e na formação dentinária em ratas ooforectomizadas. Foram realizados dois experimentos separados, sendo que no primeiro as ratas foram sacrificadas nos intervalos de 7, 14, 21, 28, 34, 62, 83, 84, e 117 dias pós-cirurgia. As mandíbulas foram radiografadas para obtenção de medidas de altura óssea na região mesial ao segundo molar.

No segundo experimento as ratas receberam tratamento com tetraciclina e fluoresceína, sendo sacrificadas 117 e 201 dias após ooforectomia, para análise histológica do incisivo inferior.

Não foram observadas diferenças no crescimento mandibular entre as ratas controles e ooforectomizadas. Já a deposição dentinária foi maior no grupo teste, apenas nos períodos iniciais, permanecendo semelhante nos demais tempos.

Concluindo, a influência da ooforectomia, ao longo do tempo, na mineralização dentinária não foi significativa.

Shimahara et al.<sup>83</sup> (1991), na tentativa de esclarecer a relação entre os movimentos mandibulares e a osteoporose, realizaram um estudo imobilizando a articulação têmporo-mandibular.

Cinqüenta ratas *Wistar* com 2 meses de idade foram divididas em dois grupos: Grupo 1 – 25 animais com fixação intermaxilar impedindo a movimentação e Grupo 2 – 25 animais com livre movimentação maxilar servindo como controle.

Cinco animais de cada grupo foram sacrificados 1, 2, 3, 4, e 5 semanas após a imobilização.

Na terceira semana foram observadas características histológicas evidentes de osteoporose no processo condilar e na fossa mandibular do grupo 1, como expansão da cavidade medular e redução da área trabecular com progressão adicional até a quinta semana.

Os autores concluem que a fixação intermaxilar em períodos superiores a cinco semanas pode promover alterações irreversíveis e osteoporose na articulação têmporomandibular (ATM).

HSIEH et al.<sup>34</sup> (1995) propuseram-se a avaliar a cicatrização de alvéolos dentários após ooforectomia em ratas. Foram realizados dois experimentos distintos. No primeiro foram utilizadas dezesseis ratas com trinta e cinco dias de idade distribuídas em três grupos, a saber: Grupo 1 – consistindo de seis ratas OVX e exodontia dos molares superiores direitos; Grupo 2 – cinco ratas “SHAM” e exodontia dos mesmos dentes e Grupo 3 – com cinco ratas “SHAM” sem exodontia, sendo que a cirurgia de ooforectomia e a exodontia foram realizadas simultaneamente.

Os marcadores ósseos tetraciclina e calceína foram administrados dois e sete dias, respectivamente, após exodontia e ooforectomia.

Os animais foram sacrificados dez dias após a cirurgia, e em seguida foi realizado exame histológico utilizando-se flúorcromo com marcador.

Os grupos 1 e 2 apresentaram significativa tendência linear no percentual de aposição mineral, mineralização da superfície e taxa de formação mineral, diminuindo da região palato gengival para vestibular gengival.

No grupo OVX, as medidas dinâmicas da formação óssea alveolar lamelar aumentaram na região do córtex palatal. A reabsorção óssea foi maior na região vestibular. Os autores concluíram que a ooforectomia promoveu um efeito adicional de formação óssea na superfície palatina e de reabsorção óssea na superfície vestibular.

No segundo experimento foi adicionado um grupo de oito ratas (35 dias), que sofreram ooforectomia e exodontia. Quatro ratas receberam injeção de tetraciclina e calceína, um e três dias respectivamente após a cirurgia, sendo sacrificadas no quinto dia. As quatro ratas restantes receberam tetraciclina e calceína seis e sete dias após cirurgia, sendo sacrificadas no décimo quarto dia.

A taxa de aposição mineral foi maior em cinco dias após a cirurgia do que em dez ou quatorze dias. A média da área de superfície mineralizada foi significativamente menor para ratas sacrificadas no quinto (5°) e décimo (10°) dia, do que no décimo quarto (14°) dia pós-ooforectomia.

Os autores concluíram que a ooforectomia em ratas pode acentuar o processo de reabsorção e remodelação óssea do rebordo residual após exodontia.

Elovic et al.<sup>15</sup> (1995) realizaram um estudo para determinar se a deficiência estrogênica e a idade avançada afetavam o osso mandibular. Para isso, utilizaram 41 ratas ooforectomizadas e 41

ratas “SHAM”, com 180 dias de idade, divididas em 6 grupos de acordo com o tempo previsto para a eutanásia (14, 114 ou 200 dias).

Os autores mediram a BMD, por meio da DXA, e as propriedades mecânicas, por meio de teste de força da mandíbula, concluindo que a falta de estrogênio por um longo período leva a uma diminuição da BMD e alterações das propriedades estruturais mandibulares. Esses achados indicam que a ooforectomia contribui para perda óssea oral e que a idade pode acentuar essa perda.

Com o objetivo de investigar os efeitos da ooforectomia na articulação têmporomandibular, Okuda et al.<sup>66</sup> (1996) utilizaram 50 ratas *Wistar*, com quatro semanas de idade. Os períodos experimentais foram de 1, 2, 4 e 8 semanas após a cirurgia para os grupos “SHAM” e OVX.

Foram obtidos os níveis séricos de estrógeno ( $E_2$ ), calcitonina (CT) e paratormônio (PTH-c) e avaliados por radioimunoensaio (RIA). As peças foram avaliadas por *Soft-X-Ray Photograph* e análise histomorfométrica.

Os resultados das análises séricas do grupo OVX mostraram níveis de  $E_2$  inferiores à sensibilidade do RIA; o nível de CT sofreu significativo declínio após 2 semanas da OVX e o PTH-c diminuiu na 1ª e 2ª semana, aumentando posteriormente na 4ª e 8ª semana.

A análise por *Soft-X-Ray Photograph* não revelou nenhuma alteração notável em quatro semanas após a OVX. Porém em oito semanas, em alguns animais, foi detectado um espessamento focal na região anterior do côndilo e erosão na porção posterior.

Histologicamente, em oito semanas os achados foram semelhantes, com espessamento na região anterior do côndilo e marcada diminuição óssea trabecular na região posterior.

Os dados referentes à histomorfometria revelaram significativa diminuição generalizada de volume ósseo e superfície osteóide, uma semana após a ooforectomia.

Duas semanas após OVX, houve diminuição da superfície óssea inativa (ausência de osteócitos, osteoblastos ou osteoclastos) e aumento da superfície óssea erodida.

Concluindo, a deficiência de estrógeno em ratas, no período da puberdade, predispõe a alterações têmporomandibulares por meio de mudanças nos níveis séricos de calcitonina e hormônio paratireóideo.

Gilles et al.<sup>24</sup> (1997) desenvolveram um modelo endodôntico utilizando ratas ooforectomizadas, procurando quantificar a reabsorção óssea na região periapical de molares, em um período experimental de 3 semanas.

Após realizar a abertura coronária dos primeiros molares permitindo acesso ao canal radicular, os canais distais foram instrumentados com limas, sendo que os do lado esquerdo receberam fatores de reabsorção óssea (interleucina 1 ou lipopolissacarídeo de *Campylobacter rectus*-LPS), e foram selados imediatamente após. Os canais distais contralaterais receberam veículo, servindo como controle. O processo de aplicação desses agentes foi repetido por 3 dias.

A reabsorção óssea foi avaliada por análise automática de imagens radiográficas da região do osso periapical e quantificada.

Houve um significativo aumento da reabsorção óssea periapical nos canais distais das ratas OVX controle, quando comparado às ratas “SHAM” controle.

Com a adição dos fatores de reabsorção, o grupo teste apresentou significativo aumento na reabsorção quando comparado ao controle em ambos os grupos, OVX e “SHAM”, demonstrando, dessa forma, que a deficiência de estrógeno resulta em maior perda óssea oral em ratas.

Com o intuito de investigar os efeitos da ooforectomia no côndilo mandibular e no fêmur, Yamashiro e Takano-Yamamoto<sup>107</sup> (1998) utilizaram 5 ratas OVX e 5 ratas “SHAM”, com 6 semanas de idade. Trinta e dois dias após a cirurgia os animais foram sacrificados, sendo realizada avaliação histomorfométrica.

O volume ósseo, a reabsorção óssea e formação do osso trabecular do côndilo não foram afetados pela OVX. Porém, no fêmur, a deficiência de estrógeno foi associada a um decréscimo no volume ósseo e aumento na superfície osteoblástica ativa e na superfície de osteoclastos, demonstrando haver diferenças entre fêmur e mandíbula em resposta à deficiência de estrógenos, em ratas jovens.

Moriya et al.<sup>57</sup> (1998) se propuseram a determinar se a osteoporose experimental, por meio de ooforectomia e dieta pobre em cálcio, afetava a perda óssea alveolar.

Foram utilizadas 20 ratas *Sprague-Dawley* com quatro semanas de idade, divididas em quatro grupos: Grupo A – OVX e dieta normal; Grupo B – OVX e dieta teste; Grupo C – “SHAM” e dieta normal; Grupo D – “SHAM” e dieta teste.

Após quatro semanas os animais foram sacrificados, sendo removidos a maxila, mandíbula, fêmur e tíbia.

Foram obtidas imagens radiográficas dessas peças e a densidade mineral óssea de cada osso foi medida, utilizando-se um programa comercial – Adobe Photoshop. A medida da perda óssea alveolar foi realizada morfometricamente com auxílio de um microscópio. A densidade mineral óssea da mandíbula, maxila, fêmur e tíbia do grupo C foi significativamente maior do que no grupo B e D, porém não foi diferente do grupo A.

Em relação à perda óssea ocorrida entre a junção cimento-esmalte e crista óssea, não houve diferenças estatísticas entre os grupos.

Os resultados indicaram que a osteoporose experimental utilizando-se ooforectomia e dieta osteoporótica conduz a uma redução da BMD, tanto no esqueleto quanto no osso alveolar de ratas, porém não induz à perda óssea em altura nos alvéolos.

Tanaka et al.<sup>89</sup> (1998), objetivando estudar o efeito da idade e da deficiência estrogênica no côndilo mandibular, utilizaram 72 ratas Fischer com 120 dias. Oito animais foram sacrificados no dia 0 e o restante em 7, 14, 30 e 60 dias da OVX.

DXA e *Soft-X-Ray Photograph* foram utilizadas para investigar alterações na densidade mineral óssea e na área de medula óssea.

Nenhuma diferença significativa da BMD foi encontrada entre os grupo OVX e “SHAM” com a DXA, provavelmente porque a espessura do osso cortical obscureceu qualquer mudança possível no osso trabecular.

Diferenças significantes foram encontradas, por meio da DXA, somente no grupo OVX, entre os períodos de 7 e 30 dias.

Marques<sup>53</sup> (1998), com o objetivo de avaliar as características morfológicas do osso alveolar decorrentes da

ooforectomia, utilizou 160 ratas *Wistar*, ooforectomizadas nas idades de 30, 60, 90 e 120 dias e nos tempos experimentais de 5, 10, 20, 30 e 40 dias.

As cristas ósseas mesiais, o septo ósseo interradicular e as cristas ósseas distais do primeiro molar superior foram analisadas histologicamente.

As linhas de reversão, por meio de digitalização de imagem, foram analisadas em um programa de computador denominado Sistema de Medição de Comprimento de Estruturas (SMCE).

As análises microscópicas revelaram ausência de alterações significativas nas fibras colágenas, predomínio de fibroblastos fusiformes, arredondamento do ápice da crista óssea mesial em todos os grupos, características de reabsorção e formação óssea representadas por linhas de reversão, presença de osteoclastos distantes da superfície óssea, formação osteóide e presença de espaços medulares aumentados e numerosos. As linhas de reversão apresentaram-se aumentadas nas ratas ooforectomizadas, principalmente nas idades de 60 e 120 dias e nos períodos experimentais mais longos.

As ratas com idades de 60 e 90 dias, avaliadas após 40 dias da cirurgia, apresentaram características mais evidentes de osteoporose na região maxilar posterior, levando à conclusão que a osteoporose nos maxilares, obtida por meio da ooforectomia, interfere na morfologia óssea alveolar.

Tanaka et al.<sup>90</sup> (1999) realizaram um estudo histomorfométrico avaliando alterações no osso trabecular do côndilo de ratas ooforectomizadas.

Os períodos experimentais foram de 7, 14, 30 e 60 dias após cirurgia. Tetraciclina e calceína foram administradas anteriormente ao sacrifício.

Utilizando microscópio de varredura a laser, foram analisadas duas regiões: subcondral e central.

No grupo “SHAM” o volume ósseo das duas regiões aumentou com o tempo. Na região subcondral do grupo OVX o volume ósseo diminuiu significativamente em 7 dias, porém recuperando e alcançando igual valor ao grupo “SHAM” de 14 dias.

Na região central do grupo teste o volume ósseo não se alterou, porém aos 60 dias revelou-se menor que no grupo “SHAM”.

Os autores concluíram que o côndilo mandibular de ratas OVX dinamicamente altera suas estruturas sob os efeitos da deficiência de estrógeno e da carga oclusal. Dessa forma a ooforectomia induz a uma perda óssea transitória na região subcondral ao passo que o ganho ósseo na região central foi inibido, sugerindo que a carga mecânica modula a perda de massa óssea em ratas OVX, a qual é observada em outras partes do esqueleto.

Tanaka et al.<sup>91</sup> (2000), por meio de análise histomorfométrica, estudaram as regiões anteriores e posteriores do côndilo mandibular em 72 ratas Fischer com 120 dias.

Oito ratas foram sacrificadas no dia zero e o restante foi dividido em dois grupos: "SHAM" (32) e OVX (32). Oito animais de cada grupo foram sacrificados aos 7, 14, 30 e 60 dias pós cirurgia.

Todos os animais receberam injeção de tetraciclina e calceína, 7 e 1 dia respectivamente, anterior ao sacrifício.

Ambas as regiões do côndilo apresentaram diferenças significantes na dinâmica óssea. O volume ósseo na região posterior de ratas OVX apresentou declínio, enquanto que na região anterior não foram detectadas mudanças, demonstrando que a região anterior possui uma tendência a ter mais massa óssea que a região posterior.

O grupo teste apresentou alta taxa de remodelação óssea, revelando, aos 60 dias, menor volume ósseo quando comparado ao controle. A diferença existente entre essas duas regiões pode ser atribuída ao estresse mecânico da oclusão.

O número de osteoclastos e a área de superfície desgastada no grupo teste foi maior na região posterior, principalmente nos períodos de 30 e 60 dias.

No grupo teste, a superfície mineralizada aos 14 dias e taxa de formação óssea no período de 60 dias, foram significativamente

menores na região posterior. Concluindo, a perda óssea bruta ocorrida na região posterior do côndilo mandibular de rata OVX, foi devida à especificidade da região e à deficiência de estrógeno.

Yamashiro e Takano-Yamamoto<sup>108</sup> (2001) avaliaram a influência da ooforectomia sobre a movimentação dental. Quarenta e seis ratas com 6 semanas de idade foram divididas em dois grupos: grupo teste OVX (21) e grupo "SHAM" (25). Após quatorze dias os animais foram submetidos a movimentação dental ortodôntica, por 18 dias, sendo sacrificados no décimo oitavo dia.

Para análise da movimentação dental foram utilizados modelos de gesso obtidos anterior, durante e posteriormente à movimentação.

Os resultados demonstraram que a movimentação dental no grupo teste foi mais rápida, quando comparada ao grupo controle.

Em relação aos parâmetros histomorfométricos foram observadas, 32 dias pós-ooforectomia, reabsorção e formação óssea alveolar aumentadas, sugerindo que a condição de osteoporose sistêmica interfere na velocidade de movimentação dental.

Patullo<sup>72</sup> (2001) comparou a alteração da densidade mineral óssea (BMD) provocada pela deficiência de estrogênio em três regiões distintas do esqueleto de ratas ooforectomizadas.

Foram utilizadas 24 ratas *Wistar*, com 4 meses de idade, sendo os animais divididos em 2 grupos: Grupo OVX (1) e Grupo “SHAM” (2), por um período experimental de 9 semanas.

A mandíbula, o fêmur e a coluna lombar foram analisados por meio de densitometria óssea, sendo que para cada hemimandíbula foram avaliadas três áreas: côndilo, corpo e região anterior da mandíbula.

A análise do fêmur apresentou menor densidade mineral óssea no grupo OVX, porém estatisticamente insignificante. Já a coluna lombar demonstrou expressiva redução da BMD. Na região da mandíbula não foram observadas alterações nos valores da BMD, segundo o autor provavelmente devido à carga mastigatória.

Com o propósito de observar as alterações no osso alveolar da mandíbula por meio da análise histomorfométrica, histológica e da estrutura microtrabecular, Tanaka et al.<sup>92</sup>(2002) utilizaram 24 ratas Fischer com 120 dias de idade.

No dia zero (baseline) oito ratas foram mortas e as restantes (16) foram divididas em dois grupos, OVX (8) e “SHAM” (8). Após 60 dias da cirurgia, os animais foram sacrificados e as mandíbulas do lado esquerdo removidas. Um e sete dias anteriormente ao sacrifício, os animais receberam calceína e tetraciclina, sendo que as áreas de interesse foram as regiões do septo interradicular do primeiro molar e a área distal a este dente.

O grupo OVX apresentou menor volume ósseo e menor número de trabéculas em relação ao baseline e ao grupo “SHAM”.

O espaço de separação entre as trabéculas foi significativamente maior no grupo OVX.

A região distal, no OVX, apresentou-se pronunciadamente mais delgada em relação aos demais grupos.

Expressivo aumento da atividade de formação e reabsorção foi observado no OVX, sendo que a análise histológica demonstrou expansão da medula óssea e maior espaço medular no septo interradicular do grupo OVX.

Os autores concluíram que a deficiência estrogênica causou alterações ósseas no septo interradicular das ratas, alertando para a necessidade de futuros estudos utilizando-se ratas ooforectomizadas envolvendo a doença periodontal.

DXA e pQCT (Peripheral Quantitative Computed Tomography) foram utilizadas, simultaneamente, por Kuroda et al.<sup>50</sup> (2003) para determinação da BMD mandibular em ratas ooforectomizadas.

Foram utilizadas 12 ratas Sprague-dawley, de 13 semanas de idade, sendo que seis animais foram ooforectomizadas e o restante recebeu cirurgia “SHAM”.

Os animais foram sacrificados 109 dias após a cirurgia, removendo-se mandíbula e fêmur. A borda incisal e a região condilar da mandíbula foram medidas.

As imagens dos fêmures do grupo teste apresentaram maior radiolucidez em relação ao controle, enquanto que as imagens das mandíbulas foram similares.

Na análise pela DXA, a BMD total mandibular das ratas OVX foi similar ao grupo “SHAM”; entretanto, na região condilar houve um decréscimo de 14% na BMD das ratas OVX.

Quando a mandíbula foi analisada por pQCT, foi verificado um decréscimo na BMD na região de molares do grupo teste.

A densidade mineral do dente incisivo não foi afetada pela ooforectomia.

Tais resultados mostram a superioridade da técnica pQCT na detecção de pequenas alterações na perda óssea mandibular de ratas ooforectomizadas.

### *2.2.2. Estudos em humanos*

Daniell<sup>13</sup> (1983) avaliou em 208 mulheres (60 a 69 anos), osteoporóticas e saudáveis, áreas corticais do metacarpo, comparando-as à idade em que a amostra foi submetida à instalação de prótese total, em pelo menos um dos arcos.

Os resultados demonstraram que 52% de fumantes, 26% de não fumantes e somente 8% de pacientes não fumantes e sem osteoporose necessitaram de prótese desde a idade de 50 anos.

As mulheres com diagnóstico de osteoporose apresentaram área cortical do metacarpo muito fina, com correlação positiva à maior probabilidade de perda dental em relação ao grupo controle, sugerindo que as mulheres da meia idade podem reter seus dentes por um maior período, evitando o tabagismo e participando de um programa efetivo de prevenção de osteoporose.

Kribbs et al.<sup>46</sup> (1983), em estudo duplo cego controlado, propuseram-se a determinar o relacionamento entre redução de massa óssea esquelética e achados dentais em 30 mulheres com diagnóstico de osteoporose no período da pós-menopausa.

A cavidade bucal foi avaliada em relação à perda em altura no rebordo mandibular, densidade óssea mandibular, perda óssea periodontal e perda dental.

Não foram detectadas correlações expressivas entre profundidade de sondagem, índice de sangramento e percentual de raízes residuais em relação à densidade mandibular e ao total de cálcio corporal.

O estudo demonstrou que a osteopenia sistêmica produziu alterações na cavidade bucal, sendo que a densidade óssea

mandibular e a altura do rebordo residual apresentaram significativa correlação com o total de cálcio corporal.

Kribbs et al.<sup>47</sup> (1989) pesquisaram o relacionamento entre a massa óssea do esqueleto e da mandíbula, em 85 mulheres na pós-menopausa com diagnóstico de osteoporose.

Foram realizadas análises do cálcio total corporal, massa óssea da região do rádio e densidade vertebral, correlacionando-as com a massa óssea mandibular.

Foram verificadas correlações entre a altura do rebordo alveolar de pacientes edêntulos e as medidas de cálcio total corporal e massa mandibular.

Em 1990, Kribbs et al.<sup>48</sup> avaliaram 50 mulheres saudáveis, com idade entre 20 e 90 anos, com o objetivo de observar as mudanças relacionadas à idade no osso mandibular.

A densidade óssea da mandíbula (região dos dentes posteriores nos pacientes dentados e região posterior ao forâmen mental nos desdentados), coluna vertebral e rádio foram avaliadas.

Os autores constataram uma correlação positiva entre a massa óssea mandibular e os demais ossos analisados.

Além disso, os resultados demonstraram que a massa óssea mandibular não foi afetada pela idade, porém estava significativamente relacionada à massa óssea esquelética.

Kribbs et al.<sup>49</sup> (1990), com o objetivo de determinar quais variáveis bucais melhor distinguem uma população osteoporótica de uma população normal, compararam 85 mulheres com osteoporose com 27 mulheres saudáveis, em idade variando entre 50 e 85 anos.

O exame periodontal, representado por avaliação da profundidade de sondagem, nível gengival e percentual de bolsas com sangramento à sondagem, não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

Entretanto, o grupo com osteoporose apresentou maior taxa de indivíduos edêntulos, sendo que em indivíduos dentados foi verificado maior número de dentes ausentes, menor massa óssea e densidade mandibular, além de cortical óssea mais fina na região do gônio mandibular.

von Wowern e Kollerup<sup>98</sup> (1992) avaliaram 28 mulheres edêntulas, sendo 12 osteoporóticas e 16 saudáveis, com o objetivo de verificar se mulheres com osteoporose apresentavam menor BMC na mandíbula e maior risco de desenvolver reabsorção severa do rebordo residual.

Os resultados demonstraram menor conteúdo mineral no osso mandibular de mulheres osteoporóticas em comparação ao grupo controle.

