

CRISTINA WERKMAN

**ESTUDO DOS EFEITOS DO RISEDRONATO E DA
CALCAREA PHOSPHORICA 6CH NA REPARAÇÃO ÓSSEA
EM RATOS MACHOS CASTRADOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Biopatologia Bucal.

CRISTINA WERKMAN

**ESTUDO DOS EFEITOS DO RISEDRONATO E DA
CALCAREA PHOSPHORICA 6CH NA REPARAÇÃO ÓSSEA
EM RATOS MACHOS CASTRADOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Biopatologia Bucal.

Orientadora: **Profa. Dra. Adriana Aigotti Haberbeck Brandão**

São José dos Campos
2005

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais **DELMINA PINTO WERKMAN** e **JACOB WERKMAN**
por todo amor e carinho que sempre dedicaram a mim, pelos esforços e
renúncias, a eles dedico a chance que tive de vencer etapas e transpor
barreiras, ganhando um mundo de liberdades.*

Homenageio

*À amada Professora Doutora **ADRIANA AIGOTTI**
HABERBECK BRANDÃO, pela tranquilidade de mostrar como o mundo é
repleto de surpresas boas, com sua constante alegria e paciência (principalmente
nos meus momentos elétricos), me ensinou muito, alcançando âmbito tanto
profissional quanto pessoal, de coração eu agradeço.*

*À minha querida Professora Doutora **ROSILENE**
FERNANDES DA ROCHA, pelos abraços, sorrisos e alegrias sempre
disponíveis a todos que entram em sua vida proporcionando uma agradável
convivência para quem está tão longe de casa, acolhendo e transmitindo seus
valiosos conhecimentos, muito obrigado por me fazer uma profissional mais
capaz.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa do Diretor da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos Professor Doutor PAULO VILELA SANTOS JÚNIOR, pela oportunidade da realização do curso de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal.

À Professora Adjunta YASMIN RODARTE CARVALHO, pelas sugestões, auxílios e colaboração durante a realização deste curso.

Ao Professor Doutor LUIZ EDUARDO BLUMER ROSA, Chefe do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, pelo apoio e sugestões em diversos momentos.

Ao professor IVAN BALDUCCI pela disposição em transmitir seus conhecimentos, experiências e orientações, pelas idéias e ajudas. Pela elaboração da análise estatística e gráficos dos resultados deste estudo.

À secretária SÍLVIA SCARPEL, pela ajuda e compreensão em todas as dúvidas, pelos conselhos e orientações profissionais e pessoais.

Aos funcionários do Biotério, LOURIVAL JACOB, ANTÔNIO DOMINGOS SÁVIO BARBOSA MAIA VASCONCELOS e VALDIR MARQUES pela colaboração na fase experimental desta pesquisa.

Aos ANIMAIS EXPERIMENTAIS cujas vidas foram sacrificadas em benefício do progresso da ciência.

À técnica de laboratório MARIA SALETE FARIA, pelo preparo do material histológico.

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação, ROSEMARY DA FÁTIMA SALGADO, ERENA MICHIE HASEGAWA e MARIA APARECIDA CONSIGLIO DE SOUZA, pela atenção e disponibilidade.

À bibliotecária ÂNGELA DE BRITO BELLINI, pela disponibilidade e paciência na revisão deste estudo.

A todos os COLEGAS DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO pela convivência

A COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR (CAPES) pela bolsa concedida durante o decorrer da tese.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À FAMÍLIA BRANDÃO, CELSO, HENRIQUE, MARGARIDA, EDUARDO, GUIDO, ELISA, MARINA, por todos os momentos que precisei do apoio e suporte de uma família, vocês estiveram lá. Trazendo alegrias, conselhos e me tornando uma pessoa mais feliz.

À minha irmã CAROLINA WERKMAN TAVARES e seu esposo VINÍCIUS TAVARES pelas lições de vida que me proporcionaram.

Aos meus amados padrinhos, ANA MARIA e WERNER NITFLER PINTO, que sempre acreditaram em mim.

A minha queridos tios JOÃO e TEREZA CAVALCA PINTO, minha prima ANA ELISA CALAVALCA ERN e seu esposo ODILON ERN, por todos os momentos de descanso e alegria durante estes dois anos

Aos amigos PAULO VIANNA, JULIMAR VIANNA, ARLETE e FELIPE LOPES, DAVI LAVAREDA que aconselharam e apoiaram todos os momentos, ensinando que “até para chorar nesta vida a gente deve organizar”, mesmo longe, sempre fizeram presentes em palavras e lembranças, sempre alegres e positivos todas as etapas que passamos juntos.

À querida amiga GISELLE SENRA pela força, compreensão e amizade, em todos os momentos, agüentando toda a energia e ansiedade que compõem esta amiga, sendo minha “irmã adotante” no decorrer desta tese.

Ao amigo PIETRO MAINENTI, por todas as conversas, risadas e dicas dispensadas a mim desde que nos conhecemos, certamente lições aprendidas e levadas em conta a cada dia..

A todos os que fizeram parte desta jornada, amigos e colegas do programa de pós-graduação e também alunos da graduação. Em diversos momentos contei com todos, fosse para apoio, companhia; para as horas de estudo, dúvida e choro (aqueles que a gente acha que nunca vai passar..., mas passam) e pessoas que estão conosco sempre ensinam durante a caminhada. Vocês passaram em minha vida deixando marcas e lições que levarei em minha jornada, acadêmica e pessoal, obrigada por terem dividido seu tempo e vivência.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	12
LISTA DE FIGURAS	14
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	17
RESUMO	19
1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	22
2.1 Osteoporose	22
2.2 Processo de remodelação óssea.....	32
2.3 Reparo ósseo.....	34
2.4 Tratamentos.....	36
2.4.1 Bifosfonatos	37
2.4.2 Homeopatia.....	46
3 PROPOSIÇÃO	52
4 MATERIAL E MÉTODO	53
4.1 Animais e grupos experimentais	55
4.2 Procedimentos Cirúrgicos	55
4.2.1 Anestesia	55
4.2.2 Antibiótico	55
4.2.3 Castração verdadeira e falsa	55
4.3 Defeitos ósseos	57
4.4 Tratamento e preparação do medicamento	58
4.5 Eutanásia e coleta do material.....	59
4.6 Análise da densidade radiográfica	60
4.7 Análise Histológica.....	61
4.8 Fotografia.....	62
4.9 Análise histomorfométrica.....	62
4.10 Delineamento experimental e análise estatística	63

5 RESULTADOS.....	64
5.1 Densidade radiográfica	64
5.2 Histomorfometria do osso formado no reparo.....	70
5.2.1 Histomorfometria: retículo.....	70
5.2.2 Histomorfometria: espessura do calo.....	75
5.2.3 Histomorfometria: espessura da cortical	79
5.3 Análise histológica descritiva	81
6 DISCUSSÃO	88
7 CONCLUSÃO	96
8 REFERÊNCIAS	97
ANEXO	109
<i>Abstract</i>	110

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Estrutura química do pirofosfato e do bifosfonato.....	39
FIGURA 2 - Estrutura química do risedronato.....	43
FIGURA 3 - Esquema demonstrativo dos procedimentos realizados em função do tratamento e do tempo.....	54
FIGURA 4 - Castração do rato macho: a) desinfecção do escroto; b) exposição do testículo; c) ligadura do pedículo vascular; d) remoção do testículo.....	56
FIGURA 5 - Procedimento cirúrgico: a) exposição do tecido ósseo; b) realização do defeito com broca trefina; c) visualização do defeito de 3mm; d) defeito ósseo.....	58
FIGURA 6 - Administração do medicamento por via oral, com auxílio de conta gotas e imobilização manual do animal.....	59
FIGURA 7 - Esquema dos procedimentos experimentais em função do tempo.....	60
FIGURA 8 - Gráfico das médias de densidade óssea para os quatro diferentes tipos de tratamento nos três períodos experimentais.....	66
FIGURA 9 - Gráfico das médias de trabéculas ósseas neoformadas (%) para as doze diferentes condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: tempo e condição de tratamento.....	72
FIGURA 10- Gráfico das médias de calo ósseo neoformado para as doze diferentes condições experimentais estabelecidas pelas variáveis tempo e espessura do calo ósseo	77

- FIGURA 11- Gráfico das médias de cortical óssea para as doze diferentes condições experimentais estabelecidas pelas variáveis tempo e tratamento..... 81
- FIGURA 12- Imagens panorâmicas dos aspectos morfológicos observados nos quatro diferentes grupos analisados em função do tempo e dos tratamentos. HE. 25X. **CS**) grupo falso castrado (*sham*) sem medicação. **C**) grupo castrado sem medicação. **CCp**) grupo castrado e tratado com *Calcareia phosphorica* 6CH. **CR**) grupo castrado e tratado com risedronato. Observar as variações no volume e espessura do calo ósseo e da cortical remodelada..... 84
- FIGURA 13- Imagens dos aspectos morfológicos observados nos quatro diferentes grupos aos sete dias. HE: **CS**) grupo falso castrado (*sham*) sem medicação - trabéculas jovens e tecido de granulação abundante. Aumento original 400X; **C**) grupo castrado sem medicação - trabéculas delgadas e mais espaçadas. Aumento original 400X; **CCp**) grupo castrado e tratado com *Calcareia phosphorica* 6CH – trabéculas numerosas e pouco espaçadas, presença de alta celularidade dentro e ao redor das trabéculas, vários osteoblastos. Aumento original 400X; **CR**) grupo castrado e tratado com risedronato - trabéculas delgadas e tecido de granulação abundante. Aumento original 400X..... 85

FIGURA 14- Imagens dos aspectos morfológicos observados nos quatro diferentes grupos aos catorze dias. HE: **CS**) grupo falso castrado (*sham*) sem medicação – poucas trabéculas e lâmina cortical evidente. Aumento original 400X; **C**) grupo castrado sem medicação – várias trabéculas e lâmina cortical pouco evidente. Aumento original 400X; **CCp**) grupo castrado e tratado com *Calcareia phosphorica* 6CH – várias trabéculas, alta celularidade ao redor das trabéculas e lâmina cortical delgada. Aumento original 400X; **CR**) grupo castrado e tratado com risedronato - trabéculas mais espessas. Aumento original 400X..... 86

FIGURA 15- Imagens dos aspectos morfológicos observados nos quatro diferentes grupos aos vinte e oito dias. HE: **CS**) grupo falso castrado (*sham*) sem medicação – lâmina cortical organizada e liberação da cavidade medular evidenciando remodelação avançada. Aumento original 400X; **C**) grupo castrado sem medicação – formação de lâmina cortical muito delgada. Aumento original 400X; **CCp**) grupo castrado e tratado com *Calcareia phosphorica* 6CH – lâmina cortical pouco evidente e presença de várias trabéculas. Aumento original 400X; **CR**) grupo castrado e tratado com risedronato – lâmina cortical espessa e manutenção de várias trabéculas invadindo o canal medular. Aumento original 400X..... 87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Média e desvio padrão da densidade radiográfica obtida nos quatro grupos de animais nos diferentes tempos de observação do reparo das lesões ósseas..	64
Tabela 2	- ANOVA para os dados de densidade óssea no defeito	65
Tabela 3	- Comparação de médias das condições experimentais pelo teste de Tukey (5%).....	67
Tabela 4	- Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados de densidade óssea comparando animais castrados com diferentes medicamentos e o grupo falso castrado (sham) e sem medicamento, para o tempo de sete dias.....	68
Tabela 5	- Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados de densidade óssea comparando animais castrados com diferentes medicamentos e o grupo falso castrado (sham), para o tempo de 14 dias.....	68
Tabela 6	- Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados de densidade óssea comparando animais castrados com diferentes medicamentos e o grupo falso castrado sham, para o tempo de 28 dias.....	69
Tabela 7	- Média e desvios padrão da quantidade de osso neoformado na área do retículo, obtido nos quatro grupos nos três períodos de observação.....	70
Tabela 8	- ANOVA para os dados da quantidade de osso neoformado no defeito ósseo na área do retículo.....	71

Tabela 9	- Comparação de médias de osso neoformado em % nas condições experimentais pelo teste de Tukey (5%).....	73
Tabela 10	- Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados da quantidade de osso formado dentro do retículo, comparando os animais castrados com diferentes tratamentos e o grupo sham, para sete dias.....	74
Tabela 11	- Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados obtidos comparando a quantidade de trabeculado ósseo formado em animais castrados com diferentes tratamentos e o grupo sham falso castrado e sem medicamento, para o tempo de 14 dias.....	74
Tabela 12	- Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados comparando a quantidade de osso formado em animais castrados com diferentes medicamentos e o grupo sham, para o tempo de 28 dias.....	75
Tabela 13	- Média e desvio padrão da espessura do calo ósseo formado durante o reparo do defeito.....	76
Tabela 14	- ANOVA para os dados da espessura do calo ósseo formado durante o reparo do defeito.....	76
Tabela 15	- Comparação de médias de espessura do calo ósseo nas condições experimentais pelo teste de Tukey (5%).....	78
Tabela 16	- Média e desvio padrão da espessura da cortical adjacente à lesão óssea.....	79
Tabela 17	- ANOVA para os dados da quantidade de osso na cortical óssea.....	80
Tabela 18	- Comparação de médias da espessura da cortical adjacente ao calo ósseo nas condições experimentais pelo teste de Tukey (5%).....	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	=	Análise de Variância
DMO	=	Densidade mineral óssea
BMU	=	Unidade multicelular básica
CAST	=	Castração
C	=	Grupo castrado e não medicado
CCp	=	Grupo castrado e medicado com <i>Calcareo phosphorica</i> 6CH
CR	=	Grupo castrado e medicado com risedronato
FDA	=	<i>Food and Drug Administration</i>
DEXA	=	Absorptiometria de emissão dupla de RX
DO	=	Densidade óssea
EUA	=	Estados Unidos da América
H ⁺	=	Hidrogênio
H ₃ O ⁺	=	Radical livre de oxigênio
HE	=	Coloração por hematoxilina e eosina
IL	=	Interleucina
MO	=	Microscópio óptico
MCT	=	Tomografia micro-computadorizada
OH	=	Grupamento hidroxil

OMS	=	Organização Mundial de Saúde
PDGF	=	Fator de crescimento derivado de plaquetas
P	=	Fósforo
PTH	=	Hormônio paratireoidiano
RX	=	Raios X
CS	=	Grupo falso castrado e não medicado
SHAM	=	Grupo submetido à falsa castração
TGF- Beta	=	Fator de crescimento transformante Beta
TGF-Alfa	=	Fator de crescimento transformante Alfa
FGF	=	Fator de crescimento para fibroblasto
3D	=	Tridimensional

WERKMAN, C. **Estudo comparativo dos efeitos de risedronato e de *Calcareia phosphorica* 6CH na reparação óssea em tíbias de ratos machos castrados.** 2005.110f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal, Área Biopatologia Bucal) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2005.

RESUMO

A osteoporose, doença caracterizada pela perda de massa óssea, tem sido alvo de estudos nos últimos anos. Fraturas decorrentes da osteoporose são muito comuns e podem apresentar consolidação mais lenta. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do risedronato (medicamento alopático) e da *Calcareia phosphorica* 6CH (medicamento homeopático) no processo de reparo ósseo em ratos machos com osteoporose induzida por castração. Para tanto, foram utilizados oitenta e quatro ratos de três meses de idade separados em quatro grupos de vinte e um animais, sendo três grupos submetidos à castração e um grupo a falsa cirurgia (*sham*). Um mês após, foram realizadas lesões ósseas monocorticais na tíbia de todos os animais e a partir do dia seguinte, os respectivos tratamentos foram iniciados de acordo com os seguintes grupos: CR - castrado/ risedronato (1mg/kg/dia); CCp - castrado/*Calcareia phosphorica* 6CH (três gotas/dia); CP - castrado/placebo e SP - sham/placebo que receberam apenas três gotas ao dia de água destilada. Os animais foram sacrificados aos sete, catorze e vinte e oito dias após o início do tratamento e as tíbias removidas. Radiografias digitais foram realizadas e avaliadas pelo programa Image Tool para obter a densidade óptica na área do defeito. Então as tíbias foram descalcificadas e processadas para a realização das análises histológicas. A histomorfometria mediu a porcentagem de osso formado utilizando um retículo graduado colocado no centro da lesão através do programa Image J. Para a análise estatística, os dados foram submetidos aos testes de ANOVA, Tukey e Dunnett, ao nível de 5%. Segundo a análise da densidade óptica, o grupo CCp apresentou os melhores resultados aos sete e catorze dias, mas foi superado pelo grupo CR aos vinte e oito dias. Segundo a histomorfometria o grupo SP apresentou o melhor resultado aos sete dias, mas o grupo CR, superou os valores dos demais aos catorze e vinte e oito dias. Medindo a espessura do calo o grupo CR formou o calo mais espesso aos sete e vinte e oito dias. Concluiu-se que o tratamento com risedronato estimulou a maior quantidade de formação óssea no reparo da lesão, devido à formação de osso resistente à remodelação. A *Calcareia phosphorica* 6CH foi mais eficiente nas fases iniciais do processo de reparo, porém, sofreu remodelação óssea. A castração interferiu de forma prejudicial no reparo levando à perda óssea contínua. O exame radiográfico mostrou-se pouco sensível a pequenas variações na perda e neoformação óssea em ratos.