Os autores observaram ainda que mulheres edêntulas com osteoporose apresentavam maior grau de atrofia maxilar em relação

às mulheres saudáveis, porém tal resultado não se mostrou significativo quando avaliada a atrofia mandibular.

Klemetti et al.<sup>45</sup> (1993) relacionaram a densidade mineral óssea (BMD) do osso trabecular da mandíbula com a presença de osteoporose sistêmica em mulheres no período da pós-menopausa.

A BMD mandibular, determinada por tomografia quantitativa computadorizada em 74 mulheres com edentulismo total ou parcial, e a altura do rebordo residual foram comparadas à densidade óssea da coluna lombar e da cabeça do fêmur.

Não houve correlação entre a BMD mandibular e a altura do rebordo residual, BMD do fêmur e da coluna, sendo que estas duas últimas correlacionaram-se positivamente entre si.

Os autores concluíram que alterações na altura do rebordo remanescente e na BMD mandibular, em mulheres saudáveis e com osteoporose, diminuem com o tempo de edentulismo.

Norderyd et al.<sup>62</sup> (1993) compararam mulheres na pós-menopausa, sendo 57 com suplementação de estrógeno e 171 com deficiência estrogênica, objetivando determinar a associação entre a suplementação hormonal e o estado periodontal e gengival.

Os parâmetros clínicos avaliados foram: presença de placa supragengival, sangramento gengival, cálculo subgengival, profundidade de sondagem, nível de inserção, altura óssea alveolar e número de dentes remanescentes.

Foi observado que o grupo com suplementação hormonal apresentou menor sangramento gengival após ajuste para os demais fatores.

Hirai et al.<sup>32</sup> (1993) investigaram o relacionamento entre a altura do rebordo residual mandibular, o grau de severidade da osteoporose e os níveis séricos de cálcio, fósforo inorgânico, hormônio paratireóideo e calcitonina, em 44 indivíduos idosos edêntulos.

Os autores verificaram menor rebordo residual no sexo feminino, além de significativa correlação entre altura do rebordo residual com os variáveis graus de severidade de osteoporose e idade. Concluindo, neste estudo a osteoporose demonstrou forte associação com a redução do rebordo residual em pacientes edêntulos.

Com o propósito de estudar o relacionamento entre osteoporose e doença periodontal, von Worwern et al.<sup>99</sup> (1994) avaliaram 26 mulheres adultas, sendo 12 osteoporóticas e 14 saudáveis.

Os exames realizados consistiram em índice de placa, sangramento gengival, perda de inserção, BMC da mandíbula, (região dos dentes molares) e do antebraço.

O grupo de mulheres com osteoporose apresentou BMC médio significativamente menor, tanto na região mandibular quanto na região do antebraço.

Não foram observadas diferenças expressivas entre os grupos em relação ao índice de placa e sangramento gengival, porém a perda de inserção foi significativamente maior no grupo osteoporótico.

Taguchi et al.<sup>87</sup> (1995) pesquisaram o relacionamento entre massa óssea mandibular e o número de dentes presentes em 269 indivíduos.

A avaliação foi realizada por meio de medidas da largura da cortical mandibular em radiografias panorâmicas.

A análise dos resultados sugere uma correlação entre a largura da cortical mandibular e perda dentária, em mulheres com idade média de 60 anos, sendo que o sexo masculino não apresentou tal correlação.

Em estudo longitudinal de 5 anos, Jacobs et al.<sup>37</sup> (1996) avaliaram a BMD na coluna lombar e mandíbula de 69 mulheres na menopausa, em terapia de reposição hormonal com estrógeno.

A BMD da coluna lombar foi analisada por absorção dual de fótons enquanto a massa óssea mandibular, da região entre pré-molar e molar, foi detectada por medidas quantitativas de radiografias intrabucais.

Os autores observaram correlação significativa entre a massa óssea das duas regiões e um efeito positivo da terapia de reposição hormonal sobre a BMD das áreas avaliadas, concluindo que o

nível de estrógeno pode estar diretamente relacionado à massa óssea mandibular.

Horner et al.<sup>33</sup> (1996) investigaram o relacionamento entre BMD mandibular e da coluna lombar, da cabeça do fêmur e do antebraço, na tentativa de estimar a validade da densidade mineral mandibular na detecção de osteoporose sistêmica, em 40 mulheres edêntulas.

A avaliação da densidade óssea foi realizada por DXA.

Significantes correlações entre a BMD do corpo, ramo e sínfise mandibular com outros sítios do esqueleto foram observadas, levando em conta que a medida da BMD mandibular, por DXA, tem aplicação clínica potencial na detecção de risco para osteoporose.

Em estudo longitudinal de um ano, Payne et al.<sup>73</sup> (1997) investigaram a relação entre o nível de estrógeno e a densidade óssea alveolar.

Foram recrutadas 24 mulheres na pós-menopausa, sendo que 14 destas apresentavam deficiência estrogênica detectada por exames séricos de estrógeno.

As imagens das radiografias intrabucais interproximais foram analisadas por computador pelo sistema CADIA (*Computer-assisted densitometric image analysis*).

Os autores detectaram maior taxa de perda de densidade nas pacientes com deficiência estrogênica, sugerindo que esta pode influenciar nas alterações da densidade óssea alveolar.

Yamanda et al.<sup>106</sup> (1997), com o objetivo de detectar alterações ósseas relacionadas à idade, correlacionaram a BMD do côndilo mandibular com a BMD da coluna, por meio da tomografia quantitativa computadorizada.

Foram realizados dois estudos separados. No primeiro estudo foram avaliados 210 pacientes saudáveis, com idade de 5 a 85 anos. Já no segundo estudo participaram 73 jovens estudantes com idade entre 23 a 25 anos.

Os resultados do primeiro estudo revelaram uma redução da BMD condilar em homens, semelhante à BMD da coluna, porém o sexo feminino apresentou taxa de redução menor.

O coeficiente de correlação entre mandíbula e coluna foi similar em ambos os sexos.

Em relação ao segundo estudo, a BMD do côndilo apresentou alta correlação com a BMD da coluna nas mulheres, enquanto que os homens não apresentaram esse resultado.

Os autores sugerem a presença de diferenças que envolvam determinação de densidade óssea em relação ao gênero em pesquisas.

Alertam, também, para uma possível atuação do fator oclusal, mantendo a BMD mandibular e a existência de algum mecanismo hormonal envolvido na manutenção da BMD da mandibular e da coluna.

Grossi et al.<sup>29</sup> (1998) estudaram o relacionamento entre osteopenia no esqueleto e a doença periodontal, utilizando dados do NHANES III (Banco de dados epidemiológicos).

Foram obtidas as medidas de BMD do fêmur e a perda de inserção periodontal.

Com ajuste para idade, gênero, tabagismo e sangramento gengival, os autores concluíram que a osteopenia esquelética constitui um significativo fator de risco para a doença periodontal, principalmente em mulheres no período da pós-menopausa.

Lundstrom et al.<sup>52</sup> (2001) examinaram as condições periodontais em mulheres com idade de 70 anos.

Dezenove mulheres com diagnóstico de osteoporose e 21 saudáveis foram selecionadas de uma população de Linköping, na Suécia, de forma randomizada.

Anamnese, exame clínico periodontal (registro de dentes presentes, presença de placa visível, profundidade de sondagem, envolvimento de furca, mobilidade dental, sangramento gengival e nível gengival) e exame radiográfico (radiografias panorâmicas e intrabucais interproximais) foram realizados. Os autores não encontraram diferenças estatisticamente significantes entre as condições periodontais e nível ósseo marginal nos dois grupos, alertando que os dados devem ser interpretados criteriosamente devido ao pequeno tamanho da amostra estudada.

Inagaki et al.<sup>36</sup> (2001) investigaram a associação entre a medida da BMD no metacarpo, com a doença periodontal e a perda dental.

O estudo avaliou 190 mulheres japonesas, das quais 89 mulheres na pré-menopausa e 101 na pós-menopausa.

Os exames consistiram de anamnese, densitometria no metacarpo e exame oral pelo índice CPITN.

O número de dentes presentes foi significativamente menor e a proporção de indivíduos com periodontite (CPITN = 3) foi maior no grupo pós-menopausa, com menor BMD no metacarpo. Os resultados demonstraram associação entre menor BMD no metacarpo e as variáveis da doença periodontal e perda dental, em mulheres japonesas na pós-menopausa.

### *2.3. Modelo animal de osteoporose: ratos*

Um animal representativo de perda óssea pós-menopausa pode ser definido como um animal vivo em que a perda óssea, espontânea ou induzida, devido à deficiência do hormônio ovariano, pode ser pesquisada e no qual as características de perda óssea e suas seqüelas se assemelham àquelas observadas em mulheres na pós-menopausa (KALU<sup>41</sup>, 1991; FROST; JEEW<sup>20</sup>, 1992).

A análise da osteoporose com o emprego de ratos tem sido considerado um bom modelo de estudo (FROST; JEEW<sup>20</sup>, 1992).

A ooforectomia, remoção dos ovários, tem sido o método mais utilizado para obtenção de perda óssea (FROST; JEEW<sup>20</sup>, 1992; GNUDI et al.<sup>25</sup>, 1993; THORNDIKE; TURNER<sup>94</sup>, 1998), simulando a deficiência de hormônios ovarianos, característica de mulheres no período da menopausa.

A utilização de ratos possibilita uma avaliação completa do tecido ósseo (arquitetura, força e massa óssea), apresentando como vantagem: baixo custo, padronização, curto período de observação e fácil manutenção. Além disso, os ratos são animais geneticamente bem definidos, assemelhando-se ao ser humano em vários aspectos, como a presença de osso cortical e trabecular e alterações ósseas similares às

observadas na menopausa, envelhecimento ou decorrentes da ooforectomia (WRONSKI et al.<sup>104</sup>, 1989).

As principais características compartilhadas por ratas ooforectomizadas e mulheres no período pós-menopausa podem ser descritas como: taxa aumentada de remodelação óssea, com a reabsorção excedendo a formação; perda óssea inicial rápida seguida por uma fase lenta; maior perda de osso trabecular em relação ao cortical; menor absorção intestinal de cálcio e possível proteção da obesidade contra a perda óssea (KALU<sup>41</sup>, 1991).

Os efeitos deletérios da menopausa sobre o tecido ósseo geralmente estão associados à perda de massa óssea decorrente do processo de envelhecimento. Dessa forma, o rato, como modelo de estudo, revela-se interessante por produzir com a idade, quantidade significativa de estrogênio, permanecendo com o equilíbrio ósseo por grande parte de sua meia-vida, apresentando perda de massa óssea somente no estado senil. Conseqüentemente, a rata adulta ooforectomizada pode ser utilizada na pesquisa de fatores etiológicos envolvidos na patogênese da osteopenia, decorrente especificamente da deficiência ovariana, desvinculada de outros fatores (GASS; KAPLAN<sup>22</sup>, 1987).

A similaridade das funções sexuais do rato com humanos revela-se estreita. As interações e controles hormonais, bem como os efeitos na deficiência mostram-se equivalentes, propiciando um modelo

seguro para extrapolações a partir da ooforectomia (GASS; KAPLAN<sup>22</sup>, 1987).

Wronsky<sup>102,103,104,105</sup> observou em seus trabalhos similaridades qualitativas quanto aos efeitos da deficiência de estrogênio e do tratamento hormonal em ratas e humanos, sugerindo que o modelo animal da ooforectomia, utilizando-se o rato, é útil para avaliações iniciais de protocolos terapêuticos, com enfoque para a minimização da perda óssea em pacientes com deficiência de estrogênio.

Embora a ooforectomia promova perda óssea em ratas, a deficiência do hormônio ovariano não resulta em fratura, como ocorre nas mulheres. Conseqüentemente, o termo osteopenia é mais apropriado para definir a perda de massa óssea induzida pela ooforectomia em ratas (KALU<sup>41</sup>,1991).

Existem, porém, algumas diferenças em relação aos seres humanos que devem ser observadas: curta sobrevida, pequeno porte e volume sanguíneo, alto metabolismo basal, ritmo de vida noturno e ciclos menstruais de doze horas a cada cinco dias.

Aos três meses de idade os ratos já alcançam sua maturidade, sendo capazes de responder à deficiência hormonal sexual provocada pela ooforectomia. Embora com essa idade exista pequeno crescimento ósseo, a faixa etária ainda é vantajosa em relação aos animais com crescimento ósseo até um ano de idade, pela facilidade de manutenção, já que as alterações ósseas são observadas mais

rapidamente a partir de quatro semanas da ooforectomia (OMI; EZAWA<sup>68</sup>, 1995). Nessa idade observa-se também que o grau de remodelação óssea assemelha-se àquele de humanos adultos (BARON et al.<sup>6</sup>, 1984).

Estudos realizados em ratas em crescimento e idosas demonstram que ratas jovens perdem osso mais rapidamente do que as mais velhas, indicando que ratas em crescimento (até 5 meses) são mais responsivas à ooforectomia (THOMPSON et al.<sup>93</sup>, 1995).

Quanto à terapia, ratos e humanos respondem de forma semelhante às influências mecânicas, à terapia com estrogênio, bisfosfonatos, hormônio paratireóideo e calcitonina, entre outros, sendo o rato um modelo conveniente para avaliação de agentes terapêuticos na prevenção da osteoporose (FROST; JEEW<sup>20</sup>, 1992; KALU<sup>41</sup>, 1991; THOMPSON et al.<sup>93</sup>, 1995).

Quanto às influências mecânicas foi verificado que a ooforectomia é acompanhada por um incremento no ganho de peso corporal, que tende a proteger ou atenuar a perda de osso trabecular, provavelmente devido ao aumento da carga mecânica sobre o esqueleto (MILLER et al.<sup>54</sup>, 1995; WRONSKY et al.<sup>101</sup>, 1987).

## *2.4. Modelo animal de indução de doença periodontal*

As pesquisas para compreensão da doença periodontal em humanos são muito difíceis de serem realizadas, uma vez que é

extremamente difícil avaliar a doença em sua fase ativa. Já no modelo animal, há a possibilidade de se realizar um estudo prospectivo.

Os primatas são considerados o melhor modelo animal para pesquisa devido ao íntimo relacionamento com o homem, porém as dificuldades de manipulação e os altos custos financeiros têm reduzido os estudos com esses animais (KLAUSEN<sup>44</sup>, 1991).

O rato (*Rattus norvegicus*) constitui o animal mais freqüentemente utilizado em estudos de periodontite experimental devido à facilidade de manipulação e custo mais barato (KLAUSEN<sup>44</sup>, 1991). A normalidade da estrutura oral, fisiologia e patogenia da doença periodontal têm sido estudadas extensivamente em ratos comparativamente a qualquer outro roedor (PAGE; SCHROEDER<sup>69</sup>, 1982)

De acordo com Page e Schroeder<sup>69</sup> (1982) o rato possui uma dentição típica de roedores: um incisivo e três molares em cada quadrante. Os incisivos, por apresentarem contínuo crescimento, são desfavoráveis como modelo de doença periodontal. Os molares completam sua erupção entre o 15º e 40º dia de vida e, com a idade e atrição das superfícies oclusais, sofrem uma erupção passiva e migração para distal. Paralelamente a essa migração ocorre uma contínua remodelação do osso, permitindo que a distância entre a junção cimento-esmalte e a crista óssea permaneça constante nas superfícies vestibulares dos ratos livres de doença periodontal, sendo que as

superfícies linguais ou palatinas, com a idade, podem apresentar um aumento fisiológico dessa distância (KLAUSEN<sup>44</sup>, 1991).

Esses animais possuem uma semelhança muito grande com o homem no que diz respeito à anatomia periodontal dos molares, desenvolvimento e composição da placa dental, e histopatologia das lesões periodontais, sendo a única diferença a presença de epitélio sulcular queratinizado. Tal diferença poderia interferir com a migração de toxinas bacterianas para o interior do tecido conjuntivo e, dessa forma, impedir o início de uma resposta inflamatória (PAGE; SCHROEDER<sup>69</sup>, 1982). Porém, estudos de Romanowski et al.<sup>78</sup> (1988) e Takata et al.<sup>88</sup> (1988) demonstraram que, ao inserir material no sulco gengival de ratos, a penetração no tecido conjuntivo ocorreu por meio do epitélio juncional, evidenciando que a função de barreira (protetora) da gengiva é semelhante em ratos e humanos.

Ligaduras de fio de nylon, seda ou algodão, posicionadas ao redor da cervical de um molar, têm sido utilizadas para indução de doença periodontal em animais, tendo sido verificada reabsorção da crista óssea alveolar por diversos autores (ROVIN et al.<sup>79</sup> 1966; CARRANZA et al.<sup>9</sup>, 1969; CARRANZA et al.<sup>10</sup>, 1971.)

Johnson<sup>38</sup>, em 1975, utilizando, em ratos, ligaduras ao redor de primeiros molares inferiores para indução de doença periodontal, verificou, após 17 dias um achatamento e deslocamento da margem gengival, acúmulo de placa bacteriana, migração do epitélio juncional,

aumento da proliferação de infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo subjacente, e reabsorção da crista óssea alveolar na região mesial, embora sem mudanças significativas após 27 dias de indução.

Sallay et al.<sup>80</sup> (1982), após 9 a 14 dias da instalação da ligadura, observaram histologicamente destruição óssea alveolar horizontal e seqüestro ósseo, além de leucocitose na corrente sanguínea periférica.

Sinais clínicos de inflamação gengival, ao redor de primeiros molares inferiores de ratos, foram observados por Nociti Jr et al.<sup>61</sup> (2000), trinta dias após a colocação de ligaduras de algodão. Entretanto, histometricamente, os autores não detectaram diferenças significativas em relação à perda óssea encontrada na região de furca de dentes com ligadura, em relação a dentes sem irritante.

Por meio de análise macroscópica com lupa, Bezerra et al.<sup>8</sup> (2000), após remoção do tecido mole, detectaram perda óssea alveolar significativa após quatro dias de colocação da ligadura. Histologicamente foi observada reabsorção óssea severa, associada a infiltrado inflamatório e aumento de osteoclastos.

Existem muitos questionamentos a respeito da função da ligadura no modelo de doença periodontal experimental, uma vez que sua utilização leva invariavelmente a uma injúria traumática e, secundariamente, age como fator retentivo de placa bacteriana (NYMAN et al.<sup>65</sup>, 1979).

Entretanto, o uso de ligadura de seda em primeiros molares inferiores de ratos “*germfree*” não apresentaram evidência de sinais inflamatórios, exceto transmigração de leucócitos polimorfonucleares, sendo tal fenômeno similar ao ocorrido em animais “*germfree*” controle (ROVIN et al.<sup>79</sup>, 1966).

Na tentativa de demonstrar o caráter infeccioso da periodontite experimental, Sallay et al.<sup>80</sup>, em 1982, avaliaram a destruição periodontal em segundos molares superiores com ligadura, administrando antibióticos, previamente à colocação do irritante, seguidos de aplicação diária de clorexidina. Os autores observaram como resultado uma inibição de perda óssea alveolar, comprovando que essa forma de indução não ocorre primariamente pela injúria traumática.

Dessa forma, pode-se inferir que a doença periodontal induzida por ligadura em ratos assemelha-se à observada em humanos, de caráter infeccioso, sendo a destruição do tecido periodontal em ratos e humanos decorrente das respostas do hospedeiro à presença de bactérias periodontopatogênicas (PAGE; SCHROEDER<sup>69</sup>, 1982).

*Proposição*

### *3. Proposição*

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da ooforectomia sobre a densidade óssea do fêmur e da mandíbula e a influência da perda de massa óssea sobre a doença periodontal induzida em ratas.

## *Material e Método*

## *4. Material e método*

### *4.1. Animais*

Foram utilizadas 48 ratas (*Rattus norvegicus albinus*, *Holtzman*), com peso corporal variando de 240 a 270 gramas e idade de 90 dias, provenientes do biotério central da UNESP, Câmpus de Araraquara.

Inicialmente os animais foram aleatoriamente divididos e mantidos em gaiolas de propileno, sendo alimentados com ração sólida e água ad libitum.

A temperatura foi controlada a 25°C e a umidade em 55%, sendo o tempo de exposição ao claro de 12 horas e 30 minutos e, ao escuro, de 11 horas e 30 minutos.

Esta pesquisa foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética em Animal da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP.

Os animais foram distribuídos em grupos, como o indicado no quadro 1 a seguir:

Quadro 1 - Distribuição dos grupos.

|                     |                |                 |                       |                   |
|---------------------|----------------|-----------------|-----------------------|-------------------|
| <b>48<br/>Ratas</b> | <b>Grupo 0</b> | <b>CONTROLE</b> |                       | <b>09 Animais</b> |
|                     | <b>Grupo 1</b> | “SHAM”          | Sem indução de doença | 11 Animais        |
|                     | <b>Grupo 2</b> |                 | Com indução de doença | 10 Animais        |
|                     | <b>Grupo 3</b> | OVX             | Sem indução de doença | 09 Animais        |
|                     | <b>Grupo 4</b> |                 | Com indução de doença | 09 Animais        |

Os animais foram pesados inicialmente e duas vezes por semana, sendo o peso anotado em planilha a qual foi utilizada para acompanhamento do crescimento e desenvolvimento do animal.

## *4.2. Procedimento Cirúrgico*

### *4.2.1. Anestesia*

Os animais foram anestesiados, via intramuscular, empregando-se Cloridrato de Ketamina \* 0,08ml/100g de massa corpórea e Cloridrato de Xylazina † 2%: 0,04ml/100g massa corpórea.

### *4.2.2. Cirurgia de Ooforectomia (OVX)*

Após anestesia, os animais receberam uma dose de analgésico Carprofen‡, via intramuscular, na dosagem de 5mg/kg. Em seguida, foram submetidos à tricotomia das regiões laterais ao dorso e antissepsia local com álcool iodado. Posteriormente, foram realizadas incisões cutâneas bilaterais, divulsionados os tecidos e excisados os

---

\* Francotar – Virbac -Brasil

† Virbaxyl – Virbac -Brasil

‡ Rimadyl – Pfizer- Brasil

ovários (Figura 1 e 2), sendo então realizadas as suturas com fio reabsorvível 4-0<sup>§</sup>, internamente, e fio de seda 4-0<sup>§</sup>, na pele, ambos estéreis (Figura 3).

### 4.2.3. Cirurgia Simulada (“SHAM”)

Quanto aos grupos “SHAM” (cirurgia simulada), procedimentos semelhantes foram realizados, sendo, no entanto expostos os ovários e recolocados na posição original, com o objetivo de simular o estresse cirúrgico, sendo então realizado o procedimento de sutura.