PALAVRAS-CHAVE: Regeneração óssea; risedronate; *Calcarea phosphorica*; osteoporose; histologia comparada ; homeopatia; análise de variância; ratos.

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da expectativa de vida, cresce também o número de patologias que acometem pessoas idosas.

A osteoporose é atualmente uma doença de alta prevalência mundial, principalmente após os cinquenta anos de idade. Tem sido bastante estudada em mulheres pós-menopausa, mas hoje é conhecido que homens também são acometidos por esta patologia. A osteoporose é caracterizada pelo desequilíbrio entre formação e reabsorção óssea, levando a perda de massa e estrutura óssea progressiva com a idade. Geralmente tem curso silencioso e assintomático, com diagnóstico confirmado após algum tipo de fratura. (NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION⁵², 2004; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; WATTS et al.⁸⁰⁻¹, 2004; GILBERT & McKIERNAN²⁷, 2005).

Com a perda da qualidade óssea e as fraturas que ocorrem devido à diminuição da densidade óssea, os pacientes apresentam importante diminuição da qualidade de vida, passam a ter suas vidas limitadas e dependentes de diversos recursos terapêuticos, constituindo atualmente um problema de saúde pública. (NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION⁵², 2004; GILBERT & McKIERNAN²⁷, 2005).

Existem vários tipos de tratamento, visando prevenir a perda de massa óssea e aumentar a densidade óssea e assim diminuir o risco de fratura. Entre os medicamentos alopáticos tradicionais temos a reposição hormonal, complementação mineral com cálcio e vitamina D, bifosfonatos, raloxifeno, sinvastatina (ANBINDER⁴, 2004) e calcitonina (MARCUS⁴³, 1996; ARISAWA et al.⁵, 2000; HOOVEN et al.³⁴, 2005). O

risedronato é um bifosfonato de última geração com alta efetividade anti-reabsortiva que leva a ganho ósseo importante e estável (FOGELMAN et al.²⁵, 2000; CRANEY²⁰, 2002; WATTS et al.⁷⁹, 2003).

Terapias alternativas têm sido investigadas buscando a melhora ou prevenção da doença e melhora no reparo ósseo, além de redução de efeitos colaterais e menor custo do tratamento. Entre estas são citadas a fitoterapia, derivados da soja (AMADEI³, 2004) e a homeopatia (TYLER⁷⁴, 1992; VIJNOVSKY⁷⁶, 1992).

Este trabalho teve como intenção avaliar comparativamente o efeito do medicamento alopático risendronato e o homeopático *Calcareo phosphorica* 6CH na reparação de lesão óssea em animais com osteopenia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Osteoporose

A osteoporose é uma doença sistêmica caracterizada pela perda de massa óssea e deterioração estrutural do tecido ósseo, que pode conduzir a fraturas, especialmente no quadril, fêmur, corpos vertebrais e antebraço, embora qualquer osso possa ser afetado (MARCUS⁴³, 1996). É considerada um problema de saúde pública, que ameaça aproximadamente 44 milhões de norte americanos, correspondendo a 55% das pessoas com mais de cinquenta anos. Oitenta por cento dos casos ocorre em mulheres e (GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION⁵², 2004; WATTS et al.⁸⁰⁻¹, 2004) somente a partir das últimas décadas passou a ser valorizada a ocorrência e o impacto da osteoporose na população geriátrica masculina (O'KEEFE⁵³, 2001; BAE & STEIN⁷, 2004). Atualmente estima-se que 10.000.000 desse total apresentam a doença instalada e que 34.000.000 apresentam diminuição menos acentuada da massa óssea, constituindo uma alteração denominada osteopenia, com alto risco de evoluir para osteoporose (SALGADO⁶³, 2002; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION⁵², 2004; WATTS et al.⁸⁰⁻¹, 2004).

Esta é uma doença silenciosa, geralmente ocorre de maneira assintomática e os indivíduos acometidos terão diagnóstico confirmado após algum tipo de fratura. Uma em duas mulheres e um entre quatro homens com idade superior a cinquenta anos terá uma fratura relacionada à osteoporose no decorrer da sua vida. Ao ano ocorrem

associadas à osteoporose, mais de setecentas mil fraturas vertebrais, trezentas mil no quadril, cerca de duzentas e cinquenta mil no pulso e trezentas mil fraturas em outras localizações (GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION⁵², 2004; WATTS et al.⁸⁰⁻¹, 2004).

Um risco significativo do desenvolvimento desta doença é relatado em pessoas de todos os grupos étnicos e apesar da osteoporose ser uma patologia comum em pessoas idosas, pode aparecer também em outras faixas etárias (CALERO et al.¹³, 2000; RIGGS et al.⁵⁸, 2002; FUKS²⁶, 2004; LANGER⁴¹, 2004).

Didaticamente é dividida em osteoporose primária e secundária, sendo a primária subdividida em tipo I e tipo II.

A osteoporose primária tipo I, também conhecida como pós-menopausa, acarreta rápida perda óssea na mulher, atingindo predominantemente o osso trabecular e freqüentemente está associada a fraturas das vértebras e do rádio distal. A tipo II ou senil é relacionada ao envelhecimento, ocorre por deficiência crônica de cálcio e diminuição da formação óssea (MARCUS⁴³, 1996; BANDEIRA et al.⁸, 2000; SZEJNFELD⁶⁹, 2000). A osteoporose secundária é decorrente de diversas condições sistêmicas como alterações endócrinas (aumento da atividade do paratormônio, hipertireoidismo e desordens adrenais), mieloma múltiplo, falta de atividade física, processos inflamatórios como a artrite reumatóide e uso de substâncias como heparina, álcool, vitamina A e corticoesteróides (WATTS et al.⁸⁰⁻¹, 2004; RIGGS et al.⁵⁸, 2002; LANGER⁴¹, 2004; VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004).

A osteoporose, primária ou secundária, é caracterizada pelo desequilíbrio entre a formação e reabsorção óssea (BANDEIRA et al.⁸, 2000; MARIE⁴⁵, 2001; VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004).

Apesar da etiologia da osteoporose não ser completamente entendida, existe um consenso que ela tem origem multifatorial (RUBIN et al.⁶², 1992).

Com o passar dos anos a perda de massa óssea tem aumentado, abrangendo uma grande parcela da população mundial. Geralmente a partir dos quarenta anos de idade é identificada uma perda óssea anual de aproximadamente 0,3-0,7%. A menopausa acelera o processo, podendo essa perda óssea chegar a valores maiores que 9% de osso trabecular e 2% de osso cortical (RUBIN et al.⁶², 1992).

O aumento de massa óssea se dá de forma gradual, sendo acelerada na fase da adolescência até alcançar a maturidade sexual e seu pico acontece por volta dos 25 anos na mulher e trinta a trinta e cinco anos no homem (GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; LANGER⁴¹, 2004).

O pico de massa óssea atingido quando adulto jovem bem como a perda deste associado à idade, são considerados fatores diretamente ligados à instalação da doença e à maior resistência ou susceptibilidade às fraturas. Este pico ser elevado é fundamental para que, mesmo havendo perdas em idades mais avançadas, principalmente pós-menopausa, o indivíduo mantenha densidade mineral óssea suficiente para evitar fraturas osteoporóticas (SMITH JUNIOR & THIER⁶⁶, 1992; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; LANGER⁴¹, 2004).

Admite-se que o valor do pico de massa óssea possa ser influenciado por componente genético, carga mecânica, ambiente hormonal e nutricional da criança e do adolescente (GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; LANGER⁴¹, 2004). A suplementação de cálcio em crianças aumenta de maneira significativa o pico de massa óssea alcançado na vida adulta (BANDEIRA et al.⁸, 2000). Após a puberdade, o crescimento ósseo cessa, a formação e a reabsorção óssea se equilibram, ocorrendo na mesma proporção, mantendo desta forma a massa óssea estável por um tempo variável (CALERO et al.¹³, 2000; FUKS²⁶, 2004).

Durante a idade adulta, a quantidade de osso estável vai ser proporcional ao pico de massa óssea atingido. Existem divergências sobre a duração desta fase de equilíbrio ósseo, alguns autores

consideram que o pico se mantém por um breve período de tempo antes do início da perda óssea relacionada à idade, enquanto outros acreditam que ele permanece em um platô por vários anos (CALERO et al.¹³, 2000; FUKS²⁶, 2004).

Com o avanço da idade, há um desequilíbrio no ciclo de remodelação óssea, evidenciando uma formação mais lenta e menor em proporção à reabsorção óssea. O mecanismo da involução óssea está relacionado com um desequilíbrio entre formação e reabsorção, não apenas com o aumento da reabsorção. Com este desequilíbrio, existe menor capacidade de formar osso em quantidades suficientes para repor o que foi reabsorvido (GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003). Com a perda da estrutura e fragilização dos ossos acometidos, é comum que os indivíduos sejam mais susceptíveis à fratura óssea espontânea (TEITELBAUN⁷¹, 2000).

Inicialmente são afetadas regiões onde existepredominância de osso trabecular, como corpos de vértebras dorsais e lombares e região distal do radio. A ação no osso cortical leva um tempo maior para se desenvolver, e os primeiros ossos a evidenciá-la são o colo do fêmur e vértebras. Tal perda óssea é geralmente assintomática, porém, é sinalizada clinicamente através de dor crônica e deformidade óssea quando existe fratura (BANDEIRA et al.⁸, 2000; CALERO et al.¹³, 2000; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; FUKS²⁶, 2004). Como a perda óssea sistêmica é cumulativa, há a predisposição de que o esqueleto apresente maior risco de fratura ao longo dos anos (RUBIN⁶², 1992; BLAKE & FOGELMAN⁹, 2002; STEENBERGHE⁶⁸, 2003).

O envelhecimento é um fator importante para o processo de involução óssea que acomete homens e mulheres, independente da diminuição dos hormônios sexuais. O decréscimo da massa óssea em função da idade tem início por volta dos trinta-quarenta anos de vida, ocorre de forma lenta e linear, sendo contínuo e de caráter irreversível, e

seu efeito é mais evidente no osso cortical que no trabecular (RANDOMINSKI et al.⁵⁶, 2002).

Diversas condições relacionadas à qualidade de vida são relatadas como adjuvantes para maior perda óssea. A não existência de uma rotina de vida saudável com alimentação adequada e exercícios regulares agrava quadros de osteopenia e osteoporose. Hábitos do mundo “moderno”, como pequenos lanches hipercalóricos e hiperproteicos, com sal e gordura em demasia, são marcantes no cotidiano da população mundial, levando ao desenvolvimento de indivíduos adultos que apresentam deficiências nutricionais importantes (RUBIN et al.⁶², 1992). A baixa ingestão de cálcio é bastante comum, sendo correlacionada com o aumento da incidência de pacientes com osteoporose (LANGER⁴¹, 2004).

Alguns valores sociais estéticos também podem influenciar. Indivíduos com bulimia e anorexia, doenças que alteram seus hábitos alimentares em favor da estética, sem noção do colapso causado aos seus organismos, afetando entre diversos aspectos também a densidade óssea adquirida (WATTS et al.⁸⁰, 2004).

Desordens endócrinas como a diabetes, hipertireoidismo e hipotireoidismo também podem causar perda óssea (MUSSOLINO et al.⁵¹, 2003; WATTS et al.⁸⁰⁻¹, 2004).

Pessoas acometidas de hipogonadismo desenvolvem osteoporose, fato demonstrado através de densitometria óssea (WYLLIE⁸³, 2003; VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004; WATTS et al.⁸⁰⁻¹, 2004). Investigações revelaram que a densidade mineral óssea (DMO) em vértebras era 44% menor que a esperada e 38% menor na região de colo do fêmur (ASPRAY⁶, 1996).

A inatividade física compromete de maneira direta o aumento da perda óssea. A prática de exercícios físicos corretamente orientados estimula o ciclo de remodelação óssea. Estes devem ser regulares, pois os efeitos osteogênicos são rapidamente perdidos quando

ocorre diminuição da intensidade ou frequência dos mesmos (RUBIN et al.⁶², 1992; LANGER⁴¹, 2004).

Pacientes sob condições de imobilização, permanência prolongada em leito e astronautas que ficam por longos períodos sem ação da gravidade apresentam perda óssea substancial (LANGER⁴¹, 2004).

Nas últimas décadas, estudos na área da biologia molecular demonstraram que a expressão e ativação de alguns genes contribuem para o fenótipo clínico da osteoporose em ambos os sexos (MARIE⁴⁵, 2001; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003).

Além da quantidade, a qualidade óssea deve ser avaliada, compreendendo a arquitetura trabecular, o grau de mineralização da matriz, o tipo e quantidade de colágeno entrelaçado, o equilíbrio durante o processo de turnover ósseo e o acúmulo de microfraturas (VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004; WATTS et al.⁸⁰⁻¹, 2004).

A perda de massa óssea ocorre de maneira semelhante em mulheres e homens até o momento em que elas ingressam no processo de menopausa. Existe uma diminuição abrupta da massa óssea, atingindo valores médios de 2% ao ano, durante cinco a dez anos seguintes, basicamente em função do aumento do *turnover* ósseo, devido à deficiência estrogênica, superposta à perda óssea associada à idade (GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; VONDRACEK & HANSEN, 2004).

Como as taxas de renovação óssea diferem em diversas partes do esqueleto, vale a pena considerar o esqueleto apendicular ou periférico em separado do axial ou central. Os ossos apendiculares compreendem 80% da massa óssea total e são compostos principalmente por osso cortical compacto, os axiais como a coluna e a pélvis, contém quantidades consideráveis do osso trabecular, possuindo uma cortical fina (MARCUS⁴³, 1996).

Durante os primeiros anos da pós-menopausa, a proporção de osso perdida no esqueleto periférico difere da ocorrida no

esqueleto axial. Esta se faz de maneira mais marcante no osso trabecular explicando, em parte, a apresentação mais precoce de fratura vertebral quando comparada à fratura do fêmur proximal, que acontece em idades avançadas. A taxa de perda óssea na pós-menopausa varia, não apenas entre os sítios do esqueleto, mas também de mulher para mulher, sendo a constituição corporal parcialmente responsável por essa variação (GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003).

Os homens sofrem com a perda óssea, e após entrar na faixa dos sessenta anos, apresentam o mesmo risco de fratura que as mulheres, cinco anos depois do início da menopausa (DE LAET et al.²¹, 1997). Mas esta perda acontece de maneira diferente, é lenta e sem grandes picos, uma vez que as funções gonadais masculinas envolvem gradualmente. Assim, o diagnóstico só é feito em idade avançada quando a perda óssea é intensa, podendo chegar a condições devastadoras (VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004).

Homens submetidos a tratamentos que levam a diminuição parcial ou total dos hormônios masculinos, desenvolvem osteoporose (BAE & STEIN⁷, 2004; NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION⁵², 2004; SMITH JUNIOR & THIER⁶⁶, 2003). Aspray et al.⁶ (1996), em relato de caso clínico, descrevem que pacientes masculinos, portadores de hipogonadismo, privados da terapia hormonal com testosterona, tiveram uma contribuição maior para a instalação da osteoporose. Langer⁴¹ (2004) sugere que homens com baixo nível de testosterona têm indicação de fazer reposição, com finalidade de prevenção ou tratamento da osteoporose.

A taxa da perda de massa óssea nos homens é de apenas 3-5% por década, explicando a menor incidência de fraturas osteoporóticas nos homens. Observando-se uma curva normal de densidade mineral óssea da coluna lombar (L2-L4) em homens, nota-se que a partir dos quarenta-cinquenta anos esta começa a diminuir lentamente, a uma taxa praticamente constante, podendo resultar em

fraturas em idade mais avançada (GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003). É relatado que o risco de ocorrer fratura decorrente da osteoporose na população masculina é de 13% (O'KEEFE⁵³, 2001; BAE & STEIN⁷, 2004; VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004), sendo que este número aumenta para 25% em homens com mais de sessenta anos (BAE & STEIN⁷, 2004).

Para diagnóstico, acompanhamento e avaliação da qualidade e quantidade óssea em casos de osteoporose, osteopenia e mesmo em pacientes sem a doença, diversas opções são disponibilizadas, desde exames de urina e sangue até exames mais sofisticados que utilizam imagens dos ossos a serem analisados (FOGELMAN et al.²⁵, 2000; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; LEDER et al.⁴², 2003).