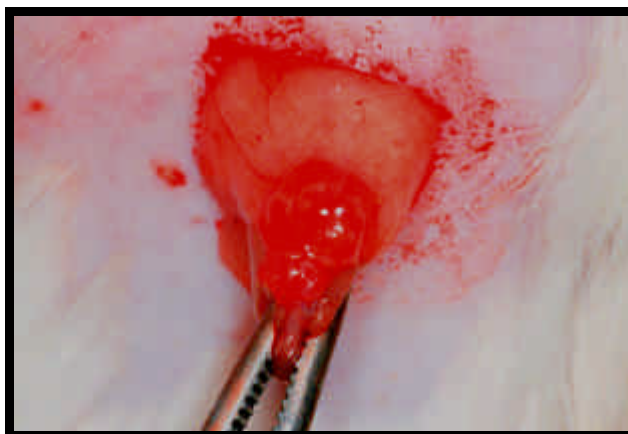


Figura 1 - Acesso aos ovários para ooforectomia.



Figura 2 - Ovário removido.



Figura 3 - Sutura

---

<sup>§</sup> Ethicon, Atralog Johnson&Johnson - Brasil

Após os atos cirúrgicos todos os animais receberam aplicação única de 1ml/Kg de antibiótico\*\* para animais de pequeno porte. Após 12 horas da primeira aplicação pré-cirúrgica, o analgésico foi reaplicado na mesma dosagem.

### *4.3. Procedimento de indução de doença periodontal*

Para os animais pertencentes aos grupos 2 e 4, após um período de 120 dias, foram colocadas ligaduras de fio de algodão nos primeiros molares inferiores do lado direito, para indução de doença periodontal.

Quando esse procedimento, por qualquer razão, não pôde ser realizado no lado direito, o primeiro molar inferior do lado esquerdo recebeu a ligadura.

Para colocação das ligaduras, após a anestesia, os animais foram posicionados em mesa operatória apropriada, (Figura 4) a qual permite abertura bucal dos ratos, facilitando o acesso aos dentes posteriores inferiores do animal. Com auxílio de uma pinça modificada e de uma sonda exploradora (Figura 5), foi colocado um fio de algodão número 24<sup>††</sup> (Figura 6 e 7). A ligadura atuou como irritante gengival, favorecendo o acúmulo de placa bacteriana, permanecendo por um período de 30 dias.

---

\*\* Pentabiótico – Fort Dodge - Brasil

†† Marca Corrente

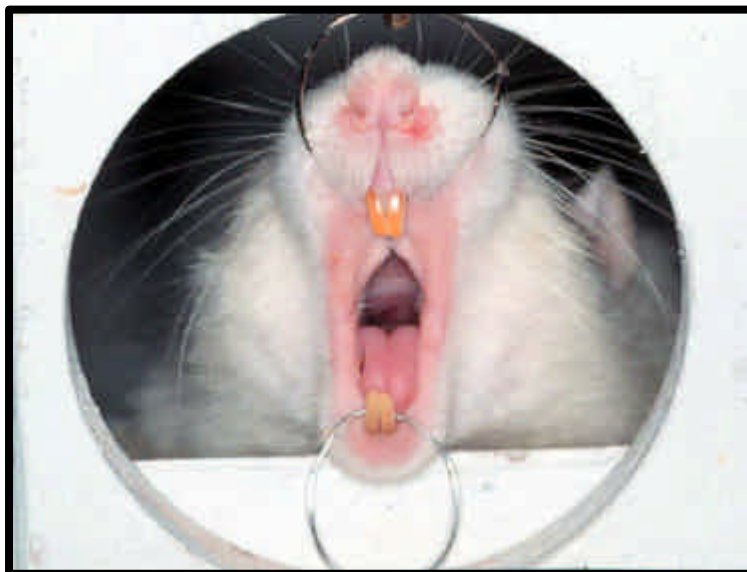


Figura 4 – Rato anestesiado e posicionado na mesa operatória com a abertura da cavidade bucal.



Figura 5 – Sonda exploradoras n.5, provocando afastamento temporário entre o primeiro e segundo molar inferior para a colocação da ligadura na região do sulco gengival.

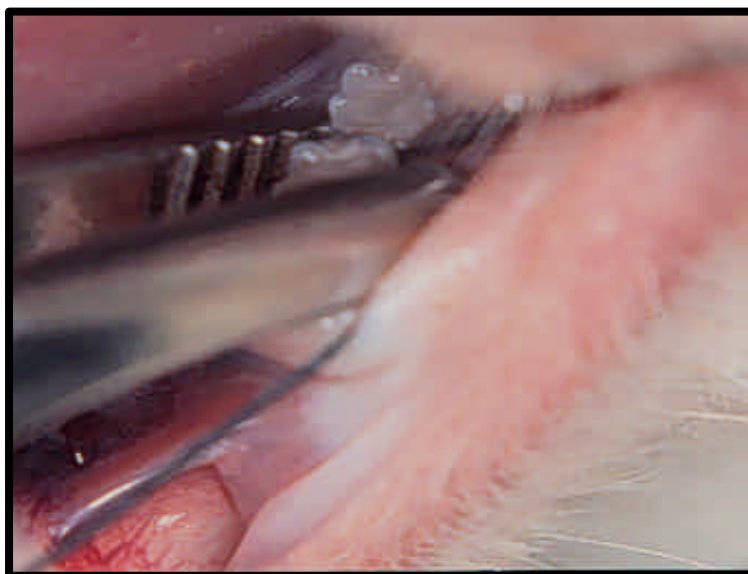


Figura 6 - Colocação da ligadura com o auxílio de uma pinça clínica adaptada, na região distal do primeiro molar inferior do rato.



Figura 7 - Ligadura posicionada na região de sulco para indução da doença periodontal.

#### *4.4. Sacrifício dos animais*

Os animais do grupo controle foram sacrificados no dia 0 do experimento para que fosse obtido um padrão de comparação das alterações observadas ao final do período.

Finalizado o período de 5 meses, os animais foram mortos com injeção intraperitoneal de Hidrato de Cloral a 20%, sendo então removidos a mandíbula, o fêmur, a tíbia e o útero. Os espécimes foram colocados em frascos codificados contendo formol tamponado. Após 48 horas foram realizados exames radiográficos, sendo posteriormente enviadas as peças ao laboratório para tramitação de rotina.

Os úteros foram removidos para constatação da efetividade da OVX. Sendo que os animais do grupo OVX apresentaram os úteros atróficos e anêmicos enquanto que os do grupo “SHAM” apresentaram-se róseos e volumosos. A tíbia será utilizada em estudos posteriores.

## 4.5. Avaliação Radiográfica e Densitométrica

### 4.5.1. Densitometria Óssea por DXA

Para densitometria óssea por *Dual Energy X-Ray Absorptiometry* (DXA) foi utilizado o densitômetro QDR 2000 Hologic, empregando-se o software “*Small animal*”, fornecido pelo próprio fabricante do aparelho, no modo *High Resolution*. A técnica foi padronizada, sendo a mandíbula posicionada com a porção lingual para cima e o fêmur com a porção proximal, tendo-se o cuidado de colocar as peças sempre na mesma posição.

Os ossos foram colocados em um recipiente com soro fisiológico para substituição do tecido mole removido.

Para calibração do aparelho, foi realizado um teste, que consistiu em medir um bloco padrão composto por três câmaras sintéticas, de constituição semelhante ao osso, com área e conteúdo mineral conhecidos.

A delimitação das regiões analisadas foi realizada por dispositivos existentes no programa do aparelho, selecionando sempre o mesmo espaço a fim de padronizar as medidas de todas as sub-regiões.

Foram efetuadas medidas de BMD global e de sub-regiões (R1, R2, R3), assim determinadas:

? Hemimandíbula (Figura 8):

Global

R1) Região do côndilo mandibular.

R2) Margem inferior do corpo mandibular (excluindo a região relativa aos dentes).

R3) Região incisal da mandíbula (área mesial ao primeiro molar, excluindo a região relativa ao incisivo).

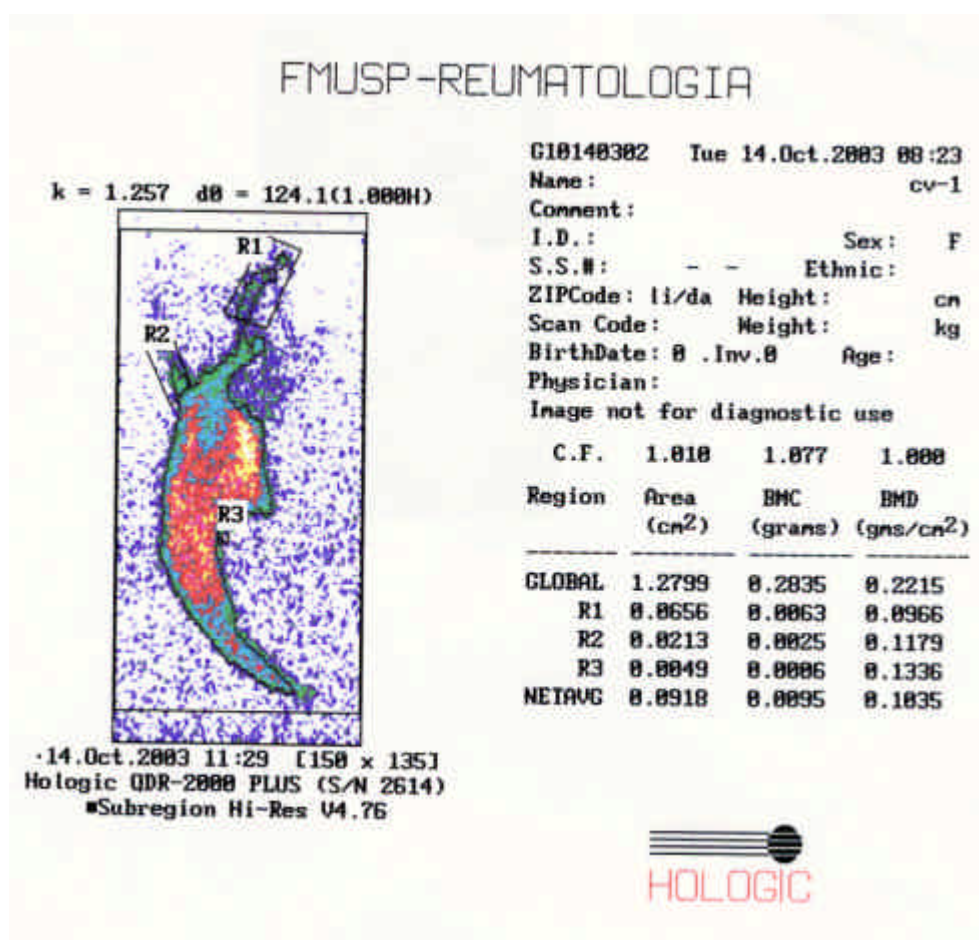


Figura 8 – Imagem da hemimandíbula e suas sub-regiões, obtida pelo aparelho de densitometria óssea.

? Fêmur (Figura 9):

Global

R1) Epífise distal

R2) Epífise proximal

R3) Diáfise

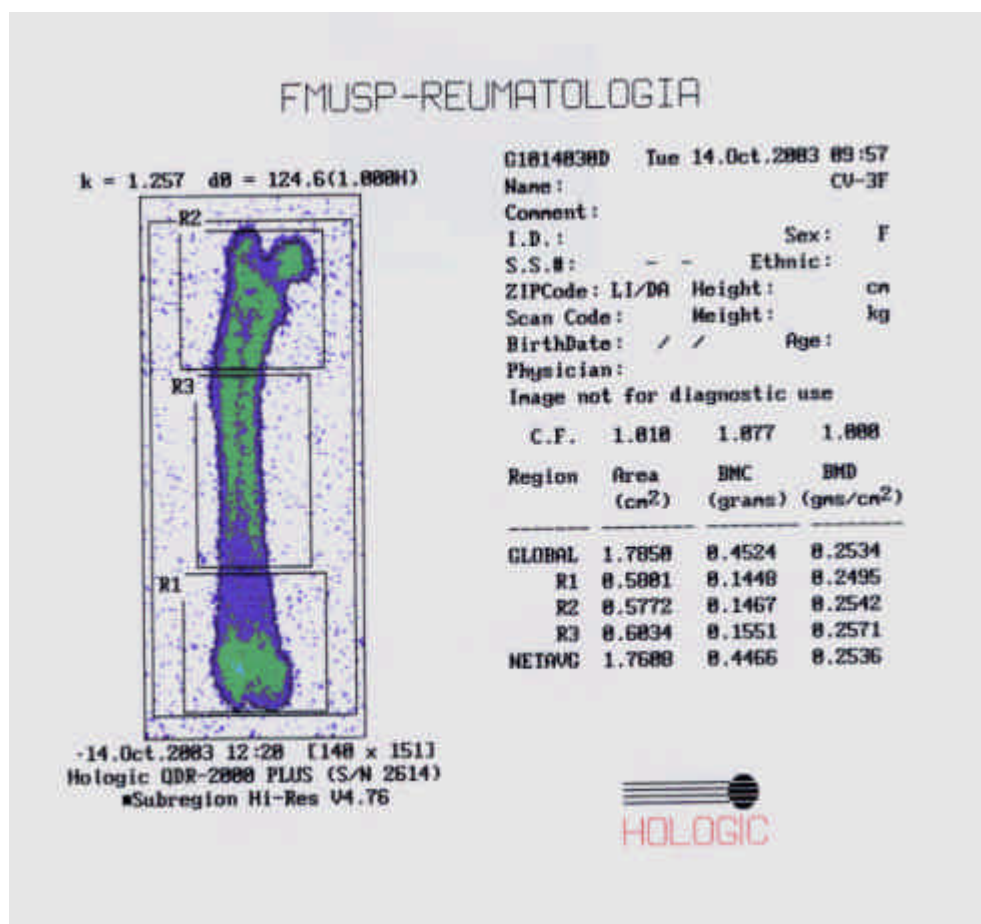


Figura 9 – Imagem do fêmur e suas sub-regiões, obtida pelo aparelho de densitometria óssea.

Todas as medidas foram realizadas no Laboratório de Metabolismo Ósseo da Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP.

#### *4.5.2. Tomada Radiográfica*

As imagens radiográficas das hemimandíbulas, tíbias e fêmures foram obtidas por meio de um sistema de imagem digital direta - CDR (*Computed Dental Radiography for Microsoft Windows, Shick Tyechmologies, Inc., Dialom Dental Products.*), o qual utiliza um sensor eletrônico em substituição ao filme radiográfico. O sensor foi exposto à tomada radiográfica a uma potência de 70KVp e 10mA, com tempo de exposição de 15 impulsos/segundo para as hemimandíbulas, com uma distância foco-sensor padronizada em 70cm.

Durante as tomadas radiográficas foi utilizando um escalímetro, pertencente ao sistema, posicionado diretamente sobre o sensor com o objetivo de se obter um padrão.

#### *4.6. Avaliação da perda óssea vertical*

Para avaliar radiograficamente a presença ou ausência de perda óssea vertical, foram realizadas medidas da crista óssea à junção cimento-esmalte na mesial do primeiro molar inferior, de ambos os lados (Figura 10).

Para obtenção dessas medidas, utilizou-se o comando “Distância” do menu “Medida”, em “Linha Reta”. A distância a ser medida foi selecionada arrastando o cursor, sendo o valor mostrado, em mm, na parte inferior da tela.

Para cada hemimandíbula foram realizadas 3 medidas, com intervalo de uma semana, por um mesmo examinador cego.



Figura 10 – Localização da junção cimento-esmalte (J.C.E.) e da crista óssea, na superfície mesial do primeiro molar de rato, em radiografia.

#### *4.7. Análise estatística*

- I. Comparar os grupos Controle, “SHAM” e OVX em relação à densidade óssea do fêmur nas regiões R1, R2, R3 e Global (DXA);
- II. Comparar os grupos Controle, “SHAM” e OVX em relação à densidade óssea da mandíbula nas regiões R1, R2, R3 e Global (DXA);
- III. Comparar, dentro de cada grupo, as medidas de perda óssea vertical entre mandíbula direita e esquerda;

- IV. Comparar as medidas de perda óssea vertical entre grupo “SHAM”, com indução, e OVX com indução;
- V. Comparar o peso dos animais do período inicial para o final, com o objetivo de avaliar o ganho de peso, comparando os grupos entre si.

#### *4.7.1. Ferramentas estatísticas utilizadas:*

- 1. Cálculos de estatísticas descritivas<sup>[55]</sup>;
- 2. Testes não paramétricos:
  - a. Teste de Wilcoxon: comparação entre duas amostras emparelhadas<sup>[110]</sup>;
  - b. Teste de Kruskal-Wallis: comparação de medianas para mais de dois grupos amostrais<sup>[110]</sup>;
  - c. Teste de Mann-Whitney: comparação de medianas para dois grupos amostrais<sup>[110]</sup>;
  - d. Teste de comparação múltipla: comparações entre grupos dois a dois<sup>[110]</sup>;
- 3. Gráficos do tipo “Box-plot”<sup>[55]</sup>.

*Resultado*

## *5. Resultado*

### *5.1. Comparação entre grupos do peso dos animais do período inicial para o final.*

O estudo dos dados relativos ao peso dos animais foi feito tomando-se as medidas efetuadas em cada animal no início e no final do período de observação. O ganho de peso em cada animal foi calculado da seguinte maneira:

$$\text{Diferença} = \text{Peso final} - \text{Peso inicial}$$

A comparação entre os grupos (1) – “SHAM” sem indução, (2) – “SHAM” com indução, (3) – OVX sem indução e (4) – OVX com indução foi feita com base no teste de Kruskal-Wallis. Os resultados obtidos revelaram que há evidências de diferença entre os grupos ( $p=0,014$ ). A diferença mais acentuada é percebida em relação ao grupo (2) que apresentou um comportamento distinto em relação aos demais. Os animais do grupo (2) foram os que ganharam menos peso, enquanto que os animais do grupo (4) foram os que ganharam mais peso. O resultado da comparação múltipla, mostrada na tabela 1, juntamente com algumas estatísticas descritivas, sugere que o efeito da indução no grupo (2) levou a um menor ganho de peso dos animais; o mesmo não foi constatado para o grupo OVX com indução (Figura 11).

Os resultados da tabela 1 indicam igualdade estatística ( $p>0,05$ ) entre os grupos que não sofreram indução de doença periodontal, (1) e (3) respectivamente.

O grupo (4) apresentou maior variabilidade do que os demais, além de valores de quartis e de extremos também superiores.

Tabela 1 – Estatísticas descritivas, valor p associado ao teste de Kruskal-Wallis e resultado das comparações múltiplas entre os grupos, em relação ao peso dos animais.

| Grupo                     | n       | Mediana | Extremos | Quartis<br>(25%-75%) | Comparações<br>múltiplas |
|---------------------------|---------|---------|----------|----------------------|--------------------------|
| “SHAM”<br>com indução (2) | 10      | 50      | 30-90    | 30-80                | A                        |
| “SHAM”<br>sem indução (1) | 11      | 80      | 30-110   | 40-90                | B                        |
| OVX<br>com indução (4)    | 9       | 90      | 60-175   | 75-145               | C                        |
| OVX<br>sem indução (3)    | 9       | 100     | 40-130   | 55-110               | B                        |
| Teste de Kruskal-Wallis   | p=0,014 |         |          |                      |                          |

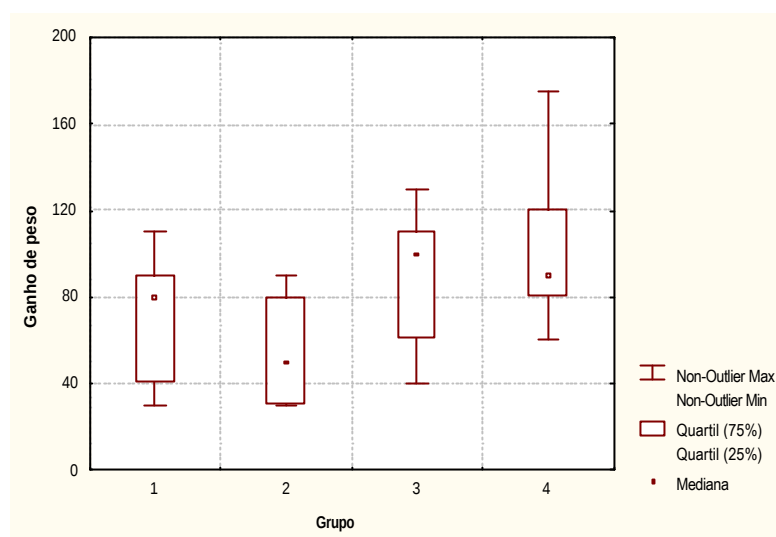


Figura 11 – Box plot dos valores de ganho de peso (peso final – peso inicial) para os diferentes grupos.

## 5.2. Comparação entre os grupos Controle, “SHAM” e OVX em relação à densidade óssea do fêmur nas regiões $R1$ , $R2$ , $R3$ e Global (DXA).

Os cálculos das estatísticas descritivas apresentadas na tabela 2 dão indicativos das diferenças existentes entre os grupos Controle, “SHAM” e OVX. Exceto na região  $R3$  (diáfise), os grupos Controle (0), OVX sem indução (3) e OVX com indução (4) apresentaram valores medianos, extremos e quartis próximos. Já o grupo “SHAM” sem indução (1) e “SHAM” com indução (2) parecem diferir dos demais, no

entanto, apresentam semelhanças entre si quanto à densidade óssea (tabela 2).

A tabela 3 traz resultados da aplicação do teste de Kruskal-Wallis e das comparações múltiplas efetuadas quando a diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa. O teste de Kruskal-Wallis confirmou os indicativos da análise exploratória feita com base nas estatísticas descritivas mostradas na tabela 2.

A análise dos resultados dá evidências de que há uma diferença estatisticamente significativa entre os valores medianos de densidade óssea. De um modo geral as regiões do fêmur seguiram um comportamento comum quanto à resposta aos procedimentos que diferenciaram os grupos. Para todas as regiões: Global (figura 12); R1- epífise distal (Figura 13); R2 – epífise proximal (Figura 14) e R3 - diáfise (Figura 15),  $p < 0,001$ . As comparações múltiplas dão evidências estatísticas de que os grupos (0), (3) e (4) não apresentaram diferenças significantes entre si quanto às medianas de densidade óssea ( $p < 0,05$ ). Os valores de densidade são mais baixos nas ratas desses grupos. Entre os grupos (1) e (2) as diferenças também não foram estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ), sendo que nesses casos os valores de densidade encontrados foram mais elevados que nos demais grupos estudados (Figuras 12, 13, 14 e 15).

Os resultados da tabela 3 mostram ainda que, na região R3, o grupo controle se diferenciou dos demais grupos, uma vez que os

valores de densidade foram mais baixos do que para os demais grupos em análise.