A presença de minerais como o cálcio e o fósforo na circulação sanguínea são essenciais para o organismo. Para diversas funções, os íons são removidos do tecido ósseo e por isso quanto maior a taxa de cálcio presente no plasma sanguíneo, maiores as perdas minerais ocorridas nos ossos (TORTORA & GRABOWSKY⁷², 2002; LANGER⁴¹, 2004).

A avaliação da quantidade de hormônios, cálcio, fósforo, creatinina e fosfatase alcalina, no sangue ou urina, possibilitam quantificar o *turnover* ósseo, sendo em muitos casos, usados para decidir se o tratamento está ou não sendo eficaz. Porém, os valores obtidos nos exames sanguíneos refletem apenas as perdas recentes ou em atividade, sem mensurar o quanto já foi perdido (HOFBAUER & SCHOPPOL³³, 2004; VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004; WATTS et al.⁸⁰⁻¹, 2004).

No passado, a avaliação de osteoporose era realizada através de biópsias removendo o tecido ósseo. Porém, devido à grande invasividade representada por estes procedimentos aliado ao desenvolvimento de sofisticados métodos diagnósticos, foram elaborados novos protocolos. Atualmente existem diversos exames e técnicas para quantificar a densidade do osso trabecular e cortical, seja em região

restrita ou em todo o esqueleto. São exames de imagem como radiografias, densitometrias ósseas, ultrassons e tomografias (CALERO et al.¹³, 2000; BAE & STEIN⁷, 2004; BOONEM et al.¹¹, 2004).

A radiografia convencional tem fácil execução e custo bastante acessível. Porém, não é considerado o procedimento mais adequado, pois só teremos imagens compatíveis com rarefação óssea quando a perda mineral já estiver em torno de 30-50% (CALERO et al.¹³, 2000; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003). É um método mais eficiente para mensurar o osso cortical, sendo, portanto um exame menos sensível (BAE & STEIN⁷, 2004).

O ultra-som é uma outra opção em estudo para avaliação da densidade mineral óssea (DMO). O paciente não é submetido à radiação, o aparelho é portátil e o exame é rápido. Porém, ainda não tão preciso quanto a densitometria óssea, sendo indicado como um exame complementar (CALERO et al.¹³, 2000; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; BAE & STEIN⁷, 2004)

A densitometria óssea é um exame adequado para quantificar a massa óssea, com baixa radiação e acessível à população. Através do método *Dual Energy X-ray Absorptiometry* (DEXA) mede a quantidade óssea não individualizando se é osso trabecular ou cortical (LANGER⁴¹, 2004, FUKS²⁶, 2004; VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004). É considerado o melhor exame quando observados cabeça de fêmur ou o osso como um todo (BAE & STEIN⁷, 2004).

Em 1994, a Organização Mundial de Saúde (OMS), recomendou que a osteoporose fosse mensurada por T-escores, calculada com base na densidade mineral óssea (DMO). Para determinar esta medida, deve-se subtrair a DMO encontrada nos pacientes estudados (com osteoporose) pela DMO média padrão de um grupo etário, étnico e sexualmente semelhante, sem osteoporose ou osteopenia (BLAKE & FOGELMAN⁹, 2002; VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004).

Com protocolo estabelecido e adequado para a osteoporose em mulheres, a OMS não estabeleceu o mesmo para homens. Assim, são utilizados os parâmetros femininos em homens, podendo estimar valores inadequados para a osteoporose masculina (BAE & STEIN⁷, 2004; VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004).

A tomografia computadorizada avalia a densidade nos ossos, isolando o trabecular do cortical. Como o osso trabecular apresenta maior *turnover* que o cortical, este é considerado um exame mais sensível e claro que o DEXA. Porém, comparado com este último, tem maior quantidade de radiação emitida e é menos acessível à população (TAKAHASHI et al.⁷⁰, 1999; BAE & STEIN⁷, 2004). A tomografia micro-computadorizada (MCT) permite uma visão direta tridimensional das trabéculas, possibilitando medir seu número, conectividade, espessura e resistência à tração (BOONEN¹⁰, 2004).

Imagens de ressonância magnética de alta resolução estão sendo investigadas para estudar o osso trabecular e suas propriedades mecânicas (TAKAHASHI et al.⁷⁰, 1999).

Novos métodos para mensuração rápida e precisa da mineralização surgem a cada ano, sendo esta uma área dinâmica de pesquisa em busca de uma melhor detecção da qualidade e quantidade das condições ósseas.

2.2 O Processo de remodelação óssea

A remodelação óssea é um processo cíclico que envolve formação e reabsorção do osso assim como sua mineralização (GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; LANGER⁴¹, 2004; RANG et al.⁵⁷, 2004). As células responsáveis por este processo são os osteoblastos, que depositam matriz óssea e os osteoclastos, que degradam a matriz presente. Agindo

em conjunto, formam a unidade multicelular básica (BMU). O osteoblasto é considerado o principal agente promotor, controlando também a diferenciação dos osteoclastos durante o contato intercelular (BOYLE et al.¹², 2003; RANG et al.⁵⁷, 2004; JUNQUEIRA & CARNEIRO³⁸, 2004).

Os osteoclastos agem aderindo-se à matriz do osso mineralizado que será reabsorvido, formando uma zona de adesão ou zona selada. Esta adesão é bem organizada, envolvendo a interação específica entre moléculas da membrana celular e proteínas específicas da matriz óssea, sendo delimitada por um anel de membrana plasmática. Funcionalmente esta área é considerada um compartimento de reabsorção óssea (BOYLE et al.¹², 2003; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; LANGER⁴¹, 2004). No interior desse compartimento, enzimas proteolíticas que foram produzidas pelos osteoclastos são secretadas. Estas digerem a matriz mineral e orgânica quando em ambiente ácido. Simultaneamente ocorre a diminuição do pH neste compartimento pelo bombeamento ativo de prótons, bem como a formação da borda em escova, modificação da membrana plasmática na porção da célula em contato direto com a área de reabsorção óssea com finalidade de aumentar a área ativa de célula em contato com o osso a ser reabsorvido. Além de secretar H⁺ para o meio, uma vez estimulado, o osteoclasto produz quantidades substanciais de ácido láctico e hialurônico, o que resulta numa redução do pH local e maior poder de dissolução das fibras colágenas (TEITELBAUN⁷¹, 2000; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; LANGER⁴¹, 2004).

Após reabsorver o tecido ósseo até certa profundidade, o osteoclasto se solta, move-se ao longo da superfície óssea até encontrar um novo sítio de adesão, onde uma nova zona de reabsorção será formada. Ao longo deste processo, cálcio, fosfato e outros componentes da matriz óssea serão liberados para a circulação, podendo também servir localmente como agentes de acoplamento entre formação e reabsorção óssea (GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003).

Quando os osteoclastos saem das áreas dissolvidas, migram para a região cerca de cem a cento e cinquenta osteoblastos para cada osteoclasto antes presente (LANGER⁴¹, 2004), constituindo a chamada frente de formação e mineralização óssea. Nesse local, há um equilíbrio de íons, permitindo que os osteoblastos iniciem a síntese e deposição de matriz óssea. Inicialmente a matriz é depositada de maneira aleatória, formando o tecido ósseo primário; posteriormente organizando-se em tecido ósseo maduro ou secundário. A formação óssea é proporcional ao número de osteoblastos presentes e quanto maior o tempo de vida destas células, maior será a osteogênese local (DUCY et al.²², 2000).

O fato da remodelação óssea ocorrer simultaneamente em diferentes locais, é interpretado como evidência da existência de um controle local, através de mecanismos autócrinos e/ou parácrinos, além de controle sistêmico, através do sistema endócrino (DUCY et al.²², 2000). Assim sendo, vários são os fatores que modulam a remodelação óssea, bem como a relação do cálcio e fósforo circulantes no organismo. Entre eles temos a ação de citocinas, interleucinas, fatores de crescimento, vitamina D, vários hormônios como o paratireoidiano e tireoidiano, hormônios gonadais (particularmente estrógeno e progesterona), corticosteróides, calcitonina e atividade física (DUCY et al.²², 2000; ALKAN et al.¹, 2002; BAE & STEIN⁷, 2004; RANG et al.⁵⁷, 2004).

Diferentes tipos de ossos têm velocidades de remodelação diferentes. Cerca de 30% do osso trabecular renova-se anualmente enquanto apenas 3% do osso cortical são renovados neste período. Este fato torna-se importante, pois ressalta a suscetibilidade muito maior do osso trabecular aos fatores que interferem na remodelação óssea (LANGER⁴¹, 2003).

2.3 Reparo ósseo

Nos pacientes com osteoporose, observamos que não há equilíbrio entre a reabsorção e formação óssea, sendo a taxa de reabsorção maior. Desta forma, acredita-se que o reparo ósseo será dificultado nestes indivíduos. Diversos são os estudos realizados simulando traumas ósseos, nos quais, lesões são confeccionadas para observar o processo de reparo nesse tecido (GOSAIN et al.²⁸, 2000).

Em animais normais, defeitos de vários tamanhos podem ser realizados com brocas esféricas diamantadas ou carbide ou com brocas trefina, em diversas localizações. Gosain et al.²⁸ (2000) definem que o tamanho crítico para o defeito ósseo em um estudo em animais, é aquele que certamente não terá seu reparo total durante o período a ser estudado. Avaliaram o tamanho crítico realizando lesões com diferentes dimensões em calota craniana de cobaias e observando o processo de reparo em diferentes períodos de tempo, concluindo que as avaliações histométricas devem ser mais sensíveis em relação à mensuração da quantidade de osso formada, sugerindo estudos tridimensionais.

A partir da lesão óssea, ocorre a ativação de diversos fatores e células de maneira simultânea, objetivando o reparo da área. Imediatamente após a lesão, intensa hemorragia local é verificada devido ao rompimento de vasos sanguíneos, destruição de matriz óssea e morte de células ósseas (osteócitos e osteoblastos). Além da lesão óssea propriamente dita, normalmente ocorre injúria nos tecidos moles adjacentes, envolvendo endóstio e perióstio, tecidos com grande potencial proliferativo que atuarão de maneira importante no reparo (TROWBRIDGE & EMLING⁷³, 1996). A hemorragia é estancada pela ativação da cascata da coagulação, e o processo inflamatório atua para remover o coágulo formado, restos de células e matriz óssea necrosada (sem suporte nutricional). O coágulo é substituído por tecido de

granulação, que é um tecido conjuntivo jovem e rico em células mesenquimais indiferenciadas e vasos sanguíneos neoformados. Diversos fatores de crescimento são liberados durante este processo a fim de estimular as alterações celulares que ocorrem no local. O perióstio e endóstio respondem com intensa atividade celular, dando origem a numerosas células osteoprogenitoras organizadas como um colar ao redor da área lesada, penetrando nesta e diferenciando-se em osteoblastos (TROWBRIDGE & EMLING⁷³, 1996; GOSAIN et al.²⁸, 2000; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003).

Estas células promoverão a síntese de matriz óssea, inicialmente formando trabéculas delgadas a partir da periferia para o interior da lesão (ALMEIDA et al., 2000). O primeiro tecido formado chamado de tecido ósseo primário, exibe a matriz disposta de maneira aleatória, imatura e pouco mineralizada. Com o passar do tempo e da ação do processo de remodelação, forma-se o tecido ósseo secundário ou maduro, no qual as trabéculas adquirem maior espessura, mineralização e os osteócitos encontram-se regularmente espaçados e dispostos em lamelas concêntricas, organizadas formando os canais de Havers, que facilitam a troca de substâncias entre as células e maior fluxo sanguíneo (SMITH JUNIOR & THIER⁶⁶, 1992; JUNQUEIRA & CARNEIRO³⁸, 2004).

Simultaneamente temos a ação dos osteoclastos que reabsorvem o osso necrótico e com o passar do tempo, agem no tecido ósseo neoformado, remodelando-o (TROWBRIDGE & EMLING⁷³, 1996; JUNQUEIRA & CARNEIRO³⁸, 2004).

Após todo o processo de formação e remodelação óssea, os tecidos assumirão o aspecto morfológico que tinham antes da lesão, ou seja, de tecido ósseo esponjoso ou cortical compacto (TROWBRIDGE & EMLING⁷³, 1996; JUNQUEIRA & CARNEIRO³⁸, 2004).

No entanto, a quantidade e qualidade do osso formado, dependerão de diversos fatores, locais e sistêmicos, como idade,

localização anatômica e estabilidade do defeito, condição do periósteo adjacente, estado nutricional do indivíduo e presença de substâncias que alterem a formação óssea (ALKAN et al.¹, 2002).

2.4 Tratamentos

Diversos estudos são realizados com a finalidade de diminuir os efeitos causados pela perda de massa óssea existente em ambos os sexos após certa idade. Eles têm como objetivo desenvolver medicamentos para melhorar a qualidade de vida destas pessoas (MARCUS⁴³, 1996; MARIE⁴⁵, 2001).

Durante a última década, muito foi estudado e esclarecido, avaliando o efeito das terapias para osteoporose sobre a densidade óssea assim como na diminuição do risco de fraturas, enfatizando a importância do diagnóstico precoce e da prevenção. Porém, o impacto de terapias sobre a microestrutura do osso ainda não alcançou alta especificidade, sendo necessárias novas pesquisas (BOONEN et al.¹¹, 2004).

Os agentes farmacológicos usados para controlar a osteoporose, atuam diminuindo a taxa de degradação óssea promovida pelos osteoclastos ou promovendo a maior síntese de matriz óssea pelos os osteoblastos (MARCUS⁴³, 1996). É importante ressaltar que além do tratamento com medicamentos específicos, a mudança no estilo de vida dos pacientes tem grande influência no sucesso do mesmo (WATTS et al.⁸⁰, 2000; BAE & STEIN⁷, 2004).

2.4.1 Bifosfonatos

São diversas as formas de tratamento para a prevenção da perda óssea decorrente da involução das gônadas e ação do tempo. Estudos são realizados para verificar a capacidade de diferentes terapias, entre as mais estudadas e utilizadas, pode-se citar a reposição hormonal, substâncias fitoterápicas substitutas de estrogênio como as isoflavonas (AMADEI³, 2004), a calcitonina (ARISAWA et al.⁵, 2000), a sinvastatina (JUNQUEIRA et al.³⁸, 2002; ANBINDER⁴, 2004), a vitamina D e medicamentos como os bifosfonatos (RANG et al.⁵⁷, 2004).

Apesar dos bifosfonatos terem sido sintetizados no século XIX, o conhecimento sobre suas características biológicas vem da década de 60. Estudiosos notaram que o pirofosfato, o mais simples fosfato condensado, agregava cristais de fosfato para o cálcio, impedindo que este cálcio formasse cristais ou se dissolvesse *in vitro*. Mais tarde foi demonstrado que o pirofosfato inibia a calcificação em experimentos *in vivo*, sendo sugerido que estes poderiam regular a formação e destruição de tecidos mineralizados, sendo modulado localmente, através de trocas em sua síntese e destruição, pela pirofosfatase entre outras fosfatases alcalinas, explicando a presença da fosfatase alcalina nos locais de mineralização (COMPSON¹⁷, 1994; PLOTKIN⁵⁵, 2004; BAE & STEIN⁷, 2004).

Porém o pirofosfato falhou na experimentação por via oral, sendo inativado pelos ácidos gástricos antes de ser reabsorvido pelo organismo (PLOTKIN⁵⁵, 2004). Em vista deste fracasso, procuraram análogos do pirofosfato que resistissem ao período de "queda" metabólica, mantendo atividade físico-química similar ao pirofosfato. Então, estudos mostraram que os chamados bifosfonatos ou difosfonatos, análogos dos pirofosfatos, agiam de modo similar ao fosfato de cálcio *in*

vitro, inibindo tanto mineralização quanto reabsorção óssea em experimentos animais (BAE & STEIN⁷, 2004; PLOTKIN⁵⁵, 2004).

Os bifosfonatos constituem uma classe de medicamentos muito utilizada atualmente em diversas doenças que têm como característica o aumento da reabsorção óssea, como a doença de Paget do osso, a hipercalcemia associada com tumores malignos ou capacidade renal reduzida com excreção de cálcio, agindo também como regulador da homeostase do cálcio (COMPSON¹⁷, 1994; HARRIS et al.³⁰, 1999; FOGELMAN et al.²⁵, 2000; RISEDRONATE⁵⁹, 2001; HIRABAYASHI & FUJISAKI³², 2003; ROSEN⁶¹, 2003).

Eles agem inibindo os osteoclastos. Uma hipótese é que atuem na prevenção da reabsorção óssea, alterando as proteínas do citoesqueleto dos osteoclastos ou inibindo a síntese do colesterol, o que interfere diretamente na formação da borda em escova. Outra hipótese sugere que induzam apoptose celular, por meio de efeitos citotóxicos diretos (BAE & STEIN⁷, 2004).