Tabela 2 - Estatísticas descritivas de densidade óssea do fêmur para os diferentes grupos de estudo em cada região Global, R1, R2 e R3.

| REGIÃO | GRUPO                  | n  | Mediana | Extremos    | Quartis<br>(25%-75%) |
|--------|------------------------|----|---------|-------------|----------------------|
| Global | Controle (0)           | 9  | 0,216   | 0,194-0,253 | 0,201-0,233          |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,255   | 0,229-0,279 | 0,229-0,259          |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,249   | 0,242-0,264 | 0,245-0,256          |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,221   | 0,210-0,241 | 0,215-0,232          |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,225   | 0,215-0,248 | 0,219-0,236          |
| R1     | Controle (0)           | 9  | 0,234   | 0,203-0,275 | 0,208-0,246          |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,263   | 0,232-0,299 | 0,249-0,274          |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,255   | 0,244-0,267 | 0,246-0,264          |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,229   | 0,215-0,253 | 0,219-0,239          |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,230   | 0,201-0,249 | 0,223-0,240          |
| R2     | Controle (0)           | 9  | 0,221   | 0,192-0,255 | 0,202-0,237          |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,255   | 0,214-0,281 | 0,234-0,258          |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,248   | 0,238-0,264 | 0,242-0,254          |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,207   | 0,200-0,231 | 0,204-0,221          |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,219   | 0,201-0,246 | 0,207-0,227          |
| R3     | Controle (0)           | 9  | 0,201   | 0,181-0,234 | 0,189-0,222          |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,248   | 0,224-0,261 | 0,226-0,257          |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,244   | 0,238-0,271 | 0,242-0,251          |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,229   | 0,214-0,243 | 0,215-0,237          |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,235   | 0,215-0,249 | 0,225-0,242          |

Tabela 3 - Resultados da aplicação dos testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e de Comparações Múltiplas para cada região do fêmur (Global, R1, R2 e R3). Valores apresentados segundo a ordem de grandeza da mediana.

| REGIÃO | GRUPO                  | n  | Mediana | Teste de Kruskal-Wallis | Comparações múltiplas* |
|--------|------------------------|----|---------|-------------------------|------------------------|
| Global | Controle (0)           | 9  | 0,216   | <b>p&lt;0,001</b>       | A                      |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,221   |                         | A                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,225   |                         | A                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,249   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,255   |                         | B                      |
|        |                        |    |         |                         |                        |
| R1     | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,229   | <b>p&lt;0,001</b>       | A                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,230   |                         | A                      |
|        | Controle (0)           | 9  | 0,234   |                         | A                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,255   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,263   |                         | B                      |
|        |                        |    |         |                         |                        |
| R2     | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,207   | <b>p&lt;0,001</b>       | A                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,219   |                         | A                      |
|        | Controle (0)           | 9  | 0,221   |                         | A                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,248   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,255   |                         | B                      |
|        |                        |    |         |                         |                        |
| R3     | Controle (0)           | 9  | 0,201   | <b>p=0,003</b>          | A                      |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,229   |                         | B                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,235   |                         | B                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,244   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,248   |                         | B                      |
|        |                        |    |         |                         |                        |

\* letras diferentes indicam grupos com características distintas.

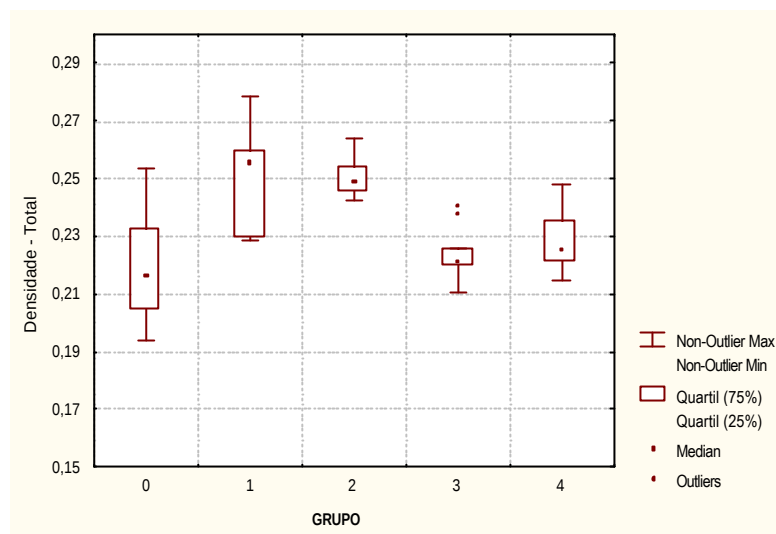


Figura 12 – Box plot dos valores de densidade do fêmur, avaliada na região global para os diferentes grupos.

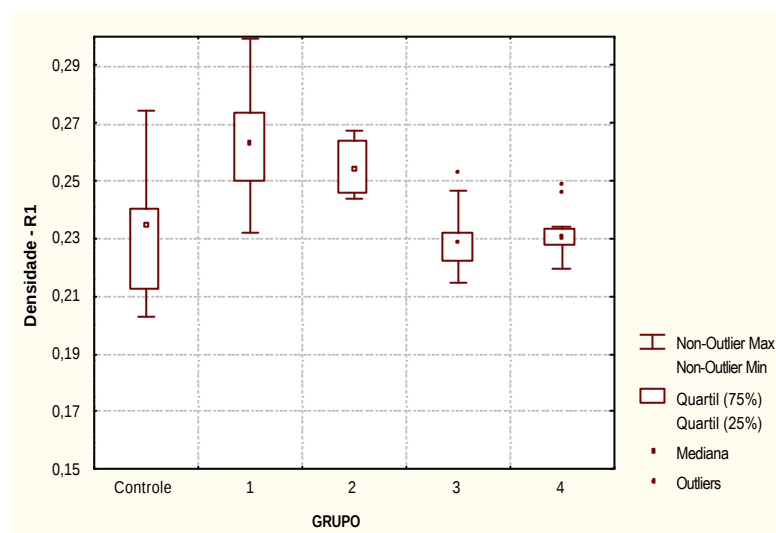


Figura 13 – Box plot dos valores de densidade do fêmur, avaliada na região R1 (epífise distal) para os diferentes grupos.

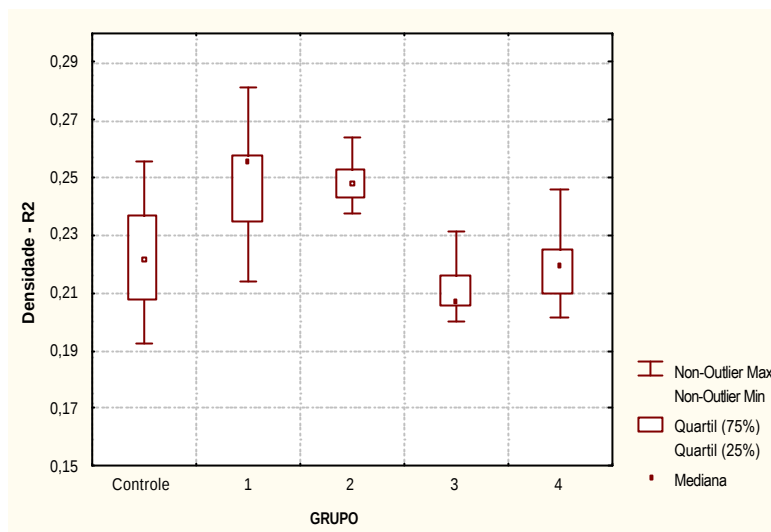


Figura 14– Box plot dos valores de densidade do fêmur , avaliada na região R2 (epífise proximal) para os diferentes grupos.

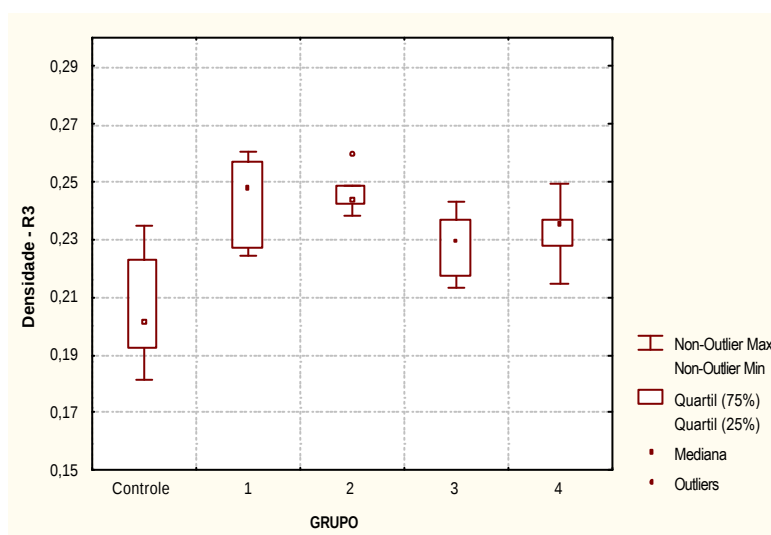


Figura 15 – Box plot dos valores de densidade do fêmur , avaliada na região R3 (diáfise) para os diferentes grupos.

### *5.3. Comparação entre os grupos Controle, "SHAM" e OVX em relação à densidade óssea da mandíbula nas regiões R1, R2, R3 e Global (DXA).*

Analisando os dados de densidade óssea da mandíbula observa-se maior diferença entre o grupo controle e os demais grupos. Os valores de densidade óssea mandibulares são inferiores aos encontrados no fêmur de um modo geral. R1 (região do côndilo mandibular) é a região onde se encontram os menores valores de densidade. A tabela 4 traz as estatísticas descritivas de densidade óssea da mandíbula. Ela fornece subsídios importantes que sugerem ser a densidade óssea no grupo controle estatisticamente diferente da densidade encontrada nas ratas dos grupos "SHAM" sem indução (1), "SHAM" com indução (2), OVX sem indução (3) e OVX com indução (4).

Os resultados da aplicação dos testes de Kruskal-Wallis e das comparações múltiplas para os dados de densidade óssea da mandíbula estão expostos na tabela 5.

Tabela 4 - Estatísticas descritivas de densidade óssea da mandíbula para os diferentes grupos de estudo em cada região Global, R1, R2 e R3.

| REGIÃO | GRUPO                 | n  | Mediana | Extremos     | Quartis<br>(25%-75%) |
|--------|-----------------------|----|---------|--------------|----------------------|
| Global | Controle              | 9  | 0,206   | 0,199-0,216  | 0,203-0,209          |
|        | “SHAM”<br>sem indução | 11 | 0,224   | 0,217-0,229  | 0,221-0,227          |
|        | “SHAM”<br>com indução | 10 | 0,222   | 0,213-0,231  | 0,220-0,229          |
|        | OVX<br>sem indução    | 9  | 0,227   | 0,214-0,231  | 0,218-0,224          |
|        | OVX<br>com indução    | 9  | 0,227   | 0,223-0,241  | 0,224-0,231          |
|        |                       |    |         |              |                      |
| R1     | Controle              | 9  | 0,097   | 0,058-0,100  | 0,058-0,097          |
|        | “SHAM”<br>sem indução | 11 | 0,098   | 0,086-0,111  | 0,091-0,107          |
|        | “SHAM”<br>com indução | 10 | 0,101   | 0,091-0,110  | 0,091-0,110          |
|        | OVX<br>sem indução    | 9  | 0,101   | 0,095-0,110  | 0,095-0,105          |
|        | OVX<br>com indução    | 9  | 0,097   | 0-0,110      | 0,097-0,106          |
|        |                       |    |         |              |                      |
| R2     | Controle              | 9  | 0,103   | 0,087-0,119  | 0,095-0,111          |
|        | “SHAM”<br>sem indução | 11 | 0,119   | 0,096-0,1390 | 0,105-0,130          |
|        | “SHAM”<br>com indução | 10 | 0,120   | 0,107-0,129  | 0,109-0,123          |
|        | OVX<br>sem indução    | 9  | 0,123   | 0,108-0,136  | 0,114-0,131          |
|        | OVX<br>com indução    | 9  | 0,122   | 0,100-0,146  | 0,112-0,134          |
|        |                       |    |         |              |                      |
| R3     | Controle              | 9  | 0,094   | 0,070-0,149  | 0,075-0,103          |
|        | “SHAM”<br>sem indução | 11 | 0,126   | 0,100-0,153  | 0,111-0,138          |
|        | “SHAM”<br>com indução | 10 | 0,111   | 0,088-0,138  | 0,106-0,128          |
|        | OVX<br>sem indução    | 9  | 0,115   | 0,073-0,135  | 0,082-0,119          |
|        | OVX<br>com indução    | 9  | 0,101   | 0,061-0,131  | 0,084-0,119          |
|        |                       |    |         |              |                      |

Os dados das comparações múltiplas dos grupos (1), (2), (3) e (4) não apresentaram diferenças significantes entre si quanto às medianas de densidade óssea ( $p > 0,05$ ) sendo os valores de densidade mais altos nas ratas destes grupos. O grupo controle se diferencia dos demais para as regiões: Global (Figura 16); R2 - margem inferior do corpo mandibular (Figura 18) e R3 - região incisal da mandíbula (Figura 19). No caso da região R1 (região do côndilo mandibular) não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p = 0,219$ ), sendo que nessa região os valores de densidade encontrados foram muito próximos para todos os grupos (Figura 17).

Tabela 5 - Resultados da aplicação dos testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e de Comparações Múltiplas para cada região da mandíbula (Global, R1, R2 e R3).

| REGIÃO | GRUPO                  | n  | Mediana | Teste de Kruskal-Wallis | Comparações múltiplas* |
|--------|------------------------|----|---------|-------------------------|------------------------|
| Global | Controle (0)           | 9  | 0,206   | <b>p&lt;0,001</b>       | A                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,222   |                         | B                      |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,223   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,224   |                         | B                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,227   |                         | B                      |
|        |                        |    |         |                         |                        |
| R1     | Controle (0)           | 9  | 0,097   | p=0,219                 |                        |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,097   |                         |                        |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,098   |                         |                        |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,101   |                         |                        |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,101   |                         |                        |
|        |                        |    |         |                         |                        |
| R2     | Controle (0)           | 9  | 0,103   | <b>p=0,008</b>          | A                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,119   |                         | B                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,120   |                         | B                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,122   |                         | B                      |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,123   |                         | B                      |
|        |                        |    |         |                         |                        |
| R3     | Controle (0)           | 9  | 0,094   | <b>p=0,019</b>          | A                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,101   |                         | B                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,111   |                         | B                      |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,115   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,126   |                         | B                      |
|        |                        |    |         |                         |                        |

\* letras diferentes indicam grupos com características distintas.

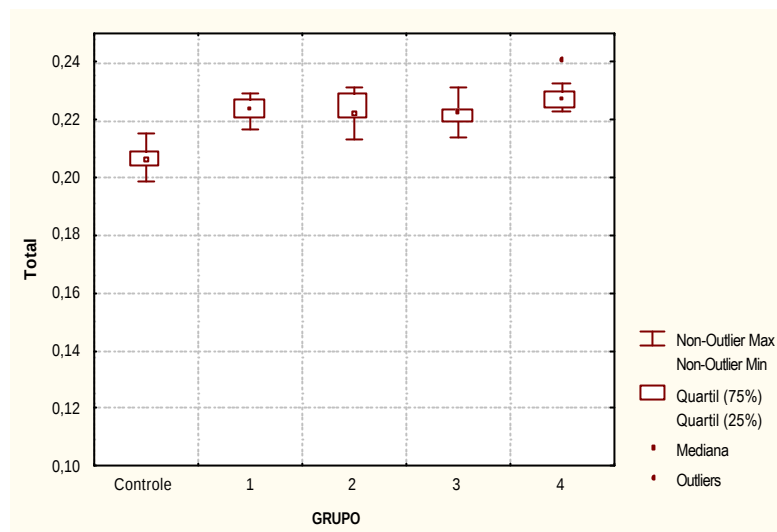


Figura 16 – Box plot dos valores de densidade da mandíbula, avaliada na região Global para os diferentes grupos.

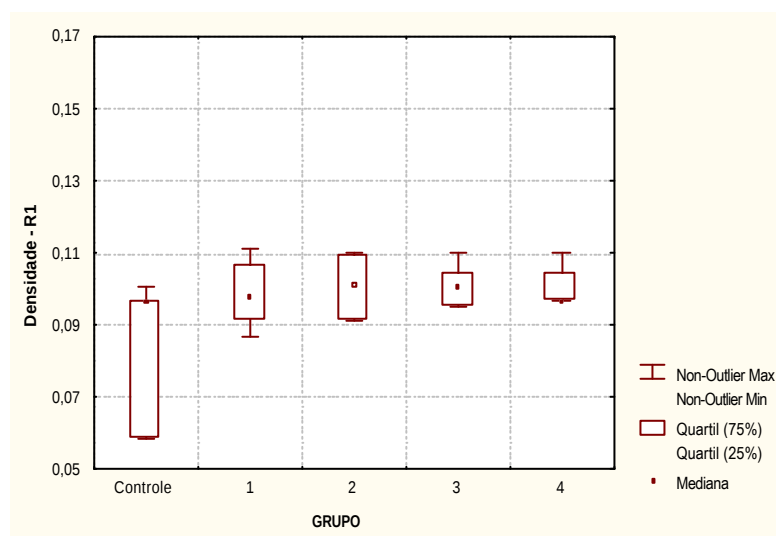


Figura 17 – Box plot dos valores de densidade da mandíbula, avaliada na região R1 (região do côndilo mandibular), para os diferentes grupos.

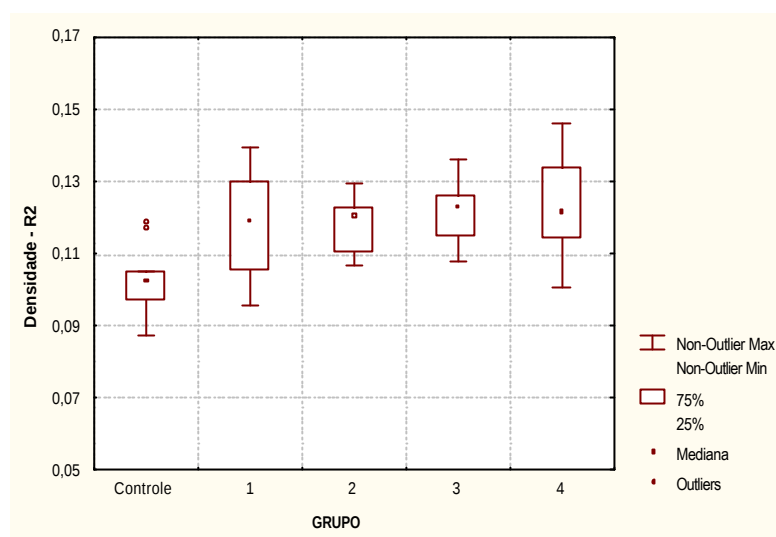


Figura 18 – Box plot dos valores de densidade da mandíbula, avaliada na região R2 (margem inferior do corpo mandibular) para os diferentes grupos.

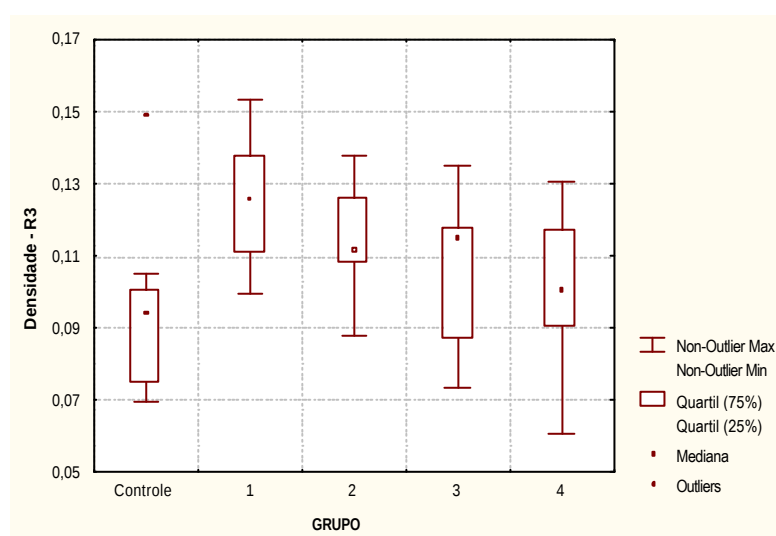


Figura 19 – Box plot dos valores de densidade da mandíbula, avaliada na região R3 (região incisal da mandíbula) para os diferentes grupos.

#### *5.4. Comparação dentro de cada grupo, das medidas de perda óssea vertical entre as mandíbulas direita e esquerda.*

A análise da perda óssea vertical entre mandíbula direita e esquerda foi efetuada com base nos resultados do teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas. Para cada grupo foi feita a comparação e os resultados estão apresentados na tabela 6 e na figura 20 que seguem.

Tabela 6 – Resultados do teste de comparação da perda óssea vertical entre mandíbula direita e esquerda

| Grupo                 | Teste de Wilcoxon<br>Valor - p |
|-----------------------|--------------------------------|
| Controle (0)          | 0,999                          |
| “SHAM”sem indução (1) | 0,374                          |
| “SHAM”com indução (2) | <b>0,005</b>                   |
| OVX sem indução (3)   | 0,363                          |
| OVX com indução (4)   | <b>0,008</b>                   |

Os resultados apresentados na tabela 6 revelam que houve diferença significativa de perda óssea nos grupos em que foi feita a indução de doença periodontal, quando comparadas as mandíbulas direita e esquerda. Nestes casos os valores de p encontrados pelo teste de Wilcoxon foram  $p=0,005$  para o grupo (2) e  $p=0,008$  para o grupo (4).

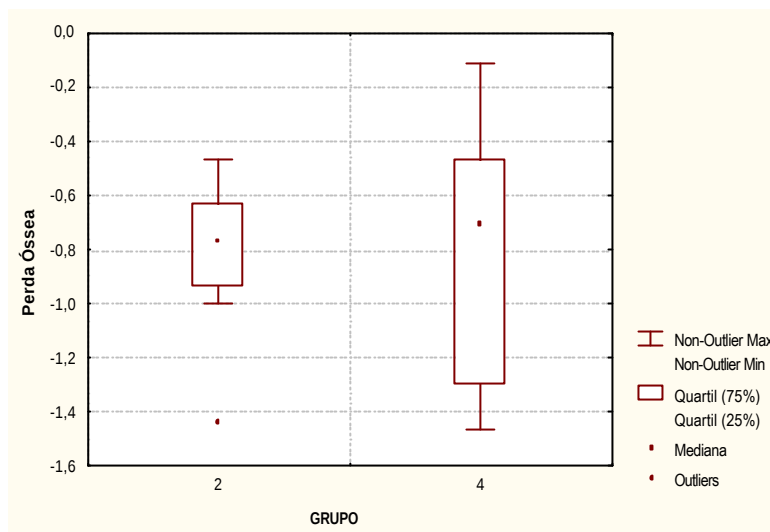


Figura 20 – Box plot dos valores de perda óssea vertical (mandíbula direita – mandíbula esquerda) para os grupos (2) e (4).