Observando a conformação espacial do pirofosfato e do bifosfonato, é possível observar a substituição de um oxigênio por um carbono, o que confere aos bifosfonatos resistência à hidrólise química e enzimática (FIGURA 1). Assim, a molécula do pirofosfato é representada por P-O-P, com ligações de fósforo–oxigênio–fósforo e a molécula do bifosfonato P-C-P, fósforo–carbono–fósforo (COMPSON¹⁷, 1994). Os bifosfonatos ativos têm sua ligação P-C-P estável na presença de aquecimento e da maioria dos reagentes químicos e é completamente resistente à hidrólise enzimática. Esta significativa mudança na estrutura é eventualmente responsável pelo amplo efeito dos bifosfonatos farmacologicamente ativos na inibição da reabsorção óssea (PLOTKIN⁵⁵, 2004).

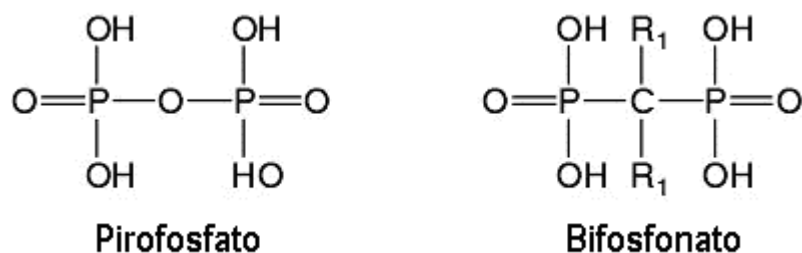


FIGURA1 – Estrutura química do pirofosfato e do bifosfonato¹⁴.

A fórmula química básica dos bifosfonatos, com seus característicos átomos de carbono, permite trocando a cadeia lateral do átomo de carbono, a síntese de um grande número de variações de bifosfonatos. Mesmo pequenas mudanças na estrutura dos vários bifosfonatos afetam suas características físico-químicas e biológicas (HIRABAYASHI & FUJISAKI³², 2003; PLOTKIN⁵⁵, 2004). É cogitado que o efeito anti-reabsortivo seja mediado através de células, porém, este mecanismo ainda não foi claramente explicado. Foram escritos efeitos na diferenciação, recrutamento e atividade dos osteoclastos. Recentemente evidências sugerem que os efeitos na reabsorção óssea também são mediados, pelo menos em parte, por osteoblastos (COMPSON¹⁷, 1994).

Bifosfonatos tem forte afinidade por cristais de hidroxiapatita e mesmo quando administrados em baixas concentrações, inibem a precipitação do fosfato de cálcio; retardam a agregação dos cristais de apatita dentro de aglomerados maiores e diminuem a dissolução dos cristais de apatita. Isto é de grande importância, pois a forte ligação do bifosfonato com o fosfato de cálcio é a base da ação farmacológica específica deste componente no osso e da sua baixa toxicidade (PLOTKIN⁵⁵, 2004). Esse fenômeno se dá por um mecanismo físico-químico, sendo que essa capacidade irá variar consideravelmente entre bifosfonatos, não sendo relacionada com a potencialidade de anti-reabsorção (COMPSON¹⁷, 1994; HIRABAYASHI & FUJISAKI³², 2003).

Os compostos dos bifosfonatos são hidrofílicos e altamente solúveis em água, conjugando a natureza ácida ao pH fisiológico, eles dificilmente ultrapassam membranas celulares de tecidos moles. Essa propriedade físico-química também reduz a capacidade intrínseca da substância ao metabolismo, promovendo excreção urinária e biliar da molécula praticamente não alterada (HIRABAYASHI & FUJISAKI³², 2003), entretanto, alguns componentes colaterais podem sofrer modificação (MARCUS⁴³,1996), não devendo ser utilizados por pacientes com disfunção renal (CRANDALL¹⁹, 2001).

Sua absorção intestinal é pobre, variando de 0,5-3%, podendo ser reduzida se ingerido o medicamento juntamente com alimento, especialmente os que contêm cálcio. A meia vida plasmática é alta, variando em torno de duas horas, sendo que 20-60% do medicamento é absorvido em frações pelo esqueleto (CRANDALL¹⁹, 2001). Devem ser ingeridos em jejum apenas com água, duas horas antes do café da manhã, e o paciente deve permanecer ereto e sem comer pelo período de 30 minutos, com finalidade de evitar agressão esofágica (FOGELMAN et al.²⁵, 2000; CRANDALL¹⁹, 2001; RISEDRONATE⁵⁹, 2001). Caso ingerido uma hora antes do café da manhã, a absorção do mesmo será 30% inferior (CRANDALL¹⁹, 2001).

A meia vida do medicamento é bastante alta no interior do osso e em alguns casos mantida no esqueleto a vida toda. Mudanças na remodelação óssea induzida pelos bifosfonatos são particularmente relevantes frente ao seu uso prolongado na prevenção e tratamento da osteoporose (WATTS⁸¹, 2004). A concentração sistêmica do fármaco precisa manter um nível plasmático constante que permita sua ação farmacológica (HIRABAYASHI & FUJISAKI³², 2003).

Sistemas marcadores de substâncias também tem sido utilizados para avaliar os efeitos de alguns medicamentos. Hirabayashi & Fujisaki³² (2003), em experimentos com animais, analisaram a característica osteotrópica do bifosfonato, utilizando o bifosfonato

associado a uma pró-droga marcada (carboxifluorecina – CF-bifosfonatos). Administrada por via intravenosa, a substância saiu da circulação, sendo mais de 60% rapidamente localizada nos ossos e retida nestes por longo período, com vida-média de 3,2 dias (HIRABAYASHI & FUJISAKI³², 2003). Este método de análise auxiliou na busca de medicamentos realmente específicos para os ossos, permitindo avaliar melhor sua eficiência.

Chaves¹⁵ (2003), estudando ratos com osteopenia, concluiu que o risedronato teve ação anti-reabsortiva óssea efetiva em animais castrados.

É grande a evidência de que os bifosfonatos reduzem o *turnover* do osso, guiando para um transitório aumento da massa óssea como resultado da formação sem a existência de cavidades de reabsorção. Entretanto, os efeitos no balanço de remodelação são menos definidos e não podem ser deduzidos apenas através dos marcadores bioquímicos (TAKAHASHI et al.⁷⁰, 1999; WATTS⁸⁰, 2004).

Os bifosfonatos são mais efetivos na prevenção de perda óssea do que no tratamento da doença estabelecida, pois o osso já afetado necessita restauração tanto na massa quanto na sua estrutura. Estudos clínicos recomendam que pacientes com osteoporose e quadro de fratura óssea, sejam tratados com medicamentos específicos para fratura e não com medicamentos direcionados para o aumento da densidade mineral óssea (WATTS⁸⁰, 2004). Sua eficácia na prevenção em homens é estabelecida em casos de osteoporose primária e investigada com sucesso em casos de osteoporose secundária (BAE & STEIN⁷, 2004).

Estudos *in vitro*, demonstram que os bifosfonatos estimulam a proliferação de osteoblastos (WANG et al.⁸², 2003; RANG et al.⁵⁷, 2004), promovem o aumento da absorção intestinal de cálcio, estimulam a formação do colágeno da cartilagem e inibem o ácido láctico e a síntese de prostaglandinas (WANG et al.⁸², 2003).

Os principais representantes dos bifosfonatos são o etidronato, alendronato e o risedronato, sendo estes considerados medicamentos de primeira linha para a osteoporose (CRANNEY²⁰, 2002; LANGER⁴¹, 2004).

O risedronato, com nome químico, [1-hidroxi-2-(3-piridinil) ethilidene] bis [ácido fosfórico] sal monossódico (HARRIS et al.³⁰, 1999), é a terceira-geração de bifosfonatos, que por virtude do átomo de nitrogênio terciário, age de forma mais potente. Administrado oralmente, sua dosagem é expressa em termos do sal, tanto para prevenção quanto tratamento, podendo ser usado uma vez por semana na dose de 35mg ou diariamente 5mg (TAKAHASHI et al.⁷⁰, 1999; FOGELMAN et al.²⁵, 2000; RISEDRONATE⁵⁹, 2001; WATTS⁷⁹, 2003).

Como a maioria dos bifosfonatos, o risedronato também não deve ser administrado em pacientes com insuficiência renal (RISEDRONATE⁵⁹, 2001).

Estudos sobre o risedronato encontraram evidências comprovando sua maior efetividade antireabsortiva. Mostrando estimular aumento da densidade óssea em maior quantidade que outros medicamentos com esta mesma função, como o caso do raloxifeno ou calcitonina (HARRIS et al.³⁰, 1999; BLAKE & FOGELMAN⁹, 2002; BOONEN et al.¹⁰, 2004).

Ele atua a nível celular. Quando os osteoclastos chegam ao osso para reabsorvê-lo, o medicamento é internalizado, pois se encontra conjugado à hidroxiapatita. No interior do osteoclasto, o risedronato vai produzir uma alteração do citoesqueleto, provocando a perda de estruturas intracelulares implicadas na secreção de enzimas hidrolíticas e de heterogêneas (H_3O^+), necessárias para a ação destrutiva dos osteoclastos sobre o tecido ósseo. Alguns estudos indicam que o risedronato é capaz de provocar apoptose dos osteoclastos (CONSEJO GENERAL DE COLEJOS OFICIALES DE FARMACEUTICOS¹⁸, 2000; TEITELBAUM⁷¹, 2000; VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004)

Apesar da semelhança estrutural existente entre os diversos bifosfonatos, existem diferenças no mecanismo de ação, embora todos sejam capazes de inibir a reabsorção óssea, uns afetam os processos de mineralização e outros os de reabsorção do osso. A ação *in vitro* não é sempre correlacionada com os resultados terapêuticos observados (CONSEJO GENERAL DE COLEJOS OFICIALES DE FARMACEUTICOS¹⁸, 2000).

A capacidade inibidora da reabsorção óssea ligada aos bifosfonatos parece ser potencializada pela presença de grupos amino na cadeia lateral (FIGURA 2), tal como ocorre no alendronato, ibandronato e pamidronato. Esta capacidade é aumentada no risedronato graças à integração do grupo a um anel aromático (piridina) (CONSEJO GENERAL DE COLEJOS OFICIALES DE FARMACEUTICOS¹⁸, 2000). Com a presença do nitrogênio neste anel, o bifosfonato é fixado rapidamente no tecido mineral (RODAN & RESZKA⁶⁰, 2003).

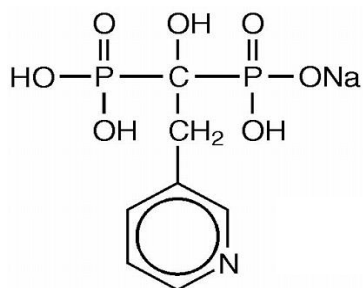


FIGURA 2 – Estrutura química do risedronato¹⁴.

Evidência da ação anti-reabsortiva sobre a estrutura óssea foi observada em pesquisas realizadas por Takahashi et al.⁷⁰ (1999), que através de tomografia micro-computadorizada e obtenção de imagens tridimensionais (3D), visualizaram a microarquitetura óssea em porcos miniatura que receberam risedronato durante 18 meses. Estes

quando comparados com animais controle não tratados, apresentaram trabéculas ósseas com espessura, número e conectividade relativamente melhores e com pontes ósseas preservadas. Através do teste de compressão, foi comprovado que estas mudanças estavam associadas com a capacidade de resistência à carga apoiada nas trabéculas ósseas. Unindo as melhores características de arquitetura e de massa óssea, o risco estimado de fratura, diminuiu em mais de 90%. Portanto, o uso do risedronato induziu alterações no osso, que devem ser o motivo da melhor qualidade e resistência óssea (TAKAHASHI et al.⁷⁰, 1999).

A *Food and Drug Administration* (FDA) considera o risedronato um medicamento indicado para homens com osteoporose, incluindo também outros dois medicamentos, alendronato e teriparatida (VONDRACEK & HANSEN⁷⁸, 2004). É importante ressaltar que a medicamento ideal deve ser escolhida levando em conta a idade e doenças associadas de cada paciente individualmente e com muito critério (FUKS²⁶, 2004). Autores orientam durante o tratamento a fazer complementação na dieta com cálcio e vitamina D (JEE³⁶, 1995; FOGELMAN et al.²⁵, 2000; RISEDRONATE⁵⁹, 2001; WATTS et al.⁸¹, 2003; MUSSOLINO et al.⁵¹, 2003; NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION⁵²; 2004). Com o uso continuado de no mínimo três anos, o risco de fratura vertebral decai para 50%. É sabido que esse efeito persiste por até três anos quando o uso da substância é interrompido (BOONEM et al.¹¹, 2004).

Para determinar a eficácia do risedronato em mulheres com 80 anos ou mais, Boonem et al.¹¹ (2004) analisaram de maneira randomizada, controlada, em estudo duplo-cego, 8.680 pacientes, dividindo-os em grupo controle (que recebeu placebo) e grupo risedronato (2,5 ou 5mg por dia), estudando fraturas com um e três anos de tratamento. Mediram de forma acumulativa a condição óssea e avaliaram a incidência de novas fraturas ocorridas neste período. Com isso, concluíram que após um ano de uso do risedronato, o risco de novas

fraturas vertebrais nestes pacientes foi 81% menor do que nos pacientes que receberam placebo. E aos três anos, o risco de novas fraturas em ossos não vertebrais, foi de 14% no grupo recebendo risedronato e 16,2% no grupo placebo.

McClung et al.⁴⁶ (2001) estudaram 5445 mulheres entre setenta e 79 anos, com osteoporose e fraturas nos ossos do quadril ou em outros ossos, sendo 1821 tratadas com placebo e 3624 com risedronato (2,5 e 5,0mg/dia). Concluíram que o risedronato diminuiu significativamente o risco de fraturas vertebrais e não vertebrais em mulheres com osteoporose.

Watts et al.⁷⁹ (2003) realizaram estudo comparando 1226 pacientes na Europa e Austrália com 2458 pacientes nos Estados Unidos, sendo que todos os participantes apresentavam fratura vertebral, comprovada por duas ou mais radiografias da região (T4-L4). Todas as pacientes participantes tinham menos de 85 anos e já tinham entrado no processo de menopausa há pelo menos cinco anos. Nos dois estudos, os pacientes foram igualmente instruídos a tomar risedronato 5mg/dia, 2,5mg/dia ou placebo, complementando com 1000 mg/dia de cálcio, além de 500 UI/dia de vitamina D. Os autores concluíram que o tratamento com 5mg/dia de risedronato mostrou-se significativo e consistente para redução do risco de novas fraturas vertebrais, evidente após um ano de tratamento, principalmente no grupo com alto risco de fraturas.

Fogelman et al.²⁵ (2000) em estudos com 355 mulheres com 80 anos, em treze diferentes centros na França, avaliaram a eficácia do risedronato administrado em 2,5mg ou 5mg por dia, comparando com um grupo controle, em período de 24 meses. Pacientes com patologias associadas à alteração nos ossos (hiperparatireoidismo, hipertireoidismo, osteomalácia) ou realizando tratamentos que interferem no metabolismo ósseo foram excluídos. Avaliaram por meio da BMD (pelo método DEXA), as vértebras lombares, cabeça e corpo do fêmur. Após os 24 meses, os pacientes que receberam 5mg/dia de risedronato apresentaram aumento

na BMD de 4% ao mês, também constatado nos exames com seis, 12 e 18 meses. Os pacientes que receberam 2,5mg/dia também apresentaram aumento da BMD, porém em quantidade de 1,4% ao mês. Através de marcadores bioquímicos, confirmaram que diferenças percentuais comparando o grupo placebo e o grupo risedronato 5mg, foram significantes em todos os períodos testados.

2.4.2 Homeopatia

A medicina alternativa engloba diversas formas de interpretação e de tratamento das doenças, nas quais a cura das doenças é baseada na interação dos campos energéticos humanos com outros campos energéticos. O corpo humano sofre influências de diversos tipos de energias e também emite energias. Saúde e doença parecem estar relacionadas ao fluxo constante e fácil destes sistemas energéticos ou ao desequilíbrio deste. Os estudiosos e terapeutas nesta área são capazes de descrever o padrão de movimentos das energias que são típicas e específicas de cada doença. O paciente é visto de uma forma global, individualizado de outros pacientes e seu tratamento é realizado de maneira também individualizada (JONES & KASSITY³⁷, 2001).