### *‘5.5. Comparação das medidas de perda óssea vertical entre os grupos “SHAM” com indução e OVX com indução;*

Os dados relativos à perda óssea foram tomados a partir das medidas efetuadas em cada mandíbula (direita e esquerda), sendo que a perda óssea em cada animal foi calculada da seguinte maneira:

Diferença= Perda da mandíbula direita – Perda da mandíbula esquerda

Como as medidas foram feitas em três réplicas para cada animal, foram considerados nas comparações que se seguem os valores médios das diferenças de perda óssea para cada animal.

A comparação entre os grupos (2) e (4) foi feita com base no teste de Mann-Whitney. O resultado obtido revelou que há evidências de igualdade entre os grupos ( $p=0,713$ ). Apesar de a diferença não ser estatisticamente significativa, vale observar que tal resultado se deu, especialmente, devido à grande variabilidade encontrada entre os animais do grupo (4).

A tabela 7 traz algumas estatísticas descritivas e os resultados do teste para os dados de diferença de perda óssea nos animais dos grupos (2) e (4).

Tabela 7 – Estatísticas descritivas e valor p associado ao teste de Mann-Whitney para comparação da perda óssea vertical entre os grupos OVX e “SHAM”.

| Grupo                     | n         | Mediana | Extremos     | Quartis<br>(25%-75%) |
|---------------------------|-----------|---------|--------------|----------------------|
| “SHAM”<br>com indução (2) | 10        | 0,766   | 0,467- 1,433 | 0,625-0,949          |
| OVX<br>com indução (4)    | 9         | 0,700   | 0,113-1,467  | 0,434-1,317          |
| Teste de<br>Mann-Whitney  | $p=0,713$ |         |              |                      |

## *Discussão*

## 6. *Discussão*

A perda óssea associada à deficiência do hormônio ovariano durante o período da menopausa constitui o tipo mais comum de osteoporose (CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON OSTEOPOROSIS<sup>12</sup>, 1993). Entretanto, o mecanismo pelo qual essa deficiência resulta em perda óssea ainda não está totalmente esclarecido.

O tecido ósseo está entre os tecidos do corpo humano que apresentam metabolismo mais ativo. Uma vez formado, o osso se altera durante toda vida, respondendo constantemente às várias demandas funcionais e metabólicas a que é submetido (GANONG<sup>21</sup>, 1995).

A remodelação óssea é um processo complexo e dinâmico que visa à manutenção da matriz óssea mineralizada, e envolve reprodução e recrutamento de células indiferenciadas e a diferenciação celular, tanto no osso cortical como no osso trabecular (VÄÄNÄNEN<sup>97</sup>, 1993).

O osso cortical é formado por um tecido mais denso do que o osso trabecular, com células próximas umas das outras, sendo a matriz e os espaços intercelulares menores. O osso trabecular é metabolicamente mais ativo e, comparado ao osso cortical, é o mais atingido em situações onde há deficiência hormonal, provavelmente devido a sua maior superfície em relação ao volume (KANIS<sup>42</sup>, 1996).

Os hormônios sexuais possuem uma importante função no desenvolvimento do esqueleto e na perda de massa óssea. A existência de receptores de estrógeno e andrógeno nas células ósseas permite um efeito direto desses hormônios sobre o metabolismo ósseo. O mecanismo pelo qual o estrógeno regula a remodelação óssea é por meio da modulação da produção de citocinas e fatores de crescimento (TURNER et al.<sup>96</sup>, 1994).

A análise da literatura (HORNER et al.<sup>33</sup>, 1996; JACOBS et al.<sup>37</sup>, 1996; von WÖRERN et al.<sup>99</sup>, 1994) proporciona a observação da existência de uma relação positiva entre a perda de massa óssea esquelética e a perda óssea oral.

O presente estudo teve como objetivo avaliar possíveis alterações na densidade mineral óssea mandibular e femoral decorrentes da deficiência de estrógeno promovida pela OVX, e a influência dessas alterações sobre a doença periodontal induzida em ratas.

A ooforectomia em ratas está bem estabelecida na literatura como o protocolo para indução de osteoporose mais prevalente e pertinente (CHOW et al.<sup>11</sup>, 1992; HSIEH et al.<sup>34</sup>, 1995; KALU et al.<sup>40</sup>, 1989; KALU<sup>41</sup>, 1991; MOSEKILDE<sup>59</sup>, 1995; WRONSKI et al.<sup>102</sup>, 1988), promovendo o estabelecimento de deficiência hormonal semelhante à da menopausa (DEVLIN; FERGUSON<sup>14</sup>, 1990; KALU et al.<sup>40</sup>, 1989; KALU<sup>41</sup>, 1991).

A escolha do rato como modelo animal deveu-se: à predominância de pesquisas envolvendo a deficiência estrogênica nesse animal (CHOW et al.<sup>11</sup>, 1992; DEVLIN; FERGUSON<sup>14</sup>, 1990; HSIEH et al.<sup>34</sup>, 1995; KALU et al.<sup>40</sup>, 1989; KALU<sup>41</sup>, 1991; MOSEKILDE<sup>59</sup>, 1995; WRONSKI et al.<sup>102</sup>, 1988), disponibilizando dados para comparações; à facilidade de execução da OVX; à simulação do quadro ósseo observado na menopausa; ao baixo custo; ao remodelamento ósseo similar ao encontrado no osso trabecular humano e ao fato de não serem necessários longos períodos de experimentação (MOSEKILDE<sup>59</sup>, 1995).

Dentre os fatores acima citados, a existência de muitas similaridades entre ratos e humanos quanto à resposta do esqueleto à deficiência estrogênica, proporciona suporte adequado à realização da ooforectomia em ratas como um modelo para avaliação da perda óssea no período da pós-menopausa, com ambas apresentando rápida perda óssea e aumento na taxa de remodelação óssea (WRONSKI; YEN<sup>105</sup>, 1991).

Há uma grande variabilidade em relação à escolha da idade das ratas, nos protocolos experimentais que avaliam perda óssea relacionada à deficiência hormonal, tendo alguns autores utilizado ratas com poucas semanas (HSIEH et al.<sup>34</sup>, 1995; OKUDA et al.<sup>66</sup>, 1996), enquanto Elovic et al.<sup>15</sup> (1995), avaliaram ratas adultas.

No presente estudo foram selecionadas ratas com 3 meses de idade por ser esta, a faixa etária mais utilizada na literatura

(TANAKA et al.<sup>89</sup>, 1998; TANAKA et al.<sup>91</sup>, 2000; TANAKA et al.<sup>92</sup>, 2002; YAMASHIRO; YAMAMOTO<sup>107</sup>, 1998). Nessa idade os animais são considerados maduros sexualmente, abrangendo o início e a plenitude da maturidade sexual das ratas (MOSEKILDE<sup>59</sup>, 1995; WRONSKI et al.<sup>102</sup>, 1988) e apresentando transformações ósseas mais rápidas. Além disso, há possibilidade, nessa idade, de desvincular a perda óssea conseqüente à deficiência hormonal da perda óssea relacionada ao envelhecimento.

Neste trabalho, o período de experimentação de 5 meses mostrou-se adequado para a detecção de alterações estatisticamente significativas na estrutura óssea do fêmur (Tabela 3 e Figuras 12, 13, 14 e 15); entretanto, a análise mandibular, pela DXA não demonstrou alterações significantes no período avaliado (Tabela 5 e Figuras 16, 17, 18 e 19).

Paz et al.<sup>74</sup>, em 2001, analisando ossos longos obtiveram resultados compatíveis de perda de massa óssea em 6 semanas, enquanto Moreno et al.<sup>56</sup> (1995) somente observaram resultado semelhante após 6 meses.

Ainda em relação ao período experimental, Okuda et al.<sup>66</sup> (1996), ao investigar os efeitos da OVX na ATM, por meio de *Soft X-ray Photograph*, observaram, em 8 semanas, espessamento focal na região anterior e erosão na região posterior do côndilo. Porém, uma diminuição significativa de volume ósseo, em apenas uma semana pós-OVX, só pode ser detectado por meio de análise histomorfométrica.

Os resultados deste estudo se aproximam dos de Yamashiro e Yamamoto<sup>107</sup> (1998), e Tanaka et al.<sup>89</sup> (1998), com relação à ausência de alterações de massa óssea mandibular relacionadas à OVX. Tanaka et al.<sup>89</sup> (1998), ao utilizar um período experimental de 60 dias, não observou mudanças significativas na BMD do côndilo mandibular entre ratas OVX e “SHAM”, por DXA, concordando com os achados de Yamashiro e Yamamoto<sup>107</sup> (1998), que sugeriu a existência de diferenças entre resposta de fêmur e côndilo mandibular à deficiência de estrógeno, onde, por meio de análise histomorfométrica, o osso condilar não foi afetado pela OVX, enquanto o fêmur apresentou decréscimo no volume ósseo.

Marques<sup>53</sup> (1998) constatou em seu estudo que a idade inicial das ratas, entre 60 a 90 dias, e o período experimental de 40 dias de OVX eram ideais para obtenção de alterações ósseas mais expressivas. Porém deve-se ressaltar que o autor avaliou apenas o osso alveolar da maxila, predominantemente trabecular, o que pode justificar as alterações encontradas em um período considerado curto (40 dias de OVX).

Os resultados dos estudos citados e do presente trabalho evidenciam a conveniência do modelo utilizado, uma vez que em seres humanos as transformações ósseas poderiam ocorrer em anos e, dessa forma, dificultariam a avaliação.

Em nosso estudo, a análise da BMD foi realizada por meio de densitometria por DXA, um método prático, preciso, rápido, não invasivo e largamente utilizado para diagnóstico de osteoporose (AMMANN et al.<sup>5</sup>, 1992; CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON OSTEOPOROSIS<sup>12</sup>, 1993; GRIER et al.<sup>26</sup>, 1996).

Esse método para determinação da massa óssea em pequenos animais está bem validado na literatura (GRIER et al.<sup>26</sup>, 1996; LU et al.<sup>51</sup>, 1994; PANIAGUA et al.<sup>70</sup>, 1998; RICO et al.<sup>76</sup>, 1999).

Uma preocupação nos diversos estudos refere-se à avaliação em ossos de diferentes regiões anatômicas na tentativa de correlacionar a perda óssea sistêmica com a perda óssea oral em ratas. (KURODA et al.<sup>50</sup>, 2003; PATULLO<sup>72</sup>, 2001; YAMASHIRO; YAMAMOTO<sup>107</sup>, 1998). Neste trabalho realizou-se a análise da BMD em três regiões do fêmur e em três regiões da mandíbula de ratas OVX com o objetivo de detectar perda de massa óssea sistêmica e perda óssea oral.

Horner et al.<sup>33</sup> (1996) em estudo com humanos avaliados por meio de DXA, encontraram correlações significativas entre a BMD mandibular e a BMD da coluna, fêmur e antebraço. Tais achados foram consistentes com as evidências de outros trabalhos (JACOBS et al.<sup>37</sup>, 1996; von WOWERN et al.<sup>99</sup>, 1994) que suportam o conceito de que a BMD mandibular está de fato correlacionada com a BMD esquelética. Entretanto, Klemetti et al, em 1993, ao analisarem por QCT, 74 mulheres,

não observaram correlação entre a BMD mandibular e a BMD do fêmur e da coluna lombar.

Os resultados deste estudo evidenciaram que a BMD do fêmur, nos grupos 0, 3 e 4 (Grupos Controle e OVX) apresentou-se menor ( $p < 0,001$ ) em comparação aos grupos “SHAM” para as regiões analisadas: Global, R1, R2 (Tabela 3 e Figuras 12, 13, 14). Os resultados encontrados para os grupos OVX são concordantes com outros estudos e pertinentes ao protocolo, uma vez que a OVX provoca alterações na estrutura óssea, resultando em menor densidade óssea, principalmente em osso longos. (KURODA et al.<sup>50</sup>, 2003; PAZ et al.<sup>74</sup>, 2001; RICO et al.<sup>76</sup>, 1999).

Rico et al.<sup>76</sup> (1999) e Paz et al.<sup>74</sup> (2001) observaram resultados semelhantes aos do presente estudo, com valores de BMD femoral significativamente menores nos grupos OVX. Já o estudo de Kuroda et al.<sup>50</sup> (2003) aponta uma importante diferença no seu grau de detecção de perda de densidade óssea quando comparados os métodos de DXA (13,7%) e pQCT (30%), evidenciando a importância e a precisão do método utilizado para avaliação.

Diferente dos resultados mencionados, Patullo<sup>72</sup>, em 2001, não encontrou diferenças estatisticamente significantes na BMD do fêmur e da mandíbula entre ratas OVX e “SHAM”, pela DXA. Esse resultado se deveu, provavelmente, ao curto período experimental empregado de 9 semanas.

Quanto à menor BMD encontrada no grupo controle do presente estudo, esta deve-se provavelmente à idade com que esses animais foram sacrificados, ou seja, 3 meses (baseline) (Tabela 3). Isso pode ser evidenciado na comparação dos grupos controle e “SHAM”, em que se constata maior densidade óssea no grupo “SHAM” após 5 meses de observação. Haveria, assim, um aumento na densidade óssea para animais adultos jovens, provavelmente até o início do período de senilidade.

Estudos descrevem achados similares relativos à deficiência de estrógenos em ratas em avaliações de densidade do fêmur, global (KURODA et al.<sup>50</sup>, 2003) e em sub-regiões (PAZ et al.<sup>74</sup>, 2001), coluna lombar e tibia (KIMMEL; WRONSKI<sup>43</sup>, 1990).

É interessante ressaltar que o aumento de peso em ratas OVX pode atenuar a perda de massa óssea no fêmur, como documentado por WRONSKI et al.<sup>100</sup> (1985). Embora isso possa ocorrer, nesse grupo o aumento de peso corporal não impediu a perda óssea do fêmur.

O estudo dos dados relativos ao peso dos animais revelou aspectos interessantes quanto à comparação entre os grupos. Os animais do grupo 4 (OVX com indução) foram os que apresentaram maior ganho de peso, o que já era esperado, uma vez que a literatura demonstra maior ganho de peso para animais OVX, resultante do aumento de apetite devido à tentativa de manutenção da homeostase interna frente ao

desequilíbrio hormonal. Entretanto o grupo 3, também OVX (sem indução), apresentou menor ganho de peso. Já os animais dos grupos “SHAM” também apresentaram ganho de peso, com o grupo 2 (“SHAM” com indução) demonstrado menor ganho (Tabela 1 e Figura 11).

A densitometria da mandíbula não apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos 1, 2, 3 e 4 em nenhuma das regiões analisadas: Global, R1, R2 e R3 (Tabela 5 e Figuras 16, 17, 18 e 19). Tais resultados corroboram os resultados de Elovic et al.<sup>15</sup> (1995), Yamashiro; Yamamoto<sup>107</sup> (1998) e Tanaka et al.<sup>89</sup> (1998) que sugerem a existência de diferentes respostas à OVX nos diversos tipos de ossos.

Elovic et al.<sup>15</sup> (1995) ao investigarem a densidade óssea mandibular, por DXA, nos períodos experimentais de 14, 114 e 200 dias pós-OVX, também não encontraram alterações na BMD mandibular sugerindo possível atuação da função mastigatória na resistência desse osso à perda óssea.

Já Tanaka et al.<sup>93</sup> (2002) detectaram alterações no osso alveolar mandibular na região do septo interradicular do primeiro molar, de ratas OVX, por meio de análise histomorfométrica, histológica e microtrabecular. Em um período de 60 dias, foi observado maior espaço de separação entre as trabéculas, menor volume ósseo e menor número de trabéculas no grupo OVX em relação ao baseline e ao grupo “SHAM”.

A morfologia mandibular do rato apresentando o dente incisivo em constante erupção e os dentes molares em constante função

podem ter limitado e/ou alterado a leitura da BMD pela DXA. Além disso, os incisivos ocupam uma grande área na mandíbula do rato, e durante a leitura da BMD global mandibular, o conteúdo mineral dos incisivos e molares é incluído. Como a remoção desses dentes por meio físico e/ou químico poderia alterar a densidade óssea, optou-se por excluir a região relativa aos dentes durante a seleção das áreas analisadas pela DXA, com exceção da medida da densidade global. Esse processo de exclusão, no entanto, torna-se complicado particularmente para leituras de sítios próximos aos elementos dentais.

Neste estudo, a região do côndilo mandibular (R1) foi a que apresentou o menor valor de BMD, em todos os grupos, porém não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos OVX e “SHAM” (Tabela 5 e Figura 17).

Patullo<sup>72</sup> (2001) também não observou diferenças pronunciadas em relação à BMD da mandíbula e do fêmur, obtida por DXA, entre ratas OVX e “SHAM”. Já Kuroda et al.<sup>50</sup> (2003), ao analisar a região condilar, notou um decréscimo de 14% na BMD de ratas OVX em relação ao grupo “SHAM”, sugerindo que tal região seja mais susceptível a condições de deficiência de estrógeno.

Quanto à ausência de diferença entre os grupos na região do bordo inferior mandibular, a presença de osso cortical juntamente com osso trabecular pode ter influenciado a leitura da densidade, pela DXA,

tendo Kuroda et al.<sup>50</sup> (2003), já relatado a ausência de alterações expressivas em regiões onde há presença de osso cortical.

Em relação às medidas da BMD na região mesial ao primeiro molar, a dificuldade técnica do densitômetro em selecionar uma área óssea excluindo a região relativa aos dentes e o fato da grande proximidade do dente incisivo podem ter influenciado e/ou alterado a análise pela DXA, resultando em igualdade entre os grupos.

Outra justificativa é que a mandíbula suporta forças mecânicas produzidas pela carga oclusal e pela ação dos músculos mastigatórios, as quais contribuem para a manutenção da massa óssea, se opondo aos efeitos da deficiência hormonal na geração de osteoporose.

Segundo Tanaka et al.<sup>91</sup> (2000) as forças mecânicas decorrentes dos esforços oclusais e as cargas geradas pela mastigação podem suprimir a reabsorção e a conseqüente redução da BMD provocada pela OVX. Outros autores (ELOVIC et al.<sup>15</sup>, 1995; KURODA et al.<sup>50</sup>, 2003; PATULLO et al.<sup>72</sup>, 2001) também sugerem que a função mastigatória pode proteger a mandíbula da perda de sua integridade estrutural, uma vez que Shimahara et al.<sup>83</sup> (1991), ao imobilizar a mandíbula de ratas, observaram a presença de um quadro de osteopenia.

Quanto à avaliação da progressão da doença periodontal induzida, a comparação das medidas de perda óssea, por meio de radiografias digitais, medindo-se a distância da crista óssea à junção

cimento-esmalte, revelou diferenças expressivas entre as hemimandíbulas com e sem indução de doença periodontal (Tabela 6 e Figura 20). Tal resultado é reportado na literatura pertinente quando da colocação de irritante gengival ao redor do colo dentário (BEZERRA et al.<sup>8</sup>, 2000; JOHNSON<sup>38</sup>, 1975).

O modelo de indução de doença periodontal utilizando-se ligaduras constitui um método largamente utilizado, eficaz, de baixo custo e de fácil execução em animais de experimentação (JOHNSON<sup>38</sup>, 1975; ROVIN et al.<sup>79</sup>, 1966; CARRANZA et al.<sup>9</sup>, 1969; CARRANZA et al.<sup>10</sup>, 1971).

A suposição de que o trauma mecânico que a ligadura pode provocar poderia ser responsável pela perda de tecido periodontal de suporte, observado nesses animais, foi afastada em estudos com animais “germfree”, revelando que a retenção de placa bacteriana sobre o fio de algodão promove um desequilíbrio da microbiota capaz de induzir doença periodontal (ROVIN et al.<sup>79</sup>, 1966).

A análise dos dados relativos à comparação das medidas de perda óssea entre os grupos “SHAM” e OVX apontaram evidências de igualdade estatística entre os grupos. Alguns fatores podem justificar tal achado como a fase em que foi realizada a indução de doença periodontal e a grande variabilidade aos dados vista no grupo 4 (Tabela 7).

A leitura da literatura indica que a fase na qual as transformações ósseas ocorrem mais pronunciadamente seria logo no início do período subsequente à deficiência estrogênica (KALU<sup>41</sup>, 1991; OMI; EZAWA<sup>68</sup>, 1995). Em nosso estudo, devido ao protocolo experimental da avaliação dos animais 5 meses pós-OVX, as ligaduras foram colocadas somente após 120 dias do baseline, pelo fato de poderem ser mantidas por um período de 30 dias. Dessa forma, não houve influência do período inicial pós-OVX sobre a perda óssea periodontal.

A periodontite consiste em inflamação e infecção nos tecidos de suporte dos dentes que usualmente leva à perda de tecido ósseo e do ligamento periodontal. Várias doenças e condições metabólicas, incluindo a osteoporose, são descritas como fatores de risco à doença periodontal (GENCO; LÖE<sup>23</sup>, 1993).

Alguns estudos em humanos têm demonstrado a existência de uma relação entre perda dentária, menor BMD mandibular e quadro de osteoporose sistêmica (DANIELL<sup>13</sup>, 1983; KRIBBS et al.<sup>49</sup>, 1990), porém a relação entre doença periodontal e osteopenia/osteoporose ainda é controversa.

A interpretação dos achados em estudos com humanos é complicada devido à grande variabilidade de metodologias empregadas, tanto para analisar a presença da osteoporose quanto da doença periodontal. Além disso, a maioria dos estudos são transversais, limitando

a disponibilidade de informações sobre qual das doenças estudadas precedeu o exame. Sendo a osteoporose/osteopenia e a doença periodontal doenças crônicas, que resultam em reabsorção óssea, há a possibilidade de uma delas estar presente previamente à pesquisa. Além disso, as amostras populacionais geralmente são pequenas e convenientes, as comparações apresentam controle inadequado dos fatores de confusão e os métodos utilizados para medida de perda óssea não apresentam precisão suficiente, limitando o entendimento da natureza do problema.

Outra justificativa é que a osteoporose e a doença periodontal são doenças crônicas e multifatoriais, que afetam grande número de indivíduos e que apresentam fatores de risco em comum, como: idade, tabagismo, alcoolismo e baixa ingestão de cálcio e vitaminas (GROSSI et al.<sup>28</sup>, 1994).

Dessa forma, a evidência da existência de correlação entre a presença de osteoporose e destruição periodontal é limitada, no momento, sendo necessário o desenvolvimento de grandes estudos longitudinais para esclarecimento da real natureza dessas doenças.

Ressalta-se novamente a importância dos estudos em animais, procurando-se evidenciar os fatores desencadeadores de perda de massa óssea em animais com deficiência hormonal, bem como as medidas terapêuticas que podem frustrar esse processo.

Assim, ciente das limitações encontradas neste estudo, assim como na literatura compulsada, quanto à avaliação da influência a perda de massa óssea sobre a doença periodontal induzida, entende-se como necessária a realização de novos estudos relativos a este tema em particular.

*Conclusão*

## 7. Conclusão

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

- A ooforectomia resultou em alterações na densidade mineral óssea do fêmur, porém, não foram constatadas alterações na densidade óssea mandibular.
- Não houve diferença entre os grupos, ooforectomia e “SHAM” quanto à doença periodontal induzida.
- A DXA demonstrou ser um método preciso na detecção de alterações na densidade óssea do fêmur em ratas ooforectomizadas.
- O período experimental de 5 meses pós-ooforectomia se mostrou efetivo para desencadeamento de perda de massa óssea no fêmur.

## *Referências*

## 8. Referências<sup>\*</sup>

- 1) ABBASI-JAHROMI, S.H. et al. Bone quality factor analysis: a new noninvasive technique for the measurement of bone density and bone strength. **J. Bone Miner. Res.**, New York, v.11, n.5, p.594-599, May.1996.
- 2) AITKEN, J.M.; ARMSTRONG, E.; ANDERSON, J.B. Osteoporosis after oophorectomy in the mature female rat and the effect of estrogen and/or progestogen replacement therapy in its prevention. **J. Endocrinol.**, Great Britain, v.55, n.1, p.79-87, Oct.1972.
- 3) ALBRIGHT, F. et al. Postmenopausal osteoporosis. Its clinical features. **J.A.M.A.**, Chicago, v.116, p. 2465-2474, 1941.
- 4) ALDRIGHI, J.M. Manifestações clínicas – Climatério, **ARS Cvandi**. suplemento especial, v.1, p.79-87, 1972.
- 5) AMMANN, P. et al. Sequential and precise in vivo measurement of bone mineral density in rats using dual-energy X-ray absorptiometry. **J. Bone Miner. Res.**, New York, v.7, n.3, p.311-316, Mar.1992.
- 6) BARON, R.; TRESS, R.; VIGNERY, A. Evidence of sequential remodeling in rat trabecular bone: morphology, dynamic histomorphometry and changes during skeletal maturation. **Anat. Rec.**, New York, v. 208, n. 1, p. 137-145, Jan, 1984.

---

<sup>\*</sup> Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 6023**: informação e documentação – referências - elaboração. Rio de Janeiro: 2002.24p.

- 7) BARON, R. Anatomy and ultrastructure of bone. In: **primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism**. 3rd ed., New York: Lippincott Raven, 1996.
- 8) BEZERRA, M.M. et al. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 71, n. 6, p. 1009-1014, June, 2000.
- 9) CARRANZA, F.A., et al. Effect of combined etiologic factors in experimental periodontal lesions. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v. 4, n.4, p. 33-34, 1969.
- 10) CARRANZA, F.A., et al. Histometric evaluation of periodontal bone loss in rats. The effect of marginal irritation, systemic irritation and trauma from occlusion. **J. Periodontal. Res.**, Copenhagen, v. 6, n.1, p. 65-72, 1971.
- 11) CHOW, J. et al. Estrogen maintains trabecular bone volume in rats not only by suppression of bone resorption but also by stimulation of bone formation. **J.Clin. Invest.**, New Haven, v.89, p.74-78, Jan. 1992.
- 12) CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON OSTEOPOROSIS. **Am. J. Med.**, New York, v.95A, n.5A, p.5A-1S-5A-16S, Nov. 1993.
- 13) DANIELL, H.W. Postmenopausal tooth loss – contributions to edentulism by osteoporosis and cigarette smoking. **Arch. Intern. Med.**, Chicago, v. 143, n.9, p. 678-1682, Sept. 1983.

- 14) DEVLIN, H.; FERGUSON, M.W.J. The rate of incisor dentine calcification and of mandibular growth in the molar region of the ovariectomized rat. **Archs. Oral Biol.**, Great Britain, v.35, n.1, p.29-32, 1990.
- 15) ELOVIC, R.P.; HIPPEL, J.A.; HAYES, W.C. Ovariectomy decreases the bone area fraction of the rat mandible. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v. 56, n.4, p.305-310, Apr.1995.
- 16) ERIKSON, E.F. et al. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. **Science**, Washington, v.241, n.4861, p.84-86, July 1988.
- 17) ERNST, M., SCHIMID, C., FROESCH, E.R. Enhanced osteoblast proliferation and collagen gene expression by estradiol. **Proc. Natl. Acad. Sci.** Washington, v.5, n.7 , p.2307-10, Apr.1998.
- 18) FRIEDLANDER, A. H. The physiology, medical management and oral implications of menopause. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.133, n.1, p.73-81, Jan. 2002.
- 19) FROST, H. M. Postmenopausal osteoporosis: a disturbance in osteoclasia. **J. Am. Geriatr. Soc.**, New York, v.9, p.1078-1085, Dec. 1961.
- 20) FROST, H. M.; JEEW, S.S. – On the rat model of human osteopenias and osteoporosis. **Bone Miner.**, Amsterdam, v.18, n.3, p.227-236, Sept. 1992.

- 21) GANONG, W.F. **Fisiologia Médica**. Rio de Janeiro; Editora Guanabara Koogan, 1995.
- 22) GASS, G.H.; KAPLAN, H. M. **Handbook of endocrinology**, Flórida, CRC Press, 1987.
- 23) GENCO, R.J., LÖE, H. The role of systemic conditions and disorders in periodontal disease. **Periodontol 2000**, Munksgaard, v.2, p. 98-116, 1993.
- 24) GILLES, J.A. et al. Oral bone loss is increased in ovariectomized rats. **J. Endod.**, Baltimore, v.23, n.7, p.419-422, July 1997.
- 25) GNUDI, S. et al. Evaluation of an experimental model of osteoporosis induced in the female rat through ovariectomy. **Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.**, Napoli, v.69, n.7-8, p.461-468, July-Aug.1993.
- 26) GRIER, S.J.; TURNER, A. S.; ALVIS, M. R. The use of Dual-Energy X ray absorptiometry in animals. **Invest. Radiol.**, Philadelphia, v.31, n.1, p.50-62, 1996.
- 27) GRIFFIN, M.G. et al. Dual-energy x-ray absorptiometry of the rat: Accuracy, precision and measurement of bone loss. **J. Bone Miner. Res.**, New York, v.8, n. 7, p.795-800, July 1993.
- 28) GROSSI, S.G. et al. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 65, n.3, p.260-267, Mar, 1994.

- 29) GROSSI, S.G. et al. Skeletal osteopenia increases the risk for periodontal disease. **J. Dent. Res.**, v. 77, p. 899, 1998. IADR Abstracts.
- 30) HEANEY, R.P.; WHEDON, G.D. Radiocalcium studies of bone formation rate in human metabolic bone disease. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Springfield, v.18, n.11, p.1246-1267, Nov.1958.
- 31) HEANEY, R.P. A unified concept of osteoporosis. **Am. J. Med.**, New York, v.39, n.6, p.377-380, Dec.1965.
- 32) HIRAI, T. et al. Osteoporosis and reduction of residual ridge in edentulous patients. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.69, n.1, p.49-56, Jan. 1993.
- 33) HORNER, K. et al. Mandibular bone mineral density as a predictor of skeletal osteoporosis. **Br. J. Radiol.**, London, v. 69, n. 827, p. 1019-1025, Nov. 1996.
- 34) HSIEH, Y.D.; DEVLIN, H.; McCORD, F. The effect of ovariectomy on the healing tooth socket of the rat. **Archs. Oral Biol.**, Great Britain, v.40, n.6, p. 529-531, June 1995.
- 35) HUNZIKER, J. et al. Mandibular bone formation rates in aged ovariectomized rats treated with anti-resorptive agents alone and in combination with intermittent parathyroid hormone. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.79, n. 6, p. 1431-38, June 2000.

- 36) INAGAKI, K. et al. Low metacarpal bone density, tooth loss, and periodontal disease in Japanese women. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.80, n. 9, p. 1818-1822, Sept. 2001.
- 37) JACOBS, R. et al. Long-term bone mass evaluation of mandible and lumbar spine in a group of women receiving hormone replacement therapy. **Eur. J. Oral Sci.**, Munksgaard, v.104, n.1, p.10-16, Feb.1996.
- 38) JOHNSON, I.H. Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. **J. Periodontal. Res.**, Copenhagen, v. 10, n.6, p. 332-345, Dec.1975.
- 39) KALU, D.N.; HARDIN, R.R.; COCKERHAM, R. Evaluation of the pathogenesis of skeletal changes in ovariectomized rats. **Endocrinology**, Springfield, v.115, n. 2, p.507-12, Aug. 1984.
- 40) KALU, D.N. et al. The aged rat model of ovarian hormone deficiency bone loss. **Endocrinology**, Springfield, v.124, n. 1, p.7-16, Jan.1989.
- 41) KALU, D.N. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. **Bone Miner.**, Amsterdam, v.15, n.3 , p.175-192, Dec. 1991.
- 42) KANIS, J.A. **Textbook of osteoporosis**, 1.ed., Oxford: Blackweel Science Ltd, 1996.
- 43) KIMMEL, D.B.; WRONSKI, T. J. Nondestructive measurement of bone mineral in femurs from ovariectomized rats. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.46, n.2, p.101-110, Feb.1990.

- 44) KLAUSEN, B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 62, n.1, p.59-73, Jan. 1991.
- 45) KLEMETTI, E. et al. Trabecular bone mineral density of mandible and alveolar height in postmenopausal women. **Scand. J. Dent. Res.**, Munksgaard, v. 101, n.3, p. 166-170, June 1993.
- 46) KRIBBS, P.J.; SMITH, D. E.; CHESNUT III, C.H.. Oral findings in osteoporosis. Part II: relationship between residual ridge and alveolar bone resorption and generalized skeletal osteopenia. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.50, n.5, p.719-724, Nov.1983.
- 47) KRIBBS, P.J. et al. Relationships between mandibular and skeletal bone in an osteoporotic population. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.62, n.6, p.703-707, Dec.1989.
- 48) KRIBBS, P.J. et al. Relationships between mandibular and skeletal bone in a population of normal women. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.63, n.1, p.86-89, Jan.1990.
- 49) KRIBBS, P.J. Comparison of mandibular bone in normal and osteoporotic women. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.63, n.2, p.218-222, Feb.1990.
- 50) KURODA, S. et al. Bone mineral density of the mandible in ovariectomized rats: analyses using dual energy x-ray absorptiometry and peripheral quantitative computed tomography. **Oral Dis.**, Copenhagen, v. 9, n.1, p.24-28, Jan. 2003.

- 51) LU, P.W. et al. DXA for bone density measurement in small rats weighing 150-250 grams. **Bone**, New York, v.15, n.2, p.199-202, Mar-Apr. 1994.
- 52) LUNDSTRÖM, A. et al. Periodontal conditions in 70-year-old women with osteoporosis. **Swed. Dent. J.**, Jonkoping, v.25, n.3, p.89-96, 2001.
- 53) MARQUES, K.P. **Avaliação microscópica das estruturas periodontais e morfologia óssea alveolar em ratas ovariectomizadas**. 1998.120p. Tese (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, São Paulo, 1998.
- 54) MILLER, S.C.; BOWMAN, B. M.; JEE, S.S. Available animal models of osteopenia - small and large. **Bone**, New York, v.17, n.4, p.117S-123S, Oct. 1995.
- 55) MOORE, David. **Estatística e sua prática**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora, 2000.
- 56) MORENO, C.G. et al. Heterogeneous decrease of bone mineral density in the vertebral column of ovariectomized rats. **Bone**, New York, v.16, n.4, p.295S-300S, Apr.1995.
- 57) MORIYA, Y.; ITO, K.; MURAI, S. Effects os experimental osteoporosis on alveolar bone loss in rats. **J. Oral Sci.**, Tokyo, v.40, n.4, p. 171-175, Dec. 1998.

- 58) MORRISON, N. A. et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. **Nature**, London, v. 367, n. 6460, p. 284-287, Jan. 1994.
- 59) MOSEKILDE, L. Assessing bone quality – animal models in preclinical osteoporosis research. **Bone**, New York, v.17, n.4, p.343S-352S, Oct.1995.
- 60) MUNDY, G.R. Role of cytokines in bone resorption, **J. Cell. Biochem.**, New York, v. 53, n.4, p. 296-300, Dec. 1993.
- 61) NOCITI JR, F.H. et al. The influence of nicotine on the bone loss rate in ligature-induced periodontitis. A histometric study in rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 71, n. 9, p. 1460-1464, Sept. 2000.
- 62) NORDERYD, O.M. et al. Periodontal status of women taking postmenopausal estrogen supplementation. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 64, n.10, p.957-962, Oct.1993.
- 63) NORDIN, B.E.C. Osteoporosis. **Adv. Metab. Dis.**, v.15, p.125-151, 1964.
- 64) NORDIN, B.E.C. – The definition and diagnosis of osteoporosis. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.40, n.3, p.57-58, Mar. 1987.
- 65) NYMAN, S.; SCHROEDER, H.E.; L'INDHE, J. Suppression of inflammation and bone resorption by indomethacin during experimental periodontitis in dogs. **J. Periodontol.**, Chicago, v.50, n.9, p.450-461, Sept, 1979.

- 66) OKUDA, T. et al. The effect of ovariectomy on the temporomandibular joints of growing rats. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v.54, n.10, p.1201-1210, Oct. 1996.
- 67) OLIVEIRA, L.G. Osteoporose - **Guia para diagnóstico, prevenção e tratamento**. Revinter, 2002.
- 68) OMI, N.; EZAWA, I. The effect of ovariectomy on bone metabolism in rats. **Bone**, New York, v.17, n.4, p.163-168, Oct. 1995.
- 69) PAGE, R.C.; SCHROEDER, H.E. **Periodontitis in man and other animals**. Basel: Karger, 1982.
- 70) PANIAGUA, J. G. et al. Bone mass assessment in rats by dual energy x-ray absorptiometry. **Br. J. Radiol.**, London, v. 71, p.754-758, July,1998.
- 71) PARFITT A.M. The quantum concept of bone remodeling and turnover. Implications for the pathogenesis of osteoporosis. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.28, n.1, p.1-5, Aug. 1979.
- 72) PATULLO, I.M. F. **Análise comparativa entre o efeito da osteoporose experimental sobre o osso longo e o da articulação temporomandibular**. 2001. 60p Tese (Mestrado em ciências) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

- 73) PAYNE, J.B. et al. The association between estrogen status and alveolar bone density changes in postmenopausal women with a history of periodontitis. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 68, n.1, p. 24-31, Jan.1997.
- 74) PAZ, L.H.B.C. et al. Effect of  $17\beta$ -estradiol or alendronate on the bone densitometry, bone histomorphometry and bone metabolism of ovariectomized rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, São Paulo, v.34, n.8, p. 1015-1022, 2001.
- 75) PETERSEN, M.M. et al. Dual energy X-ray absorptiometry in small rats with low bone mineral density. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.67, n.6, p.455-459, Dec. 2000.
- 76) RICO, H. et al. Effects of promethazine on bone mass and on bone remodeling in ovariectomized rats: a morphometric, densitometric, and histomorphometric experimental study. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.65, p.272-275, 1999.
- 77) RIGGS, B.L.; MELTON L. Evidence for two distinct syndromes of involutional osteoporosis. **Am. J. Med.**, New York, v.75, n.6, p.899-901, Dec.1983.
- 78) ROMANOWSKI, A.W.; SQUIER, C.A.; LESCH, C.A. Permeability of rodent junctional epithelium to exogenous protein. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v.23, n.2, p.81-86, Mar.1988.

- 79) ROVIN, S.; COSTICH, E.R.; GORDON, H.A. The influence of bacteria and irritation on the initiation of periodontal disease in germfree and conventional rats. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v.1,n.3, p.193-203, 1966.
- 80) SALLAY, K. et al. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v.17, n.3, p.263-274, May. 1982.
- 81) SAVILLE, P.D. Changes in skeletal mass and fragility with castration in the rat: a model of osteoporosis. histomorphometry in ovariectomized rats with established osteopenia. **J. Am. Geriatr. Soc.**, New York, v.17, n.2, p. 155-69, Feb.1969.
- 82) SHEN, V. et al. Effects of combined and separate intermittent administration of low-dose human parathyroid hormone fragment (1-34) and 17 $\beta$  estradiol on bone histomorphometry in ovariectomized rats with established osteopenia. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.50, n.2, p.214-20, Feb. 1992.
- 83) SHIMAHARA, M. et al. An experimental study on mandibular movement and osteoporosis. **Res. Commun. Chem. Pharmacol.** Westbury, v.74, n.3, p.287-297, Dec. 1991.
- 84) SONES, A.D.; WOLINSKY, L.E.; KRATOCHVIL, F.J. Osteoporosis and mandibular bone resorption in the sprague dawley rat. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.39, n.4, p.267-270, Oct. 1986.

- 85) STEVENSON, J. C. et al. Calcitonin and the calcium regulating hormones in postmenopausal women: effects of estrogens. **Lancet**, London, v.1, n.8222, p.693-695, Mar. 1981.
- 86) SUDA, T; MIYAURA, C. – Pathogenesis of bone loss due to estrogen deficiency. **Osteoporosis Int.**, London, v.3, suppl.3, p.43-46, 1977.
- 87) TAGUCHI, A. et al. Tooth loss and mandibular osteopenia. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.79, n.1, p.127-132, Jan. 1995.
- 88) TAKATA, T. et al. Penetration and uptake of colloidal gold-labeled concanavalin a in the junctional epithelium of the rat. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 59, n.12, p. 823-829, Dec, 1988.
- 89) TANAKA, M. et al. The effect of aging and ovariectomy on mandibular condyle in rats. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.79, n.6, p.685-690, June, 1998.
- 90) TANAKA, M. et al. Changes of cancellous bone mass in rat mandibular condyle following ovariectomy. **Bone**, New York, v.25, n.3, p.339-347, Sept, 1999.
- 91) TANAKA, M. et al. Region-specific bone mass changes in rat mandibular condyle following ovariectomy. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.79, n.11, p.1907-1913, Nov. 2000.

- 92) TANAKA, M et al. Effects of ovariectomy on trabecular structures of rat alveolar bone. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v.37, n.2, p.161-165, Apr. 2002.
- 93) THOMPSON, D.D. et al. FDA guidelines and animal models for osteoporosis. **Bone**, New York, v. 17, suppl.4, p.125S-133S, Oct, 1995.
- 94) THORNDIKE, E. A.; TURNER, A.S. In search of an animal model for postmenopausal diseases. **Front. Biosci.**, Tampa, v.16, n.3, p.17-26, Apr. 1998.
- 95) TIEGS, R.D. et al. Calcitonin secretion in postmenopausal osteoporosis. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.312, n.17, p.1097-1100, Apr. 1985.
- 96) TURNER, R.T.; RIGGS, B.L.; SPELSBERG, T.C. Skeletal effects of estrogen. **Endocr. Rev.**, Baltimore, v.15, n.3, p.275-300, June, 1994.
- 97) VÄÄNÄNEN, H.K. Mechanism of bone turnover. **Ann. Med.**, Stockholm, v.25, p. 353-359, 1993.
- 98) von WOWERN, N.; KOLLERUP, G. Symptomatic osteoporosis: a risk factor for residual ridge reduction of the jaws. **J. Prosthet. Dent.**, St. Louis, v.67, n.5, p.656-660, May.1992.
- 99) von WOWERN, N.; KLAUSEN, B.; KOLLERUP, G. Osteoporosis: a risk factor in periodontal disease. **J. Periodontol.**, Chicago, v.65, n.12, p.1134-1138, Dec.1994.

- 100) WRONSKI, T.J. et al. Skeletal alterations in ovariectomized rats. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.37, n.3, p.324-328, May.1985.
- 101) WRONSKI, T.J. et al. Effect of body weight on osteopenia in ovariectomized rats. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.40, n.3, p.155-159, Mar. 1987.
- 102) WRONSKI, T.J. et al. Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. **Endocrinology**, Springfield, v.123, n.2, p.681-686, Aug.1988.
- 103) WRONSKI, T.J.; CINTRON, M.; DANN, L.M. Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovariectomized rats. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.43, n.3, p.179-183, Sept.1988.
- 104) WRONSKI, T.J. et al. Long-term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. **Calcif. Tissue Int.**, New York, v.45, n.6, p.360-366, Dec. 1989.
- 105) WRONSKI, T.J.; YEN, C.F. The ovariectomized rat as an animal model for postmenopausal bone loss. **Cells and Materials**, Chicago, suppl.1, p.69-74, 1991.
- 106) YAMANDA, M. et al. Mandibular condyle bone mineral density measurement by quantitative computed tomography: a gender-related difference in correlation to spinal bone mineral density. **Bone**, New York, v.21, n. 5, p.441-445, Nov. 1997.

- 107) YAMASHIRO, T.; TAKANO-YAMAMOTO, T. Differential responses of mandibular condyle and fêmur to oestrogen deficiency in Young rats. **Archs. Oral Biol.**, Oxford, v.43, n.3, p.191-195, Mar. 1998.
- 108) YAMASHIRO, T.; TAKANO-YAMAMOTO, T. Influences of ovariectomy on experimental tooth movement in the rat. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.80, n.9, p.1858-1861, Sept. 2001.
- 109) YAMAZAKI, I.; YAMAGUCHI, H. Characteristics of an ovariectomized osteopenic rat model. **J. Bone Miner. Res.**, New York, v.4, n.1, p.13-22, Feb. 1989.
- 110) ZAR, Jerrold H. **Biostatistical analysis**. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 663p.

*Anexos*

## ARTIGO

Influência da Perda de Massa Óssea Sobre a Doença Periodontal Induzida. Estudo Radiográfico e Densitométrico em Ratas.

Autores

- Silvana Regina Perez Orrico, D.D.S., M.S., Ph.D., Assistant Professor <sup>\*</sup>
- Daniela Gonçalves, D.D.S., M.S. <sup>\*</sup>
- Solange Teresinha Galeazzi, D.D.S., M.S., Ph.D. <sup>\*</sup>
- Gabriela Giro, D.D.S. <sup>\*</sup>
- Rosa Maria Pereira, D.D.S., M.S., Ph.D., Assistant Professor <sup>+</sup>

<sup>\*</sup> Departamento de Cirurgia e Diagnóstico, Disciplina de Periodontia; Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP

<sup>+</sup> Departamento de Reumatologia, Faculdade de Medicina de São Paulo – USP.