A homeopatia, considerada uma das grandes áreas da medicina alternativa até 1990, atualmente é reconhecida como especialidade médica oficial. Surgiu no final do século XVII, quando o médico e químico alemão Samuel Christian Friedrich Hahnemann, propôs uma nova abordagem terapêutica para doenças, desiludido com os resultados que a medicina tradicional da época fornecia, com tratamentos invasivos e espoliadores, como sangrias, purgantes, mercúrio, enxofre e outros. Parou de clinicar e dedicou-se a traduzir antigos escritos médicos, buscando formas de tratamento menos ameaçadoras. Interessando-se por uma substância chamada "cinchona" (casca da Chinchona), utilizada no tratamento da malária, resolveu testá-la. Usando diferentes

concentrações a experimentou em si mesmo, percebendo que, a partir de determinada dose, desencadeavam-se nele os mesmos sintomas da enfermidade para a qual era indicada como curativa (no caso a malária). Isso o levou a considerar que uma substância pode provocar sintomas que ela mesma alivia. A partir desta descoberta, nascia a prática da medicina pela lei dos semelhantes (MELLO⁴⁷, 2004).

Esta modalidade terapêutica teve diversos momentos nos quais provou ser eficaz ao longo da História, como em 1799, quando Hahnemann controlou uma epidemia de escarlatina com o medicamento Belladona. Em 1813 tratou uma epidemia de tifo em Leipzig, curando 178 de 180 casos com apenas uma fatalidade. Na grande epidemia de cólera de 1831, a medicina homeopática perdeu apenas seis de 154 pacientes (0,25%), enquanto a medicina convencional da época perdeu 821 de 1501 casos (55%). Nesta época Hahnemann também deu um espantoso ensinamento de saúde pública para época, publicando conselhos sobre ventilação, higiene, esterilização, infecção e quarentena (MELLO⁴⁷, 2004).

Assim, a Homeopatia surgiu como doutrina médica, defendendo a cura das enfermidades pelo princípio das semelhanças (do grego homeo=semelhança e pathos=sofrimento ou doença). Apresentava ideologia antagônica à medicina convencional praticada que defendia o tratamento pela lei dos contrários (ULLMAN⁷⁵, 1998; FISHER & SCOTT²⁴, 2001; MORAES⁴⁹, 2004; MELO⁴⁷, 2004).

Chegou à América no início do século XX, originando 22 cursos, inclusive em conhecidas universidades como a Boston University e Michigan University entre outras (ULLMAN⁷⁵, 1998). No Brasil, o reconhecimento de sua eficácia vem desde a época do Império, mas só em 1980 ela foi reconhecida pelo Conselho Federal de Medicina e em 1990 passou a constar do Conselho de Especialidades Médicas da Associação Médica Brasileira, deixando assim de fazer parte das terapias alternativas (MORAES⁴⁹, 2004).

Muitas substâncias foram experimentadas visando avaliar seu potencial medicamentoso, em diferentes concentrações. Os medicamentos homeopáticos têm diversas origens nos reinos animal, vegetal e mineral. As matérias-primas utilizadas variam de substâncias sem efeito se usadas alopaticamente, como o *Lycopodium*, a substâncias altamente tóxicas como diversos tipos de venenos todas, porém, com efeito terapêutico homeopático (MORAES⁵⁰, 2004).

Segundo a homeopatia, todo o indivíduo ou ser vivo possui uma energia interna chamada força vital, que quando em harmonia mantêm o estado de saúde do indivíduo. Quando essa energia é rompida ou desequilibrada, desenvolvem-se os problemas de saúde, que podem se manifestar de diversas formas com diferentes níveis de gravidade. Assim as classificações dos distúrbios de saúde consideram o indivíduo doente como um todo e não com doenças isoladas, localizadas em determinado órgão, sistema ou tecido. A homeopatia busca estimular a própria resposta de cura do organismo, os mecanismos de defesa naturais, de modo que estes atuem na prevenção e cura das doenças (VOISIN⁷⁷, 1987; FISHER & SCOTT²⁴, 2001).

O princípio da semelhança parte da premissa que, a mesma substância que desequilibra o organismo, pode promover sua cura, quando preparada de maneira adequada (altas diluições e dinamização). Deste conceito, parte o dogma central da homeopatia, em latim: "*Similia similibus curantur*", ou seja, "o semelhante se cura pelo semelhante" (ULLMAN⁷⁵, 1998; VOISIN⁷⁷, 1987; MORAES⁴⁸⁻⁵⁰, 2004; PHILIPPE⁵⁴, 2004).

As altas diluições assim obtidas não apresentam os efeitos tóxicos eventualmente presentes nas substâncias originais e podem ser administradas aos pacientes praticamente sem riscos. Com a finalidade de padronizar as "pequenas doses", Hahnemann utilizou um método de diluições sucessivas a partir de uma solução original

concentrada da substância a ser usada como medicamento (Tintura Mãe - TM), intercalada por agitações (MORAES⁴⁸⁻⁵⁰, 2004; PHILIPPE⁵⁴, 2004).

Na farmacotécnica homeopática esse processo de manipulação com altas diluições do medicamento é chamado de dinamização. A razão da diluição realizada em cada etapa do processo define a escala utilizada. Quando cada etapa do processo dilui a solução anterior numa razão de um para cem, diz-se que a escala é centesimal, identificada com a letra “C”. Quando a razão é de um para dez, diz-se que é “decimal”, utilizando-se as letras D ou X. Além dessa notação identifica-se a quantidade de diluições com um número ordinal. A agitação seqüencial, chamada de sucussão é realizada de forma ritmada, em número de 100, manual quando seguindo a técnica hahnemanianna original, ou automatizada (PHILIPPE⁵⁴, 2004). Tem por finalidade promover a ativação energética do medicamento. A notação CH eventualmente é utilizada para reforçar o fato de o medicamento ter sido preparado através da técnica hahnemanianna tradicional, de frascos individuais para cada diluição e agitação manual (ULLMAN⁷⁵, 1998; PHILIPPE⁵⁴, 2004, MORAES⁵⁰, 2004).

Assim, o medicamento homeopático se define pelo nome da substância original em latim seguida de sua escala de diluição e do número de diluições realizadas, além da apresentação farmacêutica escolhida (líquido, glóbulos, tabletes ou comprimidos, pó, pomadas e óvulos) e sua quantidade em mililitros ou gramas (PHILIPPE⁵⁴, 2004).

O medicamento homeopático deve ser veiculado em substâncias inertes para sua absorção, após a obtenção do medicamento dinamizado. Normalmente usa-se como veículo a lactose, que é o açúcar de leite, nos medicamentos em forma de pós (embalados em papéis) ou em tabletes. Também podem ser usados glóbulos de sacarose, que é o açúcar de cana impregnados do medicamento, ou a forma líquida que utiliza na veiculação água alcoolizada. Já as formas de pomadas, óvulos

e supositórios são obtidos com as tinturas-mãe misturadas em vaselina sólida, nas proporções adequadas (MORAES⁵⁰, 2004).

É necessário que haja todo um cuidado quanto à manipulação dos medicamentos homeopáticos, evitando tocar com as mãos antes da administração. Devido à natureza energética dos medicamentos, estes são sensíveis a frio e calor excessivo e devem ser mantidos longe de televisões, microondas, aparelhos de som ou qualquer outra coisa que emita um campo magnético. Cheiros fortes como mentol, pimenta, café, essências e outros agentes químicos também podem alterar sua potência (SILVA⁶⁴, 2001; MELLO⁴⁷, 2004).

Várias explicações têm sido propostas para esclarecer como os remédios homeopáticos funcionam. Estudos de pesquisa em homeopatia têm sido contraditórios. Alguns concluíram que não há evidências fortes que suportem seus efeitos em qualquer condição clínica, enquanto outros encontraram efeitos positivos. Entretanto, esses efeitos ainda não são totalmente explicados em termos científicos (FISHER & SCOTT²⁴, 2001; SILVA⁶⁴, 2001).

A *Calcareo phosphorica* é um dos medicamentos homeopáticos que atua sobre o tecido ósseo. O fósforo está presente no corpo principalmente sob a forma de fosfato, tem papel importante para o organismo, como componente importante na ativação de enzimas, hormônios e sinalização de moléculas celulares que dependem de fosforilação, bem como na constituição nuclear (DNA e RNA). No osso atua como componente estrutural sob a forma de fosfato de cálcio, também conhecido como hidroxiapatita, que compreende aproximadamente 85% de todo o fosfato contido no organismo (HIGDON³¹, 2003).

Formulada a partir da diluição do fosfato de cálcio, participa da formação de novas células do sangue e da primeira base necessária para tecidos novos iniciarem seu crescimento. Age de forma curativa nas doenças dependentes de distúrbios das moléculas de cálcio

no organismo, tal como ocorre na formação tardia de calos nas extremidades de fraturas ósseas, no crescimento não natural e deficiente do osso. Prescrita em casos de fraturas e lesões ósseas acompanhadas de dores com sensação de rastejamento, adormecimento e frialdade, dores repuxantes ou dilacerantes nos ossos e também para dificuldade de união das fraturas, principalmente em idosos (TYLER⁷⁴, 1992).

Segundo Vijnovsky⁷⁶ (1992), pelo fato da *Calcarea phosphorica* ser o principal constituinte ósseo, sua ação medicamentosa fundamental é manifestada nos ossos. Por isso é indicada na formação lenta ou tardia do calo, podendo ser usada preventivamente nas fraturas, pois acelera a formação óssea (KENT⁴⁰, 1989). Também é indicada em alterações do raquitismo como ossos encurvados, amolecidos, finos e frágeis, fontanelas e suturas que persistem abertas por tempo prolongado, dentição tardia ou complicada entre vários outros distúrbios dos tecidos ósseos. Segundo este autor, a *Calcarea phosphorica* alivia dores ósseas com sensação de adormecimento, formigamento, calafrios, tipo reumáticas que pioram com o frio.

Voisin⁷⁷ (1987) relata que a ação alopática e homeopática da *Calcarea phosphorica* são muito próximas, com importante ação em distúrbios da ossificação e descalcificação.

Senra et al.⁶⁵ (2004) estudaram o reparo ósseo em ratos hipertensos, demonstrando que entre os animais que receberam *Calcarea phosphorica* e *Calcarea fluorica*, os animais que receberam *Calcarea phosphorica* tiveram melhor reparo.

3 PROPOSIÇÃO

Este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do tratamento com a *Calcareia phosphorica* 6CH e o risedronato sobre o processo de reparo ósseo em ratos machos com osteopenia, através de densitometria óssea e avaliação histomorfológica e histomorfométrica.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Animais e grupos experimentais

Para a realização deste trabalho foram utilizados oitenta e quatro ratos machos adultos (*Rattus norvegicus*, variação *albinus*, Wistar) com aproximadamente noventa dias de idade, peso em torno de 300 gramas, mantidos em gaiolas em temperatura ambiente, alimentados com ração Guabi Nutrilabor e água *ad libitum*, durante todo o experimento, fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP.

Este estudo foi realizado de acordo com os Princípios Éticos para a Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOSJC-UNESP com o protocolo número 0021/2003 (Anexo A).

Os animais foram divididos em quatro grupos:

- a) Grupo CS – não castrado ou sham, no qual os animais foram submetidos à falsa castração recebendo placebo (água), servindo para controle dos outros grupos;
- b) Grupo C – castrado – no qual os animais foram castrados e recebendo placebo (água);
- c) Grupo CCp – no qual os animais foram castrados e medicados com *Calcareia phosphorica* 6CH;
- d) Grupo CR – no qual os animais foram castrados e medicados com risedronato (Actonel®).

Trinta dias após a castração (falsa ou verdadeira), todos

os animais foram submetidos à realização de lesão óssea na tíbia. A partir do dia de lesão óssea, os animais receberam o tratamento de acordo com o respectivo grupo, com o uso ou não dos medicamentos teste, até o dia do sacrifício. Este foi realizado em grupos de sete animais, que foram sacrificados aos sete, 14 e 28 dias após o início do tratamento. Conforme demonstrado no diagrama seguinte (Figura 3).

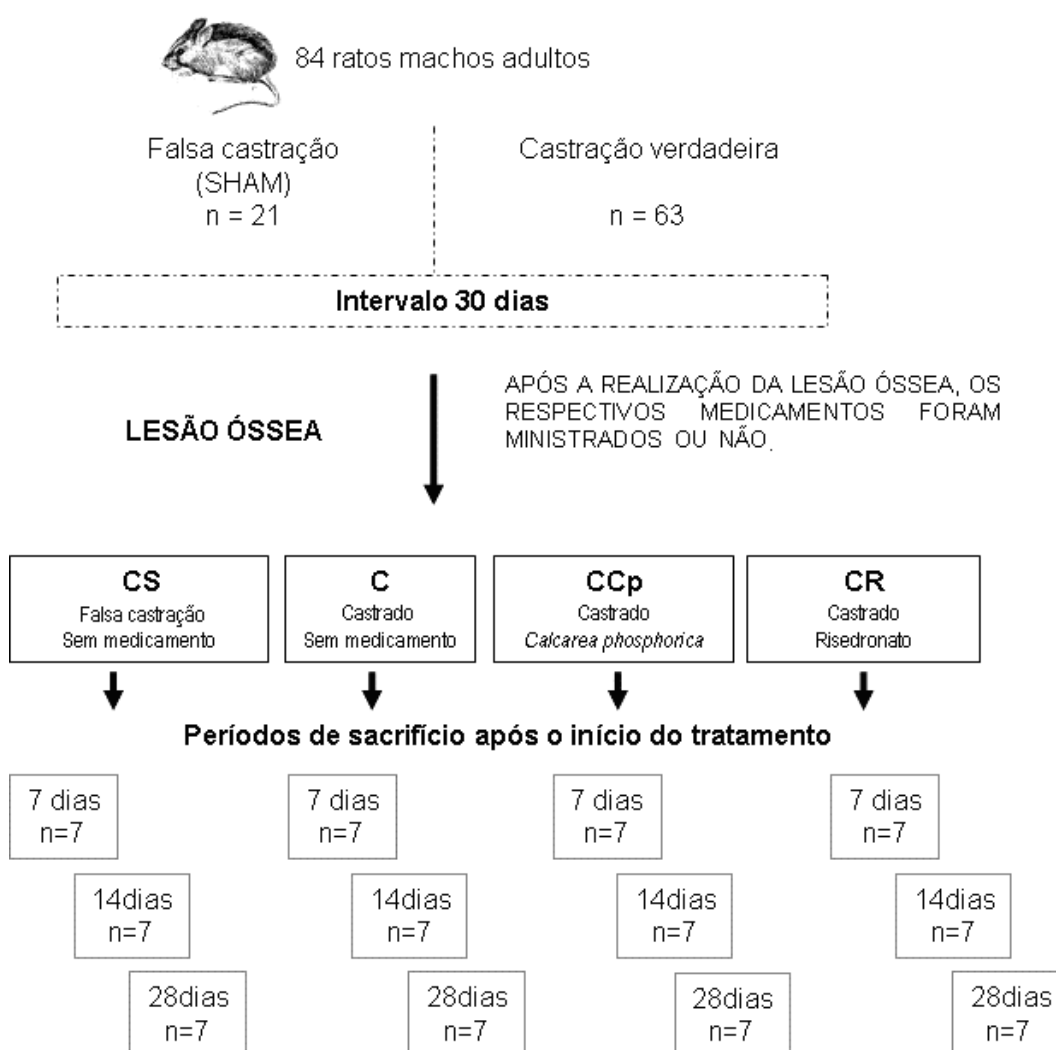


FIGURA 3 - Esquema demonstrativo dos procedimentos realizados em função do tratamento e do tempo.

4.2 Procedimentos cirúrgicos

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados na sala cirúrgica do Biotério da Faculdade de São José dos Campos – UNESP.

4.2.1 Anestesia

Para todos os procedimentos cirúrgicos, foi utilizada para anestesia geral uma mistura de 13mg/kg de cloridrato xilasina 2% (Rompun – Bayer – São Paulo, SP, Brasil), substância sedativa, analgésica e relaxante muscular com 33mg/kg de ketamina base (Dopalen - Agribrands do Brasil), anestésico geral.

4.2.2 Antibiótico

Após os procedimentos cirúrgicos para confecção do defeito ósseo, todos os animais receberam dose única de 1mg/kg do antibiótico (Pentabiótico Veterinário - Fort Dodge) por via intramuscular.

4.2.3 Castração verdadeira e falsa

Para a castração verdadeira, os ratos, depois de anestesiados, foram posicionados em decúbito dorsal, tendo seu escroto desinfetado com álcool iodado. Realizou-se incisão longitudinal na linha média do saco escrotal com lâmina de bisturi nº15, exposição dos

testículos nos quais foi realizada a ligadura do pedículo vascular seguida de seccionamento e remoção dos testículos. A ferida operatória foi suturada com fio de algodão nº4 e o local novamente desinfetado com álcool iodado (Figura 4).