### ***Autor para Correspondência:***

Silvana Regina Perez Orrico, DDS, PhD, Departamento de Cirurgia e Diagnóstico, Disciplina de Periodontia; Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP

Rua Humaitá, 1680, Centro, Caixa postal: 331, Araraquara, SP, Brazil, CEP: 14801-903. Phone/Fax: 55 (16) 201-6369, e-mail: [s-orrigo@foar.unesp.br](mailto:s-orrigo@foar.unesp.br)

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar possíveis alterações na densidade mineral óssea mandibular (BMD) e femoral decorrentes da deficiência de estrógeno promovida pela ooforectomia (OVX), e a influência dessas alterações sobre a doença periodontal induzida em ratas. Quarenta e oito ratas,

Holtzman, (90 dias), foram distribuídas em 5 grupos: controle (n=9); 1 “SHAM” sem indução de doença periodontal (n=11); 2 “SHAM” com indução (n=10); 3 OVX sem indução (n=9) e 4 OVX com indução (n=9). Nos animais pertencentes aos grupos 2 e 4, após 120 dias, foram colocadas ligaduras nos primeiros molares inferiores permanecendo por 30 dias. Após 5 meses, os animais foram sacrificados. Foram efetuadas medidas de BMD global e de sub-regiões da mandíbula e do fêmur. Foram avaliadas, por meio de radiografias digitais, a presença ou ausência de perda óssea vertical, medindo-se a distância da crista óssea à junção cimento-esmalte na mesial do primeiro molar inferior. A análise dos resultados, pelo teste de Kruskal-Wallis, do fêmur demonstrou diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre os grupos “SHAM” e “OVX” quanto aos valores de densidade óssea, para todas as regiões. A comparação entre os grupos Controle, “SHAM” e OVX em relação à BMD da mandíbula nas sub-regiões e Global (DXA), não demonstrou diferenças entre si ( $p > 0,05$ ). As medidas de perda óssea vertical para os grupos “SHAM” e OVX com indução demonstraram igualdade entre os grupos ( $p = 0,713$ ). Foram verificadas diferenças entre os grupos quanto a BMD do fêmur, porém não em relação à mandíbula. A OVX não influenciou a doença periodontal induzida.

**Palavras chave:** Ooforectomia; doença periodontal; DXA.

## INTRODUÇÃO

A osteoporose pós-menopausa constitui um sério problema de saúde pública no mundo todo. É uma condição que ocorre principalmente em mulheres após a menopausa, devido à perda de função ovariana e conseqüente

redução de estrogênio, culminando com alterações neurovegetativas, psicológicas, tróficas e metabólicas <sup>1</sup>.

A Organização Mundial de Saúde define a osteoporose como uma doença generalizada do esqueleto, caracterizada pela diminuição da massa óssea e pela deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, acarretando fragilidade e, portanto, aumento do risco de fratura <sup>2</sup>.

A ooforectomia (OVX) em ratas induz à osteopenia <sup>3-5</sup>, e tem sido o método mais utilizado para se obter um modelo animal de osteoporose pós-menopausa <sup>6-8</sup>, demonstrando que a falta de estrogênio por longo período de tempo leva a uma diminuição da densidade mineral óssea (BMD).

A densitometria óssea, pela Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DXA), constitui um método prático, largamente utilizado para diagnóstico de osteoporose. Estudos, inclusive em animais, demonstram ser esse um método altamente preciso <sup>2,9</sup>.

Poucos estudos em humanos foram encontrados avaliando o efeito da osteoporose sobre os maxilares <sup>10-16</sup>. Os achados mais frequentes consistem em menor densidade óssea mandibular <sup>12,13,16</sup>, severa reabsorção de rebordo residual <sup>10,15</sup> e maior número de dentes perdidos <sup>11,14</sup>.

O presente estudo teve como objetivo avaliar possíveis alterações na densidade mineral óssea mandibular e femoral decorrentes da deficiência de estrógeno promovida pela OVX, e a influência dessas alterações sobre a doença periodontal induzida em ratas.

## MATERIAL E MÉTODO

### Animais

Quarenta e oito ratas (*Rattus norvegicus albinus*, Holtzman), com idade de 90 dias, provenientes do biotério central da Universidade Estadual Paulista, Brasil, sendo esta pesquisa previamente aprovada pelo Comitê de Ética desta Faculdade.

Inicialmente os animais foram aleatoriamente divididos e mantidos em gaiolas de propileno, sendo alimentados com ração sólida e água ad libitum.

Os animais foram distribuídos em 5 grupos: Grupo 0 – controle (n=9), Grupo 1- “SHAM” sem indução de doença periodontal (n=11), Grupo 2 “SHAM” com indução de doença periodontal (n=10), Grupo 3- OVX sem indução de doença periodontal (n=9) e Grupo 4- OVX com indução de doença periodontal (n=9).

### Procedimento cirúrgico

Nove animais foram sacrificados no baseline para que fosse obtido um padrão de comparação das alterações observadas ao final do período. Os animais restantes foram anestesiados via intramuscular, empregando-se Cloridrato de Ketamina\* 0,08ml/100g de massa corpórea e Cloridrato de Xylazina† 2%: 0,04ml/100g massa corpórea. Destes, 18 animais foram submetidos à cirurgia de OVX para remoção bilateral dos ovários e 21 à cirurgia simulada

---

\* Francotar – Virbac - Brasil

† Virbaxyl – Virbac - Brasil

“SHAM”, sendo os ovários exteriorizados e recolocados na posição original, com o objetivo de simular o estresse cirúrgico.

Após os atos cirúrgicos todos os animais receberam aplicação única de 1ml/Kg de antibiótico<sup>‡</sup> para animais de pequeno porte. Após 12 horas da primeira aplicação pré-cirúrgica, o analgésico<sup>§</sup> foi reaplicado na mesma dosagem.

Para os animais pertencentes aos grupos 2 e 4, após um período de 120 dias, foram colocadas ligaduras de fio de algodão<sup>\*\*</sup> nos primeiros molares inferiores do lado direito, para indução de doença periodontal.

Finalizado o período de 5 meses, os animais foram mortos com injeção intraperitoneal de Hidrato de Cloral a 20%, sendo então removidos a mandíbula, o fêmur e o útero. Os espécimes foram colocados em frascos codificados contendo formol tamponado. Após 48 horas foram realizados exames radiográficos, sendo posteriormente enviadas as peças ao laboratório para tramitação de rotina.

Os úteros foram removidos para constatação da efetividade da OVX. Sendo que os animais do grupo OVX apresentaram os úteros atróficos e anêmicos enquanto que os do grupo “SHAM” apresentaram-se róseos e volumosos.

### **Avaliação Densitométrica por DXA**

A densitometria óssea foi realizada por Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DXA) utilizado-se o densitômetro QDR 2000 Hologic, empregando-se o software “Small animal”, fornecido pelo próprio fabricante do

---

<sup>‡</sup> Pentabiótico – Fort Dodge - Brasil

<sup>§</sup> Rimadyl – Pfizer - Brasil

aparelho, no modo High Resolution. A técnica foi padronizada, sendo a mandíbula posicionada com a porção lingual para cima e o fêmur com a porção proximal, tendo-se o cuidado de colocar as peças sempre na mesma posição.

Foram efetuadas medidas de BMD global e de sub-regiões da hemimandíbula esquerda e do fêmur assim determinadas: global; R1 - região do côndilo mandibular; R2 - margem inferior do corpo mandibular (excluindo a região relativa aos dentes) e R3 - região incisal da mandíbula (área mesial ao primeiro molar, excluindo a região relativa ao incisivo) e para o fêmur: global; R1 - epífise distal; R2 – epífise proximal e R3 - diáfise.

### **Avaliação Radiográfica**

As imagens radiográficas das hemimandíbulas direita e esquerda e fêmures foram obtidas por meio de um sistema de imagem digital direta - CDR (Computed Dental Radiography for Microsoft Windows, Shick Tyechmologies, Inc., Dialom Dental Products.), o qual utiliza um sensor eletrônico em substituição ao filme radiográfico. O sensor foi exposto à tomada radiográfica a uma potência de 70KVp e 10mA, com tempo de exposição de 15 impulsos/segundo com uma distância foco-sensor padronizada em 70cm.

Para avaliar radiograficamente a presença ou ausência de perda óssea vertical, foram realizadas medidas da crista óssea à junção cimento-esmalte na mesial do primeiro molar inferior, de ambos os lados.

Para cada hemimandíbula foram realizadas 3 medidas, com intervalo de uma semana, por um mesmo examinador cego.

---

<sup>\*\*</sup> Marca Corrente

## **Análise Estatística**

- As Ferramentas estatísticas utilizadas foram:
  1. Cálculos de estatísticas descritivas;
  2. Testes não paramétricos: Teste de Wilcoxon, Teste de Kruskal-Wallis, Teste de Mann-Whitney e Teste de comparação múltipla.

## **RESULTADOS**

### **Observações Clínicas**

Inicialmente foram envolvidos 50 animais neste experimento, 10 em cada grupo. Entretanto alguns animais foram excluídos em consequência de falha na ooforectomia e da perda de ligaduras.

### **Análise Densitométrica**

A densitometria do fêmur, para todas as regiões, evidenciou diferença significativa entre os valores medianos de densidade óssea entre os grupos controle, “SHAM” e OVX (Tabela 1).

Já a comparação da densidade óssea da mandíbula demonstrou que para as regiões R2, R3 e Global o grupo controle foi estatisticamente diferente dos grupos “SHAM” e OVX com e sem indução, porém a região R1 não apresentou diferença entre os grupos (Tabela 2).

### **Análise de perda óssea vertical**

A comparação de perda óssea vertical entre mandíbula direita e esquerda revelou a presença de diferença nos grupos em que foi realizada a indução (Tabela 3). Porém, a comparação das medidas de perda óssea vertical entre grupos OVX e “SHAM” com indução (2 e 4) revelou igualdade entre os grupos ( $p=0,713$ ) (Tabela 4).

## DISCUSSÃO

A ooforectomia em ratas está bem estabelecida na literatura como o protocolo para indução de osteoporose mais prevalente e pertinente<sup>5,17,18</sup>, promovendo o estabelecimento de deficiência hormonal semelhante à da menopausa<sup>17,18</sup>.

Neste trabalho, o período de experimentação de 5 meses mostrou-se adequado para a detecção de alterações estatisticamente significativas na estrutura óssea do fêmur (Tabela 1); entretanto, a análise mandibular, pela DXA não demonstrou alterações significantes no período avaliado (Tabela 2). A escolha do período de 5 meses foi baseada no estudo de Kuroda<sup>29</sup> (2003) no qual este autor observou alterações na BMD mandibular por meio de pQCT, em um período de 109 dias.

Paz et al.<sup>20</sup>, em 2001, analisando ossos longos obtiveram resultados compatíveis de perda de massa óssea em 6 semanas, enquanto Moreno et al.<sup>21</sup> (1995) somente observaram resultado semelhante após 6 meses.

Uma preocupação nos diversos estudos refere-se à avaliação em ossos de diferentes regiões anatômicas na tentativa de correlacionar a perda óssea sistêmica com a perda óssea oral em ratas<sup>19,22,23</sup>. Neste trabalho realizou-se a análise da BMD em três regiões do fêmur e em três regiões da mandíbula de ratas OVX com o objetivo de detectar perda de massa óssea sistêmica e perda óssea oral.

Foi constatado que a BMD do fêmur, nos grupos 0, 3 e 4 (Grupos Controle e OVX) apresentou-se menor ( $p < 0,001$ ) em comparação aos grupos “SHAM” para as regiões Global, R1 e R2 (Tabela 1). Os resultados encontrados para os grupos OVX são concordantes com outros estudos e

pertinentes ao protocolo, uma vez que a OVX provoca alterações na estrutura óssea, resultando em menor densidade óssea, principalmente em ossos longos<sup>19,20,24</sup>.

Rico et al.<sup>24</sup> (1999) e Paz et al.<sup>20</sup> (2001) observaram resultados semelhantes aos do presente estudo, com valores de BMD femoral significativamente menores nos grupos OVX. Já o estudo de Kuroda et al.<sup>19</sup> (2003) aponta uma importante diferença no seu grau de detecção de perda de densidade óssea quando comparados os métodos de DXA (13,7%) e QCT (30%), evidenciando a importância e a precisão do método utilizado para avaliação.

Diferente dos resultados mencionados, Patullo<sup>22</sup>, em 2001, não encontrou diferenças estatisticamente significantes na BMD do fêmur e da mandíbula entre ratas OVX e “SHAM”, pela DXA. Esse resultado se deveu, provavelmente, ao curto período experimental empregado de 9 semanas.

A densitometria da mandíbula não apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos 1, 2, 3 e 4 em nenhuma das regiões analisadas: Global, R1, R2 e R3 (Tabela 2). Tais resultados corroboram os resultados de Elovic et al.<sup>25</sup> (1995), Yamashiro; Yamamoto<sup>23</sup> (1998) e Tanaka et al.<sup>26</sup> (1998) que sugerem a existência de diferentes respostas a OVX nos diversos tipos de ossos.

Tanaka et al.<sup>26</sup> (1998), ao utilizar um período experimental de 60 dias, não observou mudanças significativas na BMD do côndilo mandibular entre ratas OVX e “SHAM”, por meio da DXA, concordando com os achados de Yamashiro e Yamamoto<sup>23</sup> (1998), que sugeriram a existência de diferenças na resposta de fêmur e côndilo mandibular à deficiência de estrógeno, onde, por meio

de análise histomorfométrica, o osso condilar não foi afetado pela OVX, enquanto o fêmur apresentou decréscimo no volume ósseo.

Elovic et al.<sup>25</sup> (1995) ao investigarem a densidade óssea mandibular, por DXA, nos períodos experimentais de 14, 114 e 200 dias pós-OVX, também não encontraram alterações na BMD mandibular sugerindo possível atuação da função mastigatória na resistência desse osso à perda óssea.

Entretanto, Tanaka et al.<sup>27</sup> (2002) detectaram alterações no osso alveolar mandibular na região do septo interradicular do primeiro molar, de ratas OVX, por meio de análise histomorfométrica, histológica e microtrabecular. Em um período de 60 dias, foi observado maior espaço de separação entre as trabéculas, menor volume ósseo e menor número de trabéculas no grupo OVX em relação ao baseline e ao grupo “SHAM”.

A morfologia mandibular do rato apresentando o dente incisivo em constante erupção e os dentes molares em constante função podem ter limitado e/ou alterado a leitura da BMD pela DXA. Além disso, os incisivos ocupam uma grande área na mandíbula do rato, e durante a leitura da BMD global mandibular, o conteúdo mineral dos incisivos e molares é incluído. Como a remoção desses dentes por meio físico e/ou químico poderia alterar a densidade óssea, optou-se por excluir a região relativa aos dentes durante a seleção das áreas analisadas pela DXA, com exceção da medida da densidade global. Esse processo de exclusão, no entanto, torna-se complicado particularmente para leituras de sítios próximos aos elementos dentais.

Em nosso estudo, a região do côndilo mandibular (R1) foi a que apresentou o menor valor de BMD, em todos os grupos, porém não foram

observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos OVX e “SHAM” (Tabela 2).

Patullo <sup>22</sup> (2001) também não observou diferenças pronunciadas em relação à BMD da mandíbula e do fêmur, obtida por DXA, entre ratas OVX e “SHAM”. Já Kuroda et al.<sup>19</sup> (2003), ao analisar a região condilar, notou um decréscimo de 14% na BMD de ratas OVX em relação ao grupo “SHAM”, sugerindo que tal região seja mais susceptível a condições de deficiência de estrógeno.

Quanto à ausência de diferença entre os grupos na região do margem inferior mandibular, a presença de osso cortical juntamente com osso trabecular pode ter influenciado a leitura da densidade, pela DXA, tendo Kuroda et al.<sup>19</sup> (2003), já relatado a ausência de alterações expressivas em regiões onde há presença de osso cortical.

Em relação às medidas da BMD na região mesial ao primeiro molar, a dificuldade técnica do densitômetro em selecionar uma área óssea excluindo a região relativa aos dentes e o fato da grande proximidade do dente incisivo podem ter influenciado e/ou alterado a análise pela DXA, resultando em igualdade entre os grupos.

Outra justificativa é que a mandíbula suporta forças mecânicas produzidas pela carga oclusal e pela ação dos músculos mastigatórios, as quais contribuem para a manutenção da massa óssea, se opondo aos efeitos da deficiência hormonal na geração de osteoporose.

Segundo Tanaka et al.<sup>28</sup> (2000) as forças mecânicas decorrentes dos esforços oclusais e as cargas geradas pela mastigação podem suprimir a reabsorção e a conseqüente redução da BMD provocada pela OVX. Outros

autores <sup>19,22,25</sup> também sugerem que a função mastigatória pode proteger a mandíbula da perda de sua integridade estrutural, uma vez que Shimahara et al.<sup>29</sup> (1991), ao imobilizar a mandíbula de ratas, observaram a presença de um quadro de osteopenia.

Quanto à avaliação da progressão da doença periodontal induzida, a comparação das medidas de perda óssea, por meio de radiografias digitais, medindo-se a distância da crista óssea à junção cimento-esmalte, revelou diferenças expressivas entre as hemimandíbulas com e sem indução de doença periodontal (Tabela 3). Tal resultado é reportado na literatura pertinente quando da colocação de irritante gengival ao redor do colo dentário <sup>30,31</sup>.

O modelo de indução de doença periodontal utilizando-se ligaduras constitui um método largamente utilizado, eficaz, de baixo custo e de fácil execução em animais de experimentação <sup>31-34</sup>.

A suposição de que o trauma mecânico que a ligadura pode provocar poderia ser responsável pela perda de tecido periodontal de suporte ,observado nesses animais, foi afastada em estudos com animais “germfree”, revelando que a retenção de placa bacteriana sobre o fio de algodão promove um desequilíbrio da microbiota capaz de induzir doença periodontal <sup>34</sup>.

A análise dos dados relativos à comparação das medidas de perda óssea entre os grupos “SHAM” e OVX apontaram evidências de igualdade estatística entre os grupos (Tabela 4). Um fator que pode justificar tal achado é a fase tardia em que foi realizada a indução de doença periodontal.

O estudo de Omi e Ezawa <sup>35</sup>, (1995) indica que a fase na qual as transformações ósseas ocorrem mais pronunciadamente seria logo no início do período subsequente à deficiência estrogênica. Em nosso estudo, devido ao

protocolo experimental da avaliação dos animais 5 meses pós-OVX, as ligaduras foram colocadas somente após 120 dias do baseline, pelo fato de poderem ser mantidas por um período de 30 dias. Dessa forma, não houve influência do período inicial pós-OVX sobre a progressão da perda óssea periodontal.

Com base nos resultados deste trabalho, conclui-se que a ooforectomia resultou em alterações na densidade mineral óssea do fêmur, porém, não foram constatadas alterações na densidade óssea mandibular.

Não houve diferença entre os grupos, ooforectomia e “SHAM” em relação à doença periodontal induzida.

A DXA demonstrou ser um método preciso na detecção de alterações na densidade óssea do fêmur em ratas ooforectomizadas e o período experimental de 5 meses pós-ooforectomia se mostrou efetivo para desencadeamento de perda de massa óssea no fêmur.

## REFERÊNCIAS

- 1) ALDRIGHI, J.M. clinics manifestation – Climacteric, *ARS Cvandi* 1972;1:79-87.
- 2) CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON OSTEOPOROSIS. *Am. J. Med* 1993; 95A: 5A-1S- 5A-16S.
- 3) AITKEN, J.M.; ARMSTRONG, E.; ANDERSON, J.B. Osteoporosis after oophorectomy in the mature female rat and the effect of estrogen and/or progestogen replacement therapy in its prevention. *J. Endocrinol* 1972; 55:79-87.

- 4) WRONSKI, T.J. et al. Effect of body weight on osteopenia in ovariectomized rats. *Calcif. Tissue Int* 1987;40:155-159.
- 5) WRONSKI, T.J. et al. Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinology* 1988;123:681-686.
- 6) FROST, H. M.; JEEW, S.S. – On the rat model of human osteopenias and osteoporosis. *Bone Miner* 1992; 18:227-236.
- 7) GNUDI, S. et al. Evaluation of an experimental model of osteoporosis induced in the female rat through ovariectomy. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper* 1993;69:461-468.
- 8) WRONSKI, T.J.; YEN, C.F. The ovariectomized rat as an animal model for postmenopausal bone loss. *Cells and Materials* 1991;1:69-74.
- 9) GRIER, S.J.; TURNER, A. S.; ALVIS, M. R. The use of Dual-Energy X ray absorptiometry in animals. *Invest. Radiol* 1996;31:50-62.
- 10) DANIELL, H.W. Postmenopausal tooth loss – contributions to edentulism by osteoporosis and cigarette smoking. *Arch. Intern. Med* 1983;143:678-1682.
- 11) INAGAKI, K. et al. Low metacarpal bone density, tooth loss, and periodontal disease in Japanese women. *J. Dent. Res* 2001;80: 1818-1822.
- 12) JACOBS, R. et al. Long-term bone mass evaluation of mandible and lumbar spine in a group of women receiving hormone replacement therapy. *Eur. J. Oral Sci* 1996;104:10-16.

- 13) KLEMETTI, E. et al. Trabecular bone mineral density of mandible and alveolar height in postmenopausal women. *Scand. J. Dent. Res* 1993; 101: 166-170.
- 14) KRIBBS, P.J. Comparison of mandibular bone in normal and osteoporotic women. *J. Prosthet. Dent* 1990; 63:218-222.
- 15) von WOWER, N.; KOLLERUP, G. Symptomatic osteoporosis: a risk factor for residual ridge reduction of the jaws. *J. Prosthet. Dent* 1992; 67:656-660.
- 16) WOWER, N.; KLAUSEN, B.; KOLLERUP, G. Osteoporosis: a risk factor in periodontal disease. *J. Periodontol* 1994; 65:1134-1138.
- 17) KALU, D.N. et al. The aged rat model of ovarian hormone deficiency bone loss. *Endocrinology* 1989; 124:7-16.
- 18) KALU, D.N. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 1991; 15:175-192.
- 19) KURODA, S. et al. Bone mineral density of the mandible in ovariectomized rats: analyses using dual energy x-ray absorptiometry and peripheral quantitative computed tomography. *Oral Dis* 2003; 9:24-28.
- 20) PAZ, L.H.B.C. et al. Effect of 17 $\beta$ -estradiol or alendronate on the bone densitometry, bone histomorphometry and bone metabolism of ovariectomized rats. *Braz. J. Med. Biol. Res* 2001; 34:1015-1022.
- 21) MORENO, C.G. et al. Heterogeneous decrease of bone mineral density in the vertebral column of ovariectomized rats. *Bone* 1995; 16:295S-300S.

- 22) PATULLO, I.M. F. Análise comparativa entre o efeito da osteoporose experimental sobre o osso longo e o da articulação temporomandibular. [dissertation] – Faculdade de Medicina da University of São Paulo;2001.60p.
- 23) YAMASHIRO, T.; TAKANO-YAMAMOTO, T. Differential responses of mandibular condyle and fêmur to oestrogen deficiency in Young rats. *Archs. Oral Biol* 1998;43:191-195.
- 24) RICO, H. et al. Effects of promethazine on bone mass and on bone remodeling in ovariectomized rats: a morphometric, densitometric, and histomorphometric experimental study. *Calcif. Tissue Int* 1999;65:272-275.
- 25) ELOVIC, R.P.; HIPPI, J.A.; HAYES, W.C. Ovariectomy decreases the bone area fraction of the rat mandible. *Calcif. Tissue Int* 1995; 56:305-310.
- 26) TANAKA, M. et al. The effect of aging and ovariectomy on mandibular condyle in rats. *J. Prosthet. Dent* 1998;79:685-690.
- 27) TANAKA, M et al. Effects of ovariectomy on trabecular structures of rat alveolar bone. *J. Periodontal Res* 2002; 37:161-165.
- 28) TANAKA, M. et al. Region-specific bone mass changes in rat mandibular condyle following ovariectomy. *J. Dent. Res* 2000;79:1907-1913.
- 29) SHIMAHARA, M. et al. An experimental study on mandibular movement and osteoporosis. *Res. Commun. Chem. Phatol. Pharmacol* 1991;74:287-297.