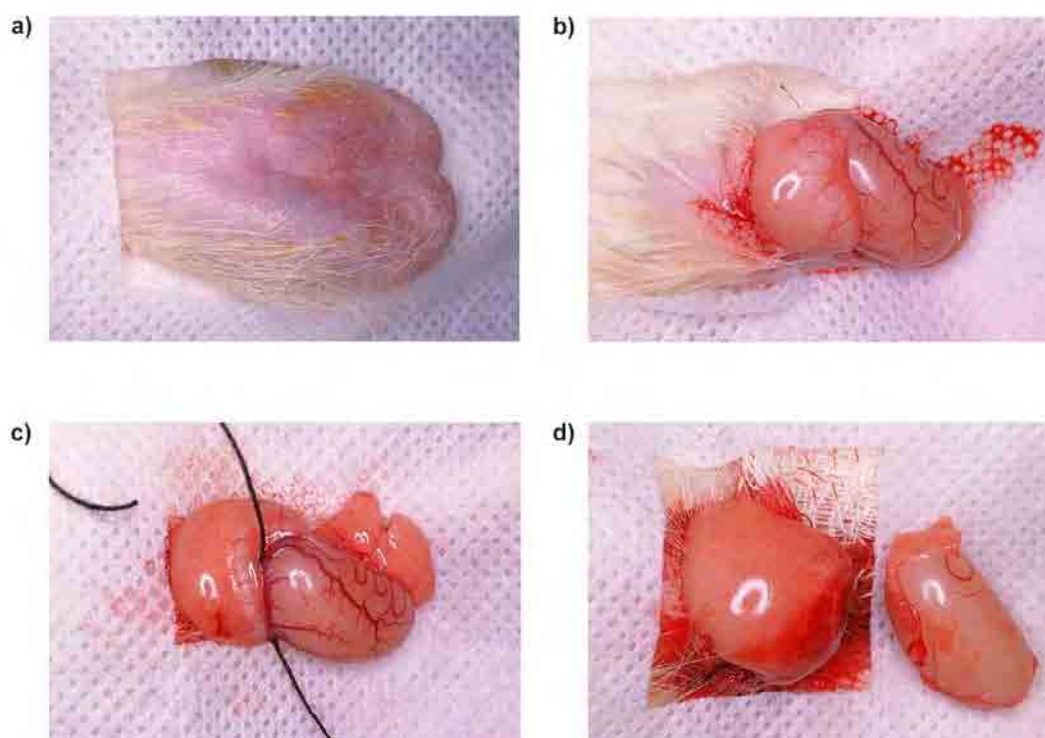


FIGURA 4 - Castração do rato macho: a) desinfecção do escroto; b) exposição do testículo; c) ligadura do pedículo vascular; d) remoção do testículo.

Para a castração falsa (castração *sham*), os animais foram igualmente anestesiados e preparados, tendo seus testículos expostos e reposicionados no escroto sem ligadura do pedículo vascular. A ferida cirúrgica foi suturada com fio de algodão nº4, e desinfetada com álcool iodado do mesmo modo que o grupo castrado.

4.3 Defeitos ósseos

Trinta dias após a castração, todos os ratos foram anestesiados para a realização do defeito ósseo experimental monocortical na tíbia direita.

Após a depilação da pele e antissepsia com álcool iodado, realizou-se incisão de extensão aproximada de 1,5cm em pele e músculo na região do terço proximal tibiano, até alcançar o periósteo, com lâmina intercambiável nº15 montada em bisturi Barder-Parker. Os tecidos moles e periósteo foram afastados com espátula nº 7 até a exposição do tecido ósseo. Um defeito monocortical foi realizado na região de maior extensão látero-medial do osso, com a utilização de broca trefina de 2mm de diâmetro e aumentado com broca de aço esférica nº 8, utilizando-se motor elétrico (Asséptico– AEV- 707 Implant Surgery System), na velocidade de 1400 rpm sob irrigação constante e abundante com solução de estéril de cloreto de sódio a 0,9% durante toda a manipulação. O defeito final apresentava-se de forma arredondada medindo 3,0mm de diâmetro, sendo confirmado este tamanho com auxílio de sonda periodontal milimetrada (HuFridy) (Figura 5).

Após a estabilização do coágulo sanguíneo no defeito ósseo, a camada muscular foi suturada e posteriormente a pele subjacente com fio de seda nº4 (Ethicon - Johnson & Johnson) sendo novamente realizada a anti-sepsia com álcool iodado na área operada.

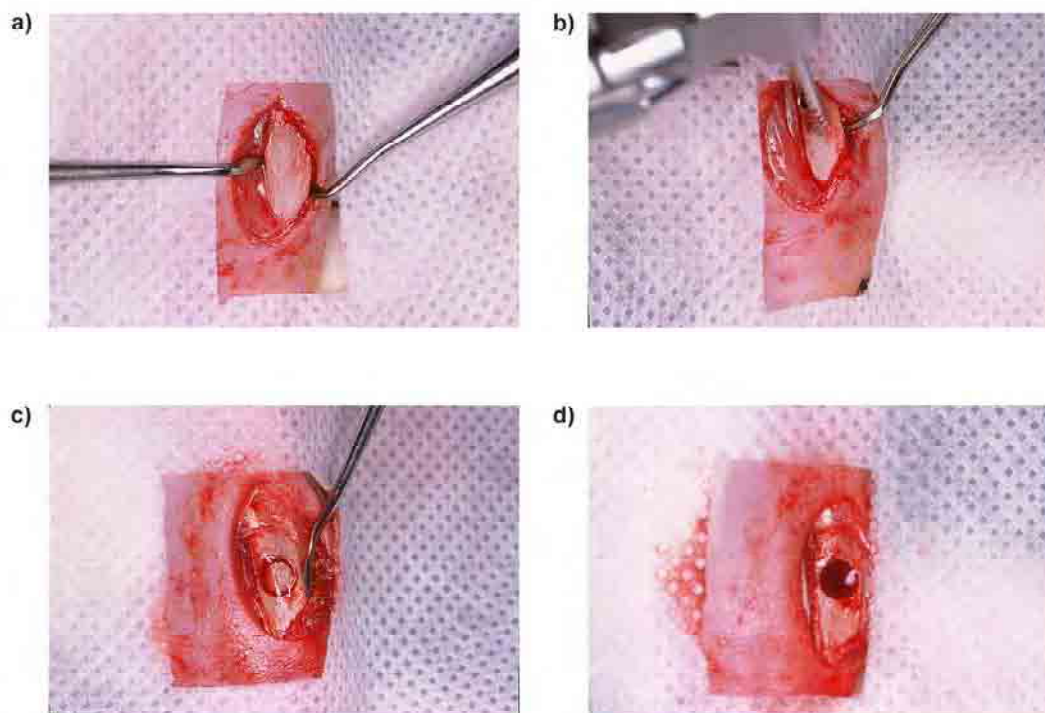


FIGURA 5 - Procedimento cirúrgico para realização do defeito ósseo: a) exposição do tecido ósseo; b) realização do defeito com broca trefina; c) visualização do defeito de 3mm; d) defeito ósseo.

4.4 Tratamento e preparação do medicamento

O medicamento alopático risedronato (Actonel®) foi administrado na dose de 1mg/kg diluído em veículo aquoso, uma vez ao dia. A diluição foi realizada no momento da administração e calculada para que a dose por animal, correspondesse a três gotas, as quais foram administradas via oral com auxílio de conta gotas.

O medicamento *Calcareo phosphorica* 6CH (Pharmaciantiga - Homeopatia), preparado em solução hidroalcoólica, foi administrado por via oral, em dose de três gotas por animal, uma vez ao dia com o auxílio de conta-gotas (Figura 6).



FIGURA 6 - Administração do medicamento por via oral, com auxílio de conta gotas e imobilização manual do animal.

4.5 Eutanásia e coleta do material

Para a eutanásia foi utilizada dose excessiva de anestésico geral, em sete animais de cada grupo, aos sete, 14 e 28 dias após a confecção do defeito ósseo e início do tratamento. As tíbias foram removidas, o tecido mole excedente eliminado. A fixação foi realizada com solução de formaldeído a 10% tamponado, durante o período mínimo de 48 horas.

O esquema de todos os procedimentos realizados, em função do tempo.

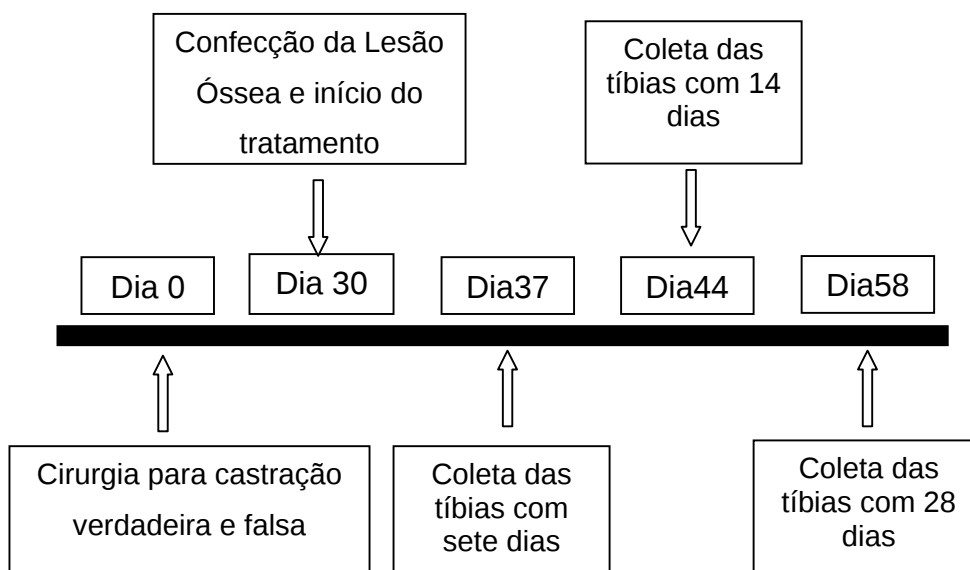


FIGURA 7 - Esquema dos procedimentos experimentais em função do tempo.

4.6 Análise da densidade radiográfica

Foram realizadas tomadas radiográficas das tíbias direitas em aparelho de RX digital Spectro 70x (DabiAtlante - SP), utilizando 7mA e 65kvp, com padrões de exposição de 0,0125 segundos e distância foco-objeto de 30cm, padronizando a posição das peças. As imagens foram digitalizadas através do programa VIX-WIN 1,4r (Gendex Dental System), este padronizado com resolução em 600dpi, sendo as imagens salvas em JPEG.

Foram realizadas leituras da densidade radiográfica, obtidas em tons de cinza, da área total do defeito de cada tíbia, com auxílio do programa Image Tool (de domínio público). A densidade de cada radiografia foi medida seis vezes em tempos diferentes, obtendo-se uma média das mesmas. Os valores obtidos foram submetidos à análise estatística. O procedimento de radiografias foi realizado por dois

observadores, para obter melhor imagem das tíbias.

As radiografias foram realizadas com a colaboração da Disciplina de Radiologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP.

4.7 Análise histológica

Após as tomadas radiográficas, as tíbias direitas foram descalcificadas em solução de PLANK. Inicialmente foi preparada uma solução estoque contendo: cloreto de alumínio 126,10 g + ácido clorídrico 10N, 85ml + ácido fórmico 88%, 54ml dissolvidos em um litro de água destilada. No momento a ser utilizada, esta solução foi diluída em água destilada na proporção de 1:4 e colocada nos recipientes contendo as peças.

Com a descalcificação completa após 5 meses, com troca do descalcificador em dias alternados, as tíbias foram seccionadas transversalmente na região central do defeito ósseo. Após o processamento técnico histológico de rotina, cada fragmento foi incluído, no sentido da superfície de corte, em bloco de parafina. Foram obtidos 10 cortes semi-seriados de cada bloco, com quatro micrômetros de espessura e corados com Hematoxilina e Eosina (HE – Merck & Co., Inc.). Estes foram submetidos à análise em microscopia de luz, para observação dos aspectos morfológicos da reparação óssea, analisando o desenvolvimento, substituição, maturação e remodelação das diversas estruturas que se formam nas fases seqüenciais do reparo ósseo: coágulo sangüíneo, tecido de granulação, aparecimento de células como osteoblastos e osteoclastos, trabéculas ósseas neoformadas (matriz osteóide e matriz mineralizada), trabéculas ósseas maduras e remodelação das mesmas.

4.8 Fotografia

Para a documentação e análise histomorfométrica, as lâminas foram fotografadas em diferentes aumentos com microscópio de luz Zeiss Axiophot 2 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha), acoplado com câmera digital Cyber-shot Sony modelo DSC-S85.

As imagens digitalizadas foram gravadas em arquivos JPEG para serem posteriormente analisadas.

4.9 Análise histomorfométrica

Para análise quantitativa do tecido ósseo neoformado, foram utilizadas as imagens digitalizadas em aumento de 25x. Foram selecionadas quatro lâminas por defeito sendo cada uma em um nível de corte diferente. As imagens gravadas em arquivos JPEG foram enviadas para um computador para análise morfométrica das estruturas selecionadas. Utilizou-se o programa de imagem Image J 1.31 (domínio público). Foi delimitada uma área específica de 300 por 150 pixels no centro do defeito (de acordo com régua micrometrada calibrada, essa medida equivale a um retângulo de 360 por 180 micrômetros), colocando superposto à imagem histológica contida no retângulo selecionado, um retículo com 72 pontos resultantes das intersecções entre as linhas verticais e horizontais.

Foram contados os pontos de intersecção que coincidiam com trabéculas ósseas neoformadas, sendo a relação entre o número de pontos sobre a estrutura analisada e o número total de pontos do retículo considerado correspondente à proporção de matriz óssea formada no defeito.

O observador que analisou desconhecia o grupo aos quais as lâminas pertenciam. O valor de porcentagem de matriz óssea neoformadas na região analisada, por animal, foi obtido a partir da média dos valores nas quatro lâminas analisadas.

4.10 Delineamento experimental e análise estatística

A análise estatística obedeceu a uma estrutura fatorial tipo 4x3 e as variáveis independentes foram os tipos de tratamentos (sem castração e sem medicamento; com castração e sem medicamento; com castração e com Calcarea phosphorica 6CH; com castração e risedronato) e os tempos de coleta das tíbias (sete, 14 e 28 dias).

A variável resposta (ou dependente) foi o reparo ósseo das tíbias dos sete ratos em cada uma das doze condições experimentais. O reparo ósseo foi medido operacionalmente de três diferentes formas:

- a) por meio da densidade óssea da tíbia, expressa pelo número de tons de cinza de osso formado, observados a partir da radiografia digital;
- b) proporção de osso formado (contagem em retículo graduado com 72 pontos de intersecção);
- c) espessura do calo ósseo formado, traçando uma linha entre os pontos superior e inferior do calo no centro do defeito.

Foi efetuado para cada variável dependente, separadamente, a estatística descritiva (média e desvio padrão) e a inferencial, mediante o teste paramétrico ANOVA, o teste de comparação múltipla de Tukey e o teste de Dunnett. O nível de significância adotado foi o valor convencional de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Densidade radiográfica

A formação óssea no defeito foi avaliada através da densidade radiográfica por meio de tomada radiográfica, nos quatro grupos de oito animais, em três diferentes tempos de sacrifício (sete, 14 e 28 dias).

A média dos dados obtidos para os animais e a estatística descritiva dos mesmos é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Média e desvio padrão da densidade radiográfica obtida nos quatro grupos de animais nos diferentes tempos de observação do reparo das lesões ósseas.

Tempo de reparo	n	Tratamento dos ratos			
		CS	C	CCp	CR
7 dias	7	116,37	113,50	118,62	109,12
		±12,73	±13,35	±13,33	±6,88
14 dias	7	107,50	114,75	125,50	118,87
		±14,30	±9,51	±10,36	±7,81
28 dias	7	96,63	114,50	108,87	121,75
		±10,01	±7,62	±7,34	±8,91

n = número de animais

CS = controle sham, sem medicamento

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

Os valores médios de densidade óssea (DO), nos animais castrados e tratados com *Calcareia phosphorica* 6CH são superiores aos valores obtidos nas outras condições experimentais para os tempos de sete e 14 dias. Porém, aos 28 dias, o grupo castrado e medicado com risedronato foi o que demonstrou maior densidade.

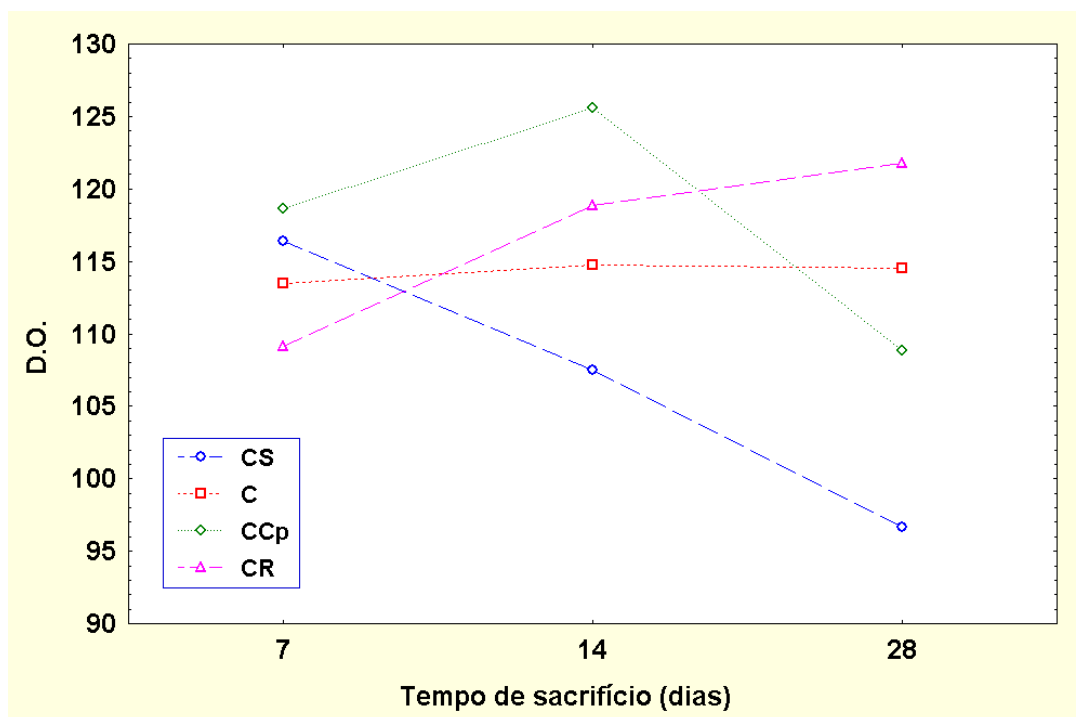
Aplicado o teste ANOVA para avaliar a influência das variáveis, tratamento e tempo de reparo, foi verificado que o efeito conjunto dessas duas variáveis foi estatisticamente significativo (Tabela 2).

Tabela 2 - ANOVA para os dados de densidade óssea no defeito.

Fonte de Variação	gl	SQ	QM	F	p
Tratamento	3	1722,0	574,010	5,22	0,0024*
Tempo sacrifício	2	640,2	320,094	2,91	0,0600
Interação	6	2765,3	460,885	4,19	0,0010*
Resíduo	84	9241,1	110,013		
Total	95	14368,7			

*p<0,05

O tempo de sacrifício influencia diretamente nas medidas de densidade óssea nos diferentes grupos, como podemos constatar no gráfico da Figura 8.



CS = controle sham, sem medicamento
 C = castrado, sem medicamento
 CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH
 CR = castrado medicado com risedronato
 DO= densidade óssea

FIGURA 8 - Gráfico das médias de densidade óssea para os quatro diferentes tipos de tratamento nos três períodos experimentais.

As médias das condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: tempo de reparo e tratamento, foram comparadas pelo teste de Tukey (5%)(Tabela 3).

No tempo de reparo ósseo de sete dias, verifica-se que as médias de densidade óssea não diferem estatisticamente para os quatro grupos. Para o tempo de 14 dias, foi observada diferença entre os grupos castrados que receberam *Calcareia phosphorica* 6CH e grupo controle sham. Mas, para o tempo de 28 dias, a diferença observada foi em relação aos grupos castrado que receberam risedronato e controle sham.

Tabela 3 - Comparação de médias de densidade óssea nas diferentes condições experimentais, pelo teste de Tukey (5%).

Tratamento	Tempo de reparo	Média DO	Grupos Homogêneos		
CCp	14 dias	125,63	A		
CR	28 dias	121,75	A	B	
CR	14 dias	118,88	A	B	
CCp	7 dias	118,62	A	B	
CS	7 dias	116,38	A	B	
C	14 dias	114,75	A	B	
C	28 dias	114,50	A	B	
C	7 dias	113,50	A	B	C
CR	7 dias	109,12	A	B	C
CCp	28 dias	108,87	A	B	C
CS	14 dias	107,50		B	C
CS	28 dias	96,63			C

CS = controle sham, sem medicamento

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado + *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado + risedronato

DO= densidade óssea

Através do teste de Dunnett, foi possível comparar os três grupos castrados com o grupo controle *sham*, de forma individual obtendo dados apresentados nas tabelas abaixo (Tabela 4, 5 e 6).

Tabela 4 - Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados de densidade óssea comparando animais castrados com diferentes medicamentos e o grupo controle *sham* sem medicamento, para o tempo de sete dias.

Grupos	Médias	Diferença de médias de DO vs <i>sham</i> (média = 116,38)	Erro padrão da diferença	t*	p
C	113,50	2,88		0,484	0,930
CCp	118,63	2,25	5,944	0,379	0,964
CR	109,13	7,25		1,220	0,484

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

* $t_{(5\%)}_{gl=21} = 2,483$

DO= densidade óssea

Os resultados obtidos com a comparação dos valores obtidos no período de sete dias de reparo após a lesão óssea, dos três grupos de animais castrados sendo, um grupo tratado com *Calcareia phosphorica* 6CH, um grupo com risedronato e um grupo sem tratamento quando, comparado com o grupo de animais que não receberam tratamento e não foram castrados (*sham*), não se mostraram significativos.

Tabela 5 - Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados de densidade óssea comparando animais castrados com diferentes medicamentos e o controle *sham*, para o tempo de 14 dias.

Grupos	Médias	Diferença de médias de DO vs <i>sham</i> (média = 107,50)	Erro padrão da diferença	t*	p
C	114,75	7,25		1,347	0,407
CCp	125,63	18,13	5,382	3,368	0,006*
CR	118,88	11,38		2,114	0,108

CS = controle sham, sem medicamento

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

* $t_{(5\%)}_{gl=21} = 2,483$

* $p < 0,05$

DO= densidade óssea

Os resultados obtidos no período de 14 dias de reparo ósseo nos grupos castrado sem medicamento e no grupo castrado tratado com risedronato, comparado com o grupo de animais *sham*, não foram significativos. Porém o grupo de animais castrados que receberam o medicamento homeopático *Calcareo phosphorica* 6CH, quando comparado com o grupo *sham*, apresentou maior densidade ($p < 0,05$).

Tabela 6 - Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados de densidade óssea comparando animais castrados com diferentes medicamentos e o grupo controle *sham*, para o tempo de 28 dias.

Grupos	Médias	Diferença de médias de DO vs <i>sham</i> (média = 96,63)	Erro padrão da diferença	T*	p
C	114,50	17,88		4,188	0,001*
CCp	108,87	12,25	4,268	2,870	0,021*
CR	121,75	25,13		5,887	0,001*

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareo phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

* $t_{(5\%)}_{gl=21} = 2,483$

* $p < 0,05$

DO= densidade óssea

Os resultados obtidos com a comparação entre os valores no período de 28 dias, mostraram que os três grupos de animais castrados apresentaram valores significativamente maiores quando comparados com o grupo *sham* ($p < 0,05$).

5.2 Histomorfometria do osso formado no reparo

5.2.1 Histomorfometria: retículo

Considerando uma área padronizada de 300 por 150 pixels, com superposição de retículo com 72 pontos na região central do defeito, os ossos foram analisados quanto à quantidade de pontos de intersecção que coincidiram com o tecido ósseo neoformado. Este dado foi transformado em porcentagem (%) do total de 72 pontos. As áreas onde as intersecções incidiam em outros tipos de tecidos ou em áreas sem qualquer tecido, foram consideradas negativas quanto à neoformação de tecido ósseo.

Os dados da análise estatística descritiva obtida para os diferentes grupos de animais são visualizados na Tabela 7.

Tabela 7 - Média e desvios padrão da quantidade de osso neoformado na área do retículo, obtido nos quatro grupos nos três períodos de observação.

Tempo de reparo	n	Animais			
		CS	C	CCp	CR
7 dias	7	0,71±	0,63±	0,54±	0,67±
		0,073	0,06	0,03	0,07
14 dias	7	0,39±	0,50±	0,52±	0,59±
		0,05	0,06	0,05	0,03
28 dias	7	0,46±	0,37±	0,49±	0,58±
		0,06	0,05	0,11	0,01

CS = controle sham, sem medicamento

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

Os valores médios de osso formado no retículo para os animais controle *sham*, são superiores aos valores obtidos nos demais grupos aos sete dias.

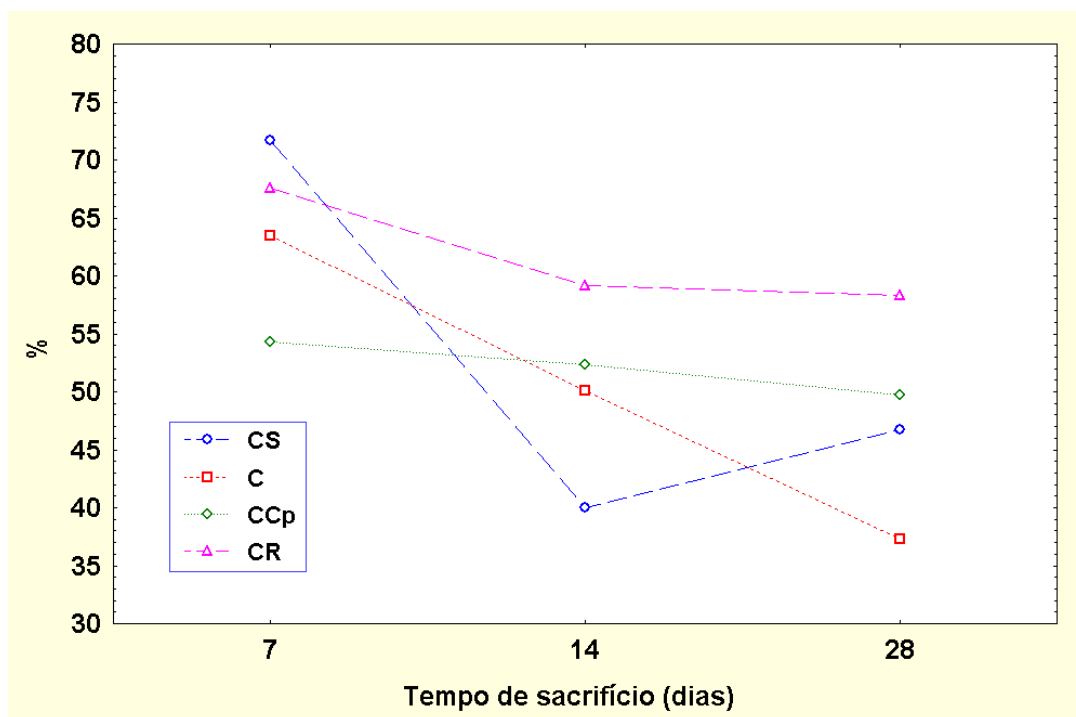
Quando se aplica o teste ANOVA para as variáveis: tempo de reparo e tratamento, verificou-se que o efeito conjunto dessas duas variáveis foi estatisticamente significante, como observado na Tabela 8.

Tabela 8 - ANOVA para os dados da quantidade de osso neoformado no defeito ósseo na área do retículo.

Fonte de Variação	gl	SQ	QM	F	p
Tratamento	3	0,16317	0,05439	13,58	0,0000*
Tempo de sacrifício	2	0,43083	0,21542	53,78	0,0000*
Interação	6	0,24301	0,04050	10,11	0,0000*
Resíduo	72	0,28839	0,00401		
Total	83	1,12541			

*p<0,05

A quantidade de osso formado durante o processo de reparo, é menor para 14 e 28 dias quando comparado com sete dias conforme mostra Figura 9.



CS = controle sham, sem medicamento

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

FIGURA 9 - Gráfico das médias de tecido ósseo neoformado (%) para as doze diferentes condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: tempo e condição de tratamento.

As médias das condições experimentais estabelecidas pelas variáveis tempo e tratamento foram comparadas pelo teste de Tukey (5%) (Tabela 9).

Tabela 9 - Comparação de médias de osso neoformado em % nas condições experimentais pelo teste de Tukey (5%).

Tratamento	Tempo	Média	Grupos Homogêneos			
CS	7 dias	0,7168	A			
CR	7 dias	0,6761	A	B		
C	7 dias	0,6344	A	B	C	
CR	14 dias	0,5913		B	C	D
CR	28 dias	0,5833		B	C	D
CCp	7 dias	0,5432			C	D E
CCp	14 dias	0,5233			C	D E
C	14 dias	0,5010				D E F
CCp	28 dias	0,4975				D E F
CS	28 dias	0,4673				E F G
CS	14 dias	0,3998				F G
C	28 dias	0,3730				G

CS = controle sham, sem medicamento

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

Através do teste de Dunnet, foram comparados os grupos castrados com o grupo controle sham, de forma individual, obtendo dados na Tabela 10.

Os resultados obtidos no período de sete dias, nos grupos castrado sem medicamento e no grupo que recebeu tratamento com risedronato, quando comparados com o grupo sham, não mostraram resultados significativos. Porém o grupo de animais castrados que recebeu o medicamento homeopático *Calcareia phosphorica* 6CH, quando comparado com o grupo sham, apresentou resultado significativo ($p < 0,05$).

Tabela 10 - Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados da quantidade de osso formado dentro do retículo, comparando os animais castrados com diferentes tratamentos e o grupo sham, para sete dias.

Grupos	Médias	Diferença de médias vs sham (média = 0.643)	Erro padrão da diferença	t*	p
C	0.716	0.073		2.224	0.085
CCp	0.544	0.172*	0.0328	5.249	0.001
CR	0.687	0.029		0.904	0.688

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

* $t_{(5\%)}_{gl=27} = 2,481$

* $p < 0,05$

Nos resultados obtidos para o período de 14 dias, o grupo castrado sem medicamento, quando comparado com o grupo controle sham, não mostrou resultado significativo. Porém os grupos de animais castrados que receberam risedronato e *Calcareia phosphorica* 6CH, quando comparados com o grupo sham, apresentaram significância ($p < 0,05$).

Tabela 11 - Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados obtidos comparando a quantidade de tecido ósseo formado em animais castrados com diferentes tratamentos e o grupo controle sham e sem medicamento, para o tempo de 14 dias.

Grupos	Médias	Diferença de médias vs sham (média = 0,4939)	Erro padrão da diferença	t*	p
C	0,399	0,094		2,470	0,051
CCp	0,518	0,118*	0,381	3,120	0,011
CR	0,592	0,192*		5,045	0,001

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

* $t_{(5\%)}_{gl=27} = 2,481$

* $p < 0,05$

Para o resultado obtido no período de 28 dias, o grupo castrado sem medicamento, comparado com o grupo *sham*, mostrou resultado significativo. Porém os grupos de animais castrados que receberam risedronato e *Calcareia phosphorica* 6CH, quando comparados ao *sham*, não apresentaram resultado significativo ($p < 0,05$).

Tabela 12 - Resultado do teste de Dunnett (5%) para os dados comparando a quantidade de osso formado em animais castrados com diferentes medicamentos e o grupo *sham*, para o tempo de 28 dias.

Grupos	Médias	Diferença de médias vs <i>sham</i> (média = 0.345)	Erro padrão da diferença	t*	p
C	0.467	0,122*		3,020	0,014
CCp	0.475	0,008	0,040	0,198	0,994
CR	0.555	0,087		2,171	0,095

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

* $t_{(5\%)}_{gl=27} = 2,481$

* $p < 0,05$

5.2.2 Histomorfometria: espessura do calo ósseo

Para a análise histológica do volume do calo ósseo apresentado, foi considerada a maior medida da espessura formada nos mesmos.

A espessura média do calo ósseo nos quatro diferentes grupos é demonstrada na Tabela 13.

Tabela 13 - Média e desvio padrão da espessura do calo ósseo formado durante o reparo do defeito.