- 30) BEZERRA, M.M. et al. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J. Periodonto*, 2000; 71:1009-1014.
- 31) JOHNSON, I.H. Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. *J. Periodontal. Res* 1975; 10:332-345.
- 32) CARRANZA, F.A., et al. Effect of combined etiologic factors in experimental periodontal lesions. *J. Periodontal. Res* 1969;4: 33-34.
- 33) CARRANZA, F.A., et al. Histometric evaluation of periodontal bone loss in rats. The effect of marginal irritation, systemic irritation and trauma from occlusion. *J. Periodontal. Res* 1971; 6: 65-72.
- 34) ROVIN, S.; COSTICH, E.R.; GORDON, H.A. The influence of bacteria and irritation on the initiation of periodontal disease in germfree and conventional rats. *J. Periodontal Res* 1966;1:193-203.
- 35) OMI, N.; EZAWA, I. The effect of ovariectomy on bone metabolism in rats. *Bone* 1995; 17:163-168.

Tabela 1 Aplicação dos testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e das comparações múltiplas para cada região do fêmur (Global, R1, R2 e R3). Valores apresentados segundo a ordem de grandeza da mediana.

| REGIÃO | GRUPO                  | n  | Mediana | Teste de Kruskal-Wallis | Comparações múltiplas* |
|--------|------------------------|----|---------|-------------------------|------------------------|
| Global | Controle (0)           | 9  | 0,216   | <b>p&lt;0,001</b>       | A                      |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,221   |                         | A                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,225   |                         | A                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,249   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,255   |                         | B                      |
| R1     | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,229   | <b>p&lt;0,001</b>       | A                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,230   |                         | A                      |
|        | Controle (0)           | 9  | 0,234   |                         | A                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,255   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,263   |                         | B                      |
| R2     | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,207   | <b>p&lt;0,001</b>       | A                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,219   |                         | A                      |
|        | Controle (0)           | 9  | 0,221   |                         | A                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,248   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,255   |                         | B                      |
| R3     | Controle (0)           | 9  | 0,201   | <b>p=0,003</b>          | A                      |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,229   |                         | B                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,235   |                         | B                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,244   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,248   |                         | B                      |

\* letras diferentes indicam grupos com características distintas.

Tabela 2 - Aplicação dos testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e das comparações múltiplas para cada região da mandíbula (Global, R1, R2 e R3).

Valores apresentados segundo a ordem de grandeza da mediana.

| REGIÃO | GRUPO                  | n  | Mediana | Teste de Kruskal-Wallis | Comparações múltiplas* |
|--------|------------------------|----|---------|-------------------------|------------------------|
| Global | Controle (0)           | 9  | 0,206   | <b>p&lt;0,001</b>       | A                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,222   |                         | B                      |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,223   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,224   |                         | B                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,227   |                         | B                      |
| R1     | Controle (0)           | 9  | 0,097   | p=0,219                 |                        |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,097   |                         |                        |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,098   |                         |                        |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,101   |                         |                        |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,101   |                         |                        |
| R2     | Controle (0)           | 9  | 0,103   | <b>p=0,008</b>          | A                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,119   |                         | B                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,120   |                         | B                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,122   |                         | B                      |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,123   |                         | B                      |
| R3     | Controle (0)           | 9  | 0,094   | <b>p=0,019</b>          | A                      |
|        | OVX com indução (4)    | 9  | 0,101   |                         | B                      |
|        | “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,111   |                         | B                      |
|        | OVX sem indução (3)    | 9  | 0,115   |                         | B                      |
|        | “SHAM” sem indução (1) | 11 | 0,126   |                         | B                      |

\* letras diferentes indicam grupos com características distintas.

Tabela 3 – Resultados do teste de comparação da perda óssea vertical entre mandíbula direita e esquerda

| Grupo                 | Teste de Wilcoxon |
|-----------------------|-------------------|
|                       | Valor - p         |
| Controle (0)          | 0,999             |
| “SHAM”sem indução (1) | 0,374             |
| “SHAM”com indução (2) | <b>0,005</b>      |
| OVX sem indução (3)   | 0,363             |
| OVX com indução (4)   | <b>0,008</b>      |

Tabela 4 – Estatísticas descritivas, teste de Mann-Whitney e valor p para comparação da perda óssea vertical entre grupo OVX e “SHAM” com indução de doença periodontal.

| Grupo                  | n  | Mediana | Extremos     | Quartis (25%-75%) |
|------------------------|----|---------|--------------|-------------------|
| “SHAM” com indução (2) | 10 | 0,766   | 0,467- 1,433 | 0,625-0,949       |
| OVX com indução (4)    | 9  | 0,700   | 0,113-1,467  | 0,434-1,317       |
| Teste de Mann-Whitney  |    |         | p=0,713      |                   |

## *Apêndices*

| GRUPO | ANIMAL | INICIAL | FINAL |
|-------|--------|---------|-------|
| G C   | 1      | 310     | --    |
|       | 2      | 300     | --    |
|       | 3      | 300     | --    |
|       | 4      | 300     | --    |
|       | 5      | 280     | --    |
|       | 6      | 300     | --    |
|       | 7      | 300     | --    |
|       | 8      | 290     | --    |
|       | 9      | 290     | --    |
| GRUPO | ANIMAL | INICIAL | FINAL |
| G 1   | 1      | 270     | 300   |
|       | 2      | 260     | 300   |
|       | 3      | 320     | 350   |
|       | 4      | 270     | 320   |
|       | 5      | 270     | 360   |
|       | 6      | 280     | 390   |
|       | 7      | 240     | 310   |
|       | 8      | 250     | 350   |
|       | 9      | 270     | 360   |
|       | 10     | 290     | 370   |
|       | 11     | 290     | 370   |
| GRUPO | ANIMAL | INICIAL | FINAL |
| G 2   | 1      | 270     | 300   |
|       | 2      | 270     | 350   |
|       | 3      | 240     | 270   |
|       | 4      | 260     | 310   |
|       | 5      | 250     | 280   |
|       | 6      | 260     | 330   |
|       | 7      | 250     | 340   |
|       | 8      | 290     | 340   |
|       | 9      | 300     | 350   |
|       | 10     | 290     | 370   |
| GRUPO | ANIMAL | INICIAL | FINAL |
| G 3   | 1      | 240     | 340   |
|       | 2      | 250     | 340   |
|       | 3      | 230     | 340   |
|       | 4      | 270     | 370   |
|       | 5      | 240     | 350   |
|       | 6      | 270     | 400   |
|       | 7      | 360     | 400   |
|       | 8      | 350     | 410   |
|       | 9      | 350     | 400   |
| GRUPO | ANIMAL | INICIAL | FINAL |
| G 4   | 1      | 260     | 370   |
|       | 2      | 250     | 370   |
|       | 3      | 240     | 330   |
|       | 4      | 230     | 400   |
|       | 5      | 230     | 405   |
|       | 6      | 320     | 400   |
|       | 7      | 340     | 410   |
|       | 8      | 350     | 410   |
|       | 9      | 330     | 420   |

Quadro 7 - Medidas relativas à perda óssea do Grupo Controle

| Grupo | ANIMAL | m d | m e |
|-------|--------|-----|-----|
| GC    | 1      | 0,2 | 0,4 |
| GC    | 1      | 0,3 | 0,4 |
| GC    | 1      | 0,3 | 0,4 |
| Média |        | 0,3 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| GC    | 2      | 0,4 | 0,5 |
| GC    | 2      | 0,4 | 0,6 |
| GC    | 2      | 0,4 | 0,6 |
| Média |        | 0,4 | 0,6 |
|       |        |     |     |
| GC    | 3      | 0,3 | 0,3 |
| GC    | 3      | 0,4 | 0,4 |
| GC    | 3      | 0,4 | 0,4 |
| Média |        | 0,4 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| GC    | 4      | 0,5 | 0,4 |
| GC    | 4      | 0,5 | 0,4 |
| GC    | 4      | 0,5 | 0,4 |
| Média |        | 0,5 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| GC    | 5      | 0,4 | 0,5 |
| GC    | 5      | 0,4 | 0,5 |
| GC    | 5      | 0,4 | 0,5 |
| Média |        | 0,4 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| GC    | 6      | 0,5 | 0,3 |
| GC    | 6      | 0,6 | 0,4 |
| GC    | 6      | 0,6 | 0,4 |
| Média |        | 0,6 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| GC    | 7      | 0,4 | 0,4 |
| GC    | 7      | 0,4 | 0,3 |
| GC    | 7      | 0,4 | 0,3 |
| Média |        | 0,4 | 0,3 |
|       |        |     |     |
| GC    | 8      | 0,5 | 0,4 |
| GC    | 8      | 0,5 | 0,4 |
| GC    | 8      | 0,5 | 0,4 |
| Média |        | 0,5 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| GC    | 9      | 0,4 | 0,5 |
| GC    | 9      | 0,5 | 0,5 |
| GC    | 9      | 0,5 | 0,5 |
| Média |        | 0,5 | 0,5 |

Quadro 8 - Medidas relativas à perda óssea do Grupo 1

| Grupo | ANIMAL | m d | m e |
|-------|--------|-----|-----|
| G1    | 1      | 0,3 | 0,6 |
| G1    | 1      | 0,3 | 0,5 |
| G1    | 1      | 0,3 | 0,6 |
| Média |        | 0,3 | 0,6 |
|       |        |     |     |
| G1    | 2      | 0,5 | 0,5 |
| G1    | 2      | 0,5 | 0,5 |
| G1    | 2      | 0,5 | 0,5 |
| Média |        | 0,5 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G1    | 3      | 0,5 | 0,6 |
| G1    | 3      | 0,6 | 0,6 |
| G1    | 3      | 0,5 | 0,6 |
| Média |        | 0,5 | 0,6 |
|       |        |     |     |
| G1    | 4      | 0,5 | 0,5 |
| G1    | 4      | 0,6 | 0,6 |
| G1    | 4      | 0,6 | 0,5 |
| Média |        | 0,6 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G1    | 5      | 0,5 | 0,4 |
| G1    | 5      | 0,4 | 0,4 |
| G1    | 5      | 0,4 | 0,4 |
| Média |        | 0,4 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| G1    | 6      | 0,3 | 0,4 |
| G1    | 6      | 0,3 | 0,4 |
| G1    | 6      | 0,3 | 0,4 |
| Média |        | 0,3 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| G1    | 7      | 0,4 | 0,4 |
| G1    | 7      | 0,4 | 0,4 |
| G1    | 7      | 0,4 | 0,4 |
| Média |        | 0,4 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| G1    | 8      | 0,5 | 0,5 |
| G1    | 8      | 0,4 | 0,4 |
| G1    | 8      | 0,5 | 0,4 |
| Média |        | 0,5 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| G1    | 9      | 0,5 | 0,4 |
| G1    | 9      | 0,5 | 0,5 |
| G1    | 9      | 0,5 | 0,5 |
| Média |        | 0,5 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G1    | 10     | 0,5 | 0,5 |
| G1    | 10     | 0,4 | 0,5 |
| G1    | 10     | 0,4 | 0,5 |
| Média |        | 0,4 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G1    | 11     | 0,4 | 0,5 |
| G1    | 11     | 0,5 | 0,4 |
| G1    | 11     | 0,5 | 0,4 |
| Média |        | 0,5 | 0,4 |

Quadro 9 - Medidas relativas à perda óssea do Grupo 2

| Grupo | ANIMAL | m d | m e |
|-------|--------|-----|-----|
| G2    | 1      | 1,2 | 0,5 |
| G2    | 1      | 1,3 | 0,5 |
| G2    | 1      | 1,2 | 0,5 |
| Média |        | 1,2 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G2    | 2      | 1,2 | 0,6 |
| G2    | 2      | 1,2 | 0,6 |
| G2    | 2      | 1,2 | 0,6 |
| Média |        | 1,2 | 0,6 |
|       |        |     |     |
| G2    | 3      | 1,4 | 0,4 |
| G2    | 3      | 1,4 | 0,4 |
| G2    | 3      | 1,4 | 0,4 |
| Média |        | 1,4 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| G2    | 4      | 1,4 | 0,5 |
| G2    | 4      | 1,4 | 0,4 |
| G2    | 4      | 1,4 | 0,5 |
| Média |        | 1,4 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G2    | 5      | 2,0 | 0,5 |
| G2    | 5      | 1,9 | 0,5 |
| G2    | 5      | 1,9 | 0,5 |
| Média |        | 1,9 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G2    | 6      | 1,3 | 0,5 |
| G2    | 6      | 1,2 | 0,4 |
| G2    | 6      | 1,3 | 0,4 |
| Média |        | 1,3 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| G2    | 7      | 1,4 | 0,6 |
| G2    | 7      | 1,5 | 0,7 |
| G2    | 7      | 1,5 | 0,7 |
| Média |        | 1,5 | 0,7 |
|       |        |     |     |
| G2    | 8      | 1,4 | 0,6 |
| G2    | 8      | 1,3 | 0,8 |
| G2    | 8      | 1,4 | 0,8 |
| Média |        | 1,4 | 0,7 |
|       |        |     |     |
| G2    | 9      | 1,3 | 0,5 |
| G2    | 9      | 1,1 | 0,5 |
| G2    | 9      | 1,1 | 0,5 |
| Média |        | 1,2 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G2    | 10     | 1,0 | 0,6 |
| G2    | 10     | 1,1 | 0,6 |
| G2    | 10     | 1,1 | 0,6 |
| Média |        | 1,1 | 0,6 |

Quadro 10 - Medidas relativas à perda óssea do Grupo 3

| Grupo | ANIMAL | m d | m e |
|-------|--------|-----|-----|
| G3    | 1      | 0,7 | 0,6 |
| G3    | 1      | 0,8 | 0,5 |
| G3    | 1      | 0,7 | 0,5 |
| Média |        | 0,7 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G3    | 2      | 0,6 | 0,7 |
| G3    | 2      | 0,6 | 0,6 |
| G3    | 2      | 0,6 | 0,6 |
| Média |        | 0,6 | 0,6 |
|       |        |     |     |
| G3    | 3      | 0,8 | 0,6 |
| G3    | 3      | 0,7 | 0,6 |
| G3    | 3      | 0,8 | 0,6 |
| Média |        | 0,8 | 0,6 |
|       |        |     |     |
| G3    | 4      | 0,4 | 0,5 |
| G3    | 4      | 0,4 | 0,5 |
| G3    | 4      | 0,4 | 0,5 |
| Média |        | 0,4 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G3    | 5      | 0,5 | 0,6 |
| G3    | 5      | 0,5 | 0,5 |
| G3    | 5      | 0,5 | 0,5 |
| Média |        | 0,5 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G3    | 6      | 0,5 | 0,5 |
| G3    | 6      | 0,5 | 0,5 |
| G3    | 6      | 0,5 | 0,5 |
| Média |        | 0,5 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G3    | 7      | 0,6 | 0,5 |
| G3    | 7      | 0,5 | 0,5 |
| G3    | 7      | 0,5 | 0,5 |
| Média |        | 0,5 | 0,5 |
|       |        |     |     |
| G3    | 8      | 0,7 | 0,5 |
| G3    | 8      | 0,8 | 0,7 |
| G3    | 8      | 0,8 | 0,6 |
| Média |        | 0,8 | 0,6 |
|       |        |     |     |
| G3    | 9      | 0,6 | 0,7 |
| G3    | 9      | 0,6 | 0,6 |
| G3    | 9      | 0,6 | 0,6 |
| Média |        | 0,6 | 0,6 |

Quadro 11 - Medidas relativas à  
perda óssea do Grupo 4

| Grupo | ANIMAL | m d | m e |
|-------|--------|-----|-----|
| G4    | 1      | 0,6 | 2,1 |
| G4    | 1      | 0,5 | 1,9 |
| G4    | 1      | 0,5 | 2,0 |
| Média |        | 0,5 | 2,0 |
|       |        |     |     |
| G4    | 2      | 1,2 | 0,5 |
| G4    | 2      | 1,1 | 0,4 |
| G4    | 2      | 1,1 | 0,4 |
| Média |        | 1,1 | 0,4 |
|       |        |     |     |
| G4    | 3      | 1,9 | 0,6 |
| G4    | 3      | 1,9 | 0,6 |
| G4    | 3      | 1,9 | 0,6 |
| Média |        | 1,9 | 0,6 |
|       |        |     |     |
| G4    | 4      | 1,2 | 0,6 |
| G4    | 4      | 1,1 | 0,7 |
| G4    | 4      | 1,1 | 0,7 |
| Média |        | 1,1 | 0,7 |
|       |        |     |     |
| G4    | 5      | 0,4 | 1,9 |
| G4    | 5      | 0,5 | 1,8 |
| G4    | 5      | 0,5 | 1,8 |
| Média |        | 0,5 | 1,8 |
|       |        |     |     |
| G4    | 6      | 1,1 | 0,8 |
| G4    | 6      | 1,1 | 0,6 |
| G4    | 6      | 1,1 | 0,7 |
| Média |        | 1,1 | 0,7 |
|       |        |     |     |
| G4    | 7      | 1,7 | 0,8 |
| G4    | 7      | 1,7 | 0,9 |
| G4    | 7      | 1,7 | 0,9 |
| Média |        | 1,7 | 0,9 |
|       |        |     |     |
| G4    | 8      | 1,8 | 1,1 |
| G4    | 8      | 1,7 | 1,2 |
| G4    | 8      | 1,7 | 1,2 |
| Média |        | 1,7 | 1,2 |
|       |        |     |     |
| G4    | 9      | 1,0 | 1,0 |
| G4    | 9      | 1,0 | 0,8 |
| G4    | 9      | 1,0 | 0,9 |
| Média |        | 1,0 | 0,9 |

*Resumo*

GONÇALVES, D. **Influência da perda de massa óssea sobre a doença periodontal induzida. Estudo radiográfico e densitométrico em ratas.** 2004.167f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

## *RESUMO*

O presente estudo teve como objetivo avaliar possíveis alterações na densidade mineral óssea mandibular e femoral decorrentes da deficiência de estrógeno promovida pela ooforectomia (OVX), e a influência dessas alterações sobre a doença periodontal induzida em ratas. Quarenta e oito ratas, Holtzman, com idade de 90 dias, foram distribuídas em 5 grupos: Grupo controle (n=9), Grupo 1- “SHAM” sem indução de doença periodontal (n=11), Grupo 2- “SHAM” com indução de doença periodontal (n=10), Grupo 3- OVX sem indução de doença periodontal (n=9) e Grupo 4- OVX com indução de doença periodontal (n=9). Nove animais foram sacrificados no dia zero; 18 foram submetidos à cirurgia de OVX e 21 à cirurgia simulada (“SHAM”). Para os animais pertencentes aos grupos 2 e 4, após um período de 120 dias, foram colocadas ligaduras de fio de algodão nos primeiros molares inferiores as quais permaneceram por um período de 30 dias. Finalizado o período de 5 meses, os animais foram mortos sendo removidos a mandíbula, o fêmur e o útero. Foram efetuadas medidas de BMD global e de sub-regiões, da mandíbula e do fêmur, assim determinadas: hemimandíbula: global; R1 - região do côndilo mandibular; R2 - bordo inferior do corpo mandibular e R3 - região incisal da mandíbula e para o fêmur: global; R1 - epífise distal; R2 - epífise proximal e R3 - diáfise. Foram avaliadas, por meio de radiografias digitais, a presença ou ausência de perda óssea vertical, medindo-se a distância da crista

óssea à junção cimento-esmalte na mesial do primeiro molar inferior. A análise dos resultados do fêmur diferença estatisticamente significativa entre os grupos “SHAM” e “OVX” quanto aos valores medianos de densidade óssea, para todas as regiões. A comparação entre os grupos Controle, “SHAM” e OVX em relação à BMD da mandíbula nas regiões R1, R2, R3 e Global (DXA), não demonstraram diferenças significantes entre si ( $p>0,05$ ). As medidas de perda óssea periodontal para os grupos “SHAM” e OVX com indução demonstrou igualdade entre os grupos ( $p=0,713$ ). Conclusão: Foram verificadas diferenças entre os grupos quanto à BMD do fêmur, porém não em relação à mandíbula. A OVX não influenciou a doença periodontal induzida.

Palavras-chave: Ooforectomia; doença periodontal; DXA.

*Abstract*

GONÇALVES, D. **Influence of mass bone loss about the periodontal disease induced. Radiographic and densitometry study in rats.** 2004. 167f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

## *ABSTRACT*

This study had the objective to assess possible changes in mandibular and femoral bone mineral density resulting from estrogen deficiency due to ovariectomized, and the influence of these alterations of the periodontal disease induced in rats. Forty eight rats Holtzman, at the age of 90 days, were distributed in 5 groups: control group (n=9), group 1- “SHAM” without inducement of periodontal disease (n=11), group 2- “SHAM” with inducement of periodontal disease (n=10), group 3- OVX without inducement of periodontal disease (n=9) and group 4- OVX with inducement of periodontal disease (n=9). Nine animals were sacrificed on day 0 (baseline); 18 of them were subjected to OVX surgery and to “SHAM” simulate surgery. For the animals belonging to group 2 and 4, after a period of 120 days, were placed ligatures first inferior molar, wich remained on for 30 days. At the end of 5 months, the animals were killed and the mandible, femur and uteri were excised. Measures of BMD global and sub-regions of the mandible and femur were taken such as, mandible: global; R1 – condylar region; R2 – inferior border of mandible, and R3 – incisal region of mandible and for femur: global; R1 - distal epiphysis; R2 - proximal epiphysis and R3 – diaphysis. The presence or absence of the vertical loss bone was assessed by digital radiography, measuring the distance of the bone crest to the cementodentinal junction in the mesial of first inferior molar. The analysis of the femur results gives us evidence that there is a significant

difference in median values of bone density between the groups “SHAM” and OVX, for all the regions. The comparison between the groups control, “SHAM” and OVX in relation to BMD of mandible in the region R1, R2, R3 and global, didn't show any significant difference ( $p>0,05$ ) between themselves. The measures of period bone loss for the group “SHAM” and OVX with inducement show equality between the groups. Conclusion: there were differences between the groups as far as BMD of the femur, but none in relation to mandible. The OVX didn't influence of periodontal disease.

Keywords: Ovariectomy; periodontal disease; DXA