Tempo de reparo	n	Grupo CS	Grupo C	Grupo CCp	Grupo CR
7 dias	5	165,20± 72,70	160± 43,07	182,80± 42,11	287,60± 114,26
14 dias	5	146,40± 79,57	199,60± 49,63	239,20± 40,24	202,40± 47,65
28 dias	5	141,40± 29,73	32,00± 5,10	65,20± 12,46	257,40± 69,59

n = número de animais

CS = controle sham, sem medicamento

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

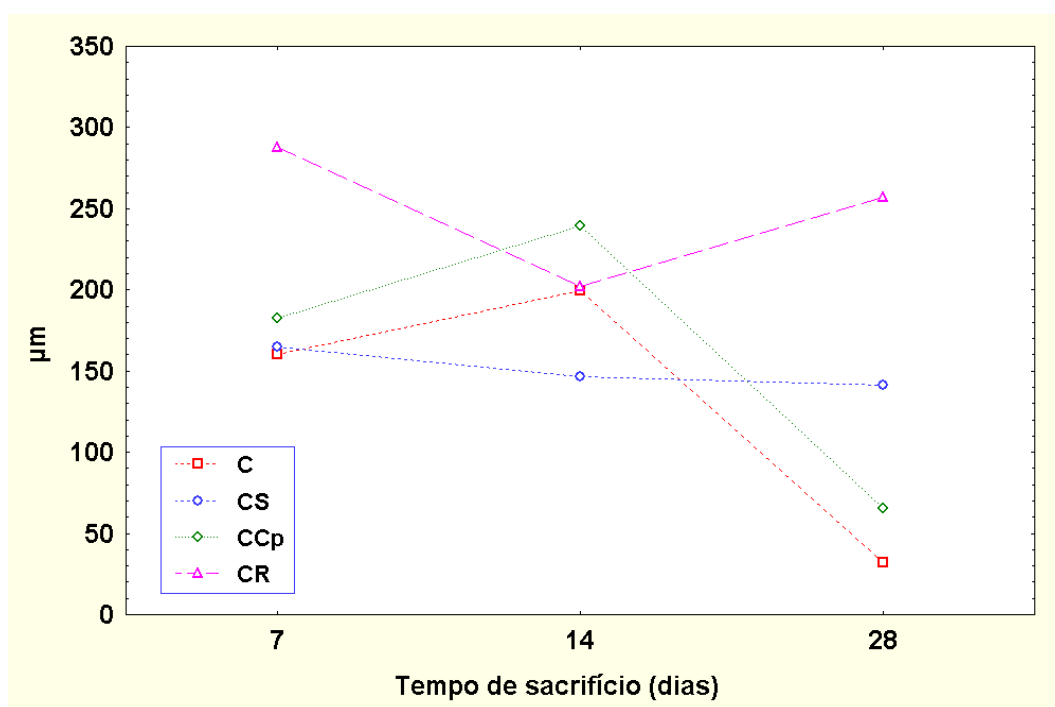
Quando foi aplicado o teste ANOVA para as variáveis: tempo de reparo e espessura do calo, verificou-se que o efeito conjunto dessas duas variáveis foi estatisticamente significativa, como observado na Tabela 14.

Tabela 14 - ANOVA para os dados da espessura do calo ósseo formado durante o reparo do defeito.

Fonte de Variação	gl	SQ	QM	F	p
Tratamento	3	122766	40922.0	12.11	0.0000*
Tempo sacrifício	2	72959	36479.4	10.79	0.0001*
Interação	6	102942	17157.0	5.08	0.0004*
Resíduo	48	162238	3379.9		
Total	59	460905			

*p<0.05

Em relação à espessura do calo ósseo é claramente observada uma inversão de comportamento entre os grupos castrados tratados com *Calcareia phosphorica* 6CH (CCp) e com risedronato, sendo que o grupo CCp, assumiu comportamento semelhante ao grupo castrado sem medicação (C) (Figura 10).



CS = controle sham, sem medicamento
 C = castrado, sem medicamento
 CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH
 CR = castrado medicado com risedronato

FIGURA 10 - Gráfico das médias da espessura de calo ósseo formado para as doze diferentes condições experimentais estabelecidas pelas variáveis tempo e espessura do calo ósseo.

As médias das condições experimentais estabelecidas pelas variáveis tempo e espessura do calo ósseo foram comparadas pelo teste de Tukey (5%) (Tabela 15).

Tabela 15 - Comparação de médias de espessura do calo ósseo nas condições experimentais pelo teste de Tukey (5%).

Tempo	Tratamento	Média	Grupos Homogêneos			
7 dias	CR	287.60	A			
28 dias	CR	257.40	A	B		
14 dias	CCp	239.20	A	B		
14 dias	CR	202.40	A	B		
14 dias	C	199.60	A	B		
7 dias	CCp	182.80	A	B	C	
7 dias	CS	165.20	A	B	C	
7 dias	C	160.40		B	C	
14 dias	CS	146.40		B	C	D
28 dias	CS	141.40		B	C	D
28 dias	CCp	65.20			C	D
28 dias	C	32.00				D

CS = controle sham, sem medicamento

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

Quando são avaliados os tempos em relação a espessura do calo ósseo formado, observa-se que aos sete dias há diferença estatística entre o grupo castrado que recebeu como medicação o risedronato (CR) e os demais grupos.

Aos 14 dias não houve diferenças estatísticas entre os grupos estudados.

Aos 28 dias, existiu diferença estatística entre o grupo castrado e tratado com risedronato (CR) e os grupos castrado sem medicação (C) e castrado tratado com *Calcareia phosphorica* 6CH (CCp). Neste tempo, o valor referente ao tamanho do calo ósseo em CCp assume valor inferior ao encontrado nos animais controle sham (CS).

5.2.3 Histomorfometria: espessura da cortical

Com a intenção de verificar a influência dos diferentes tratamentos (*Calcareia phosphorica* 6CH e risedronato) no osso cortical fora da área de lesão, obtivemos medidas da espessura da cortical adjacente ao defeito, que foram analisadas obtendo a média e o desvio padrão como observado na Tabela 16.

Tabela 16 - Média e desvio padrão da espessura da cortical adjacente à lesão óssea.

Tempo	C	CCp	CR	CS
7 dias	117,00± 12,37	101,20± 14,53	140,80± 12,93	124,80± 10,57
14 dias	122,40± 11,87	141,60± 24,27	141,60± 29,03	139,20± 3,90
28 dias	117,60± 24,39	116,00± 20,83	145,60± 31,13	140,80± 16,16

CS = controle sham, sem medicamento

C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

Através do teste ANOVA para as variáveis: tempo e espessura da cortical, verificou-se que o efeito conjunto dessas variáveis não foi estatisticamente significante (Tabela17).

Tabela 17 - ANOVA para os dados da espessura da cortical óssea fora do defeito.

Fonte de Variação	gl	SQ	QM	F	p
Tratamento	3	6155,0	2051,66	4,38	0,0084
Tempo sacrifício	2	2352,7	1176,35	2,51	0,0919
Interação	6	2755,2	459,19	0,98	0,4492
Resíduo	48	22494,0	468,63		
Total	59	33756,8			

As médias das condições experimentais estabelecidas pelas variáveis tratamento e espessura da cortical, foram comparadas pelo teste de Tukey (5%) (Tabela 18).

Tabela 18 - Comparação de médias da espessura da cortical adjacente ao calo ósseo nas condições experimentais pelo teste de Tukey (5%).

Tratamento	Média	Grupos Homogêneos	
CR	142.67	A	
CS	134.93	A	B
CCp	119.60		B
C	119.00		B

CS = controle sham, sem medicamento

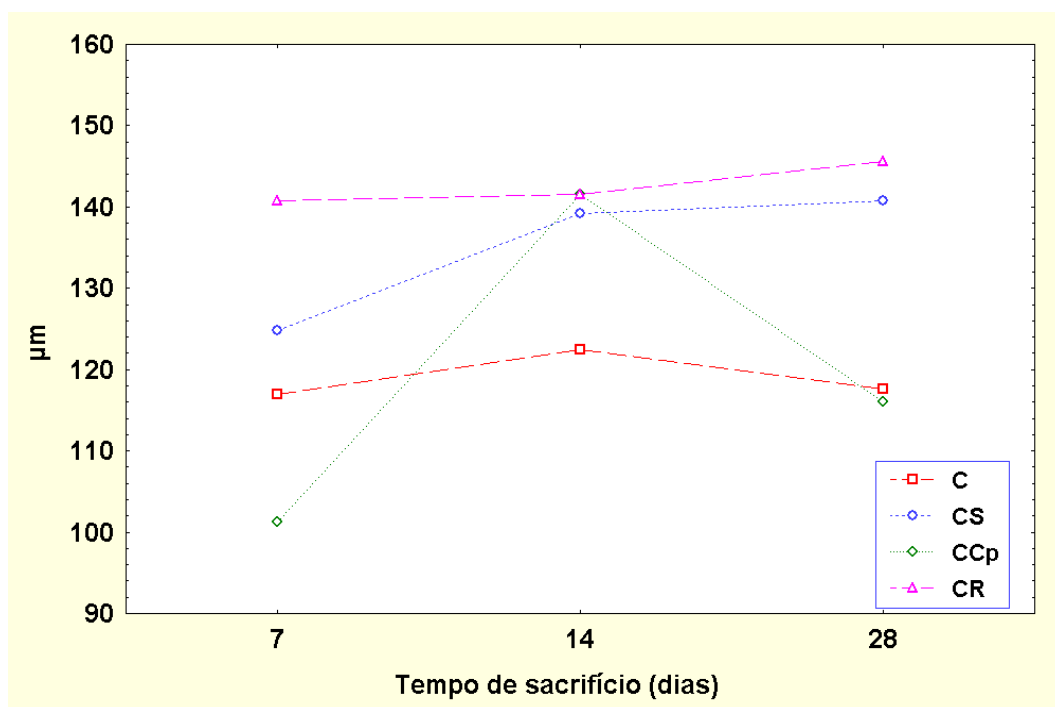
C = castrado, sem medicamento

CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH

CR = castrado medicado com risedronato

Quando são avaliados os tempos em relação à espessura da cortical óssea, observa-se que o grupo castrado e medicado com risedronato (CR), tem diferença estatística significativa em relação ao

grupo castrado (C) e castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6CH, como observado na Figura 11.



CS = controle sham, sem medicamento
 C = castrado, sem medicamento
 CCp = castrado medicado com *Calcareia phosphorica* 6 CH
 CR = castrado medicado com risedronato

FIGURA 11 - Gráfico das médias de cortical óssea para as doze diferentes condições experimentais estabelecidas pelas variáveis tempo e tratamento.

5.3 Análise histológica descritiva

Apesar de ser observado o fechamento das lesões em todos os grupos, existiu variação na formação do calo ósseo e em sua remodelação, apresentando evolução com aspectos morfológicos distintos entre os grupos. Aos sete dias todos os animais tiveram o defeito ósseo completamente preenchido por trabéculas jovens formadas a partir da

proliferação do endóstio e perióstio. Aos 14 dias sinais de remodelação óssea foram observados e aos 28 dias foi constatada a presença de osso mais maduro com substituição parcial das trabéculas por osso compacto, porém em diferentes quantidades.

Aos sete dias observou-se quantidade abundante de células mesenquimais, diferenciadas em células osteoprogenitoras, numerosos osteoblastos sintetizando matriz osteóide, formação de trabéculas delgadas, irregulares com diversos osteócitos volumosos presos em seu interior e pouca atividade osteoclástica. Foi observada grande projeção do calo para o interior do espaço medular e pequena projeção deste para a superfície externa na tíbia.

Aos catorze dias, já foi possível visualizar osteoclastos, iniciando o processo de remodelação óssea. O número de trabéculas diminuiu, e as presentes eram mais espessas e repletas de osteócitos em seu interior com maior espaçamento entre si. Houve diminuição da quantidade de células osteoprogenitoras e osteoblastos, além do calo com menor volume.

Aos 28 dias, a remodelação estava em etapa avançada, apresentando lâmina óssea compacta unindo as margens do defeito e pouco osso trabecular remanescente e evidente organização do tecido, com formação de tecido ósseo secundário. Também foi observado na maioria dos animais a liberação do espaço medular.

Nos grupos estudados, foram excluídos e substituídos os animais que apresentaram fratura (um animal) e infecção (cinco animais), procurando manter a amostra o mais homogênea possível.

O grupo castrado e medicado com risedronato, já aos sete dias, mostrava trabéculas numerosas e mais espessas, que os demais grupos, mantendo este aspecto até os 28 dias. Foi evidente a menor quantidade de células osteoclásticas e, por conseguinte menor remodelação óssea. Embora discreta, foi constatada um aumento na espessura da cortical.

O grupo castrado e medicado com *Calcareia phosphorica* 6CH teve uma alta taxa na proliferação celular mesenquimal, bastante evidente aos sete e aos 14 dias, quando a espessura do calo ósseo superou a dos demais grupos. Aos 28 dias observamos grande remodelação óssea com formação de ponte óssea mais delgada que a cortical normal, constituída por lâmina de osso compacto na superfície e poucas trabéculas na porção interna.

O grupo castrado sem medicação, mostrou aos sete e 14 dias, trabéculas delgadas e espaçadas entre si, entremeadas por tecido conjuntivo com pouca celularidade. No vigésimo oitavo dia, foi pequeno o número de trabéculas e formou-se uma ponte óssea de tecido laminar compacto. Vale ressaltar que esta é a mais delgada quando comparada àquelas presentes nos outros grupos.

Nas pranchas a seguir, é possível visualizar os aspectos morfológicos em todos os grupos estudados (Figuras 12, 13, 14 e 15).

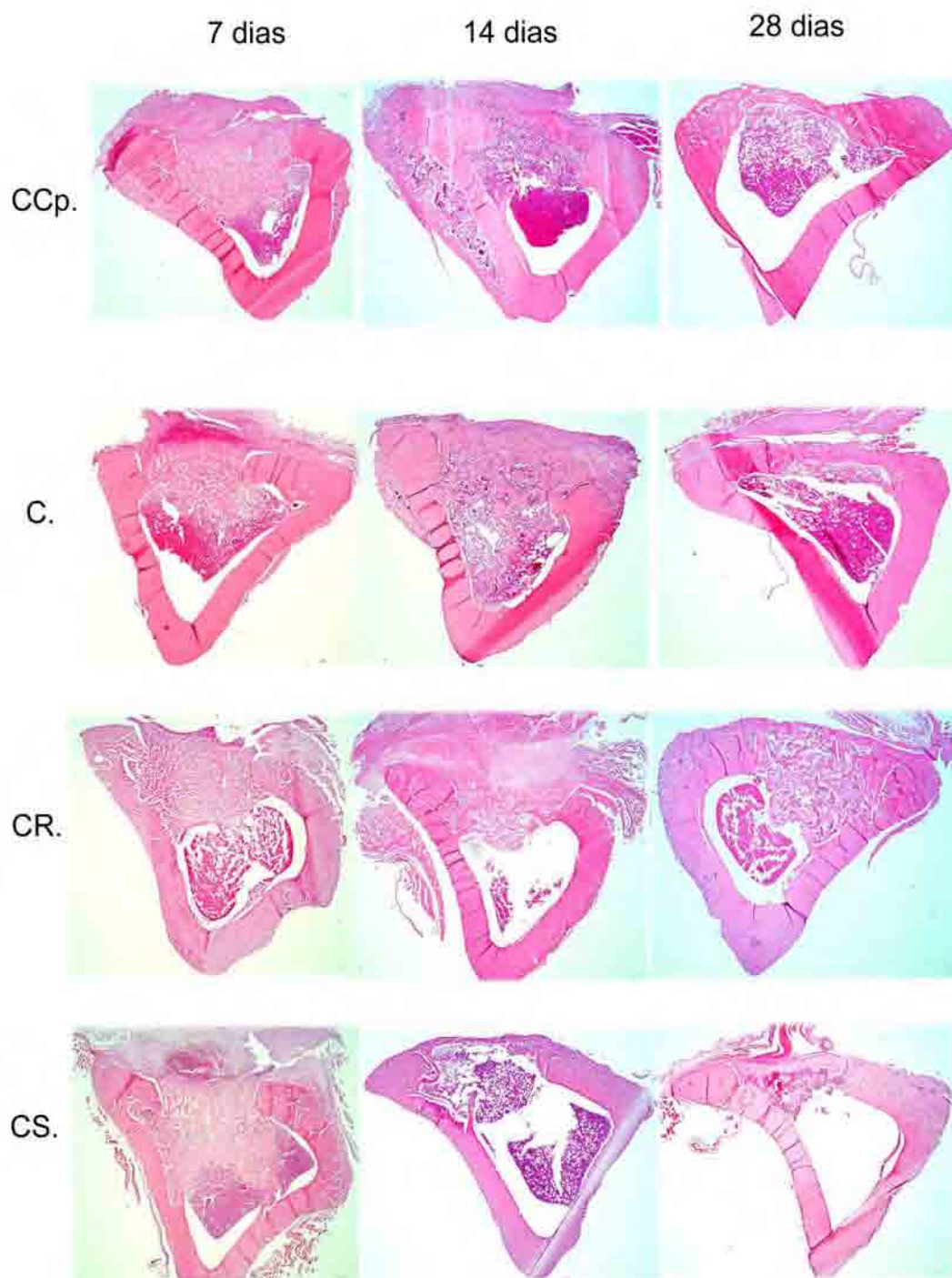


FIGURA 12 - Imagens panorâmicas dos aspectos morfológicos observados nos quatro diferentes grupos analisados em função do tempo e dos tratamentos. HE. 25X. **CS**) grupo falso castrado (*sham*) sem medicação. **C**) grupo castrado sem medicação. **CCp**) grupo castrado e tratado com *Calcareia phosphorica* 6CH. **CR**) grupo castrado e tratado com risedronato. Observar as variações no volume e espessura do calo ósseo e da cortical remodelada.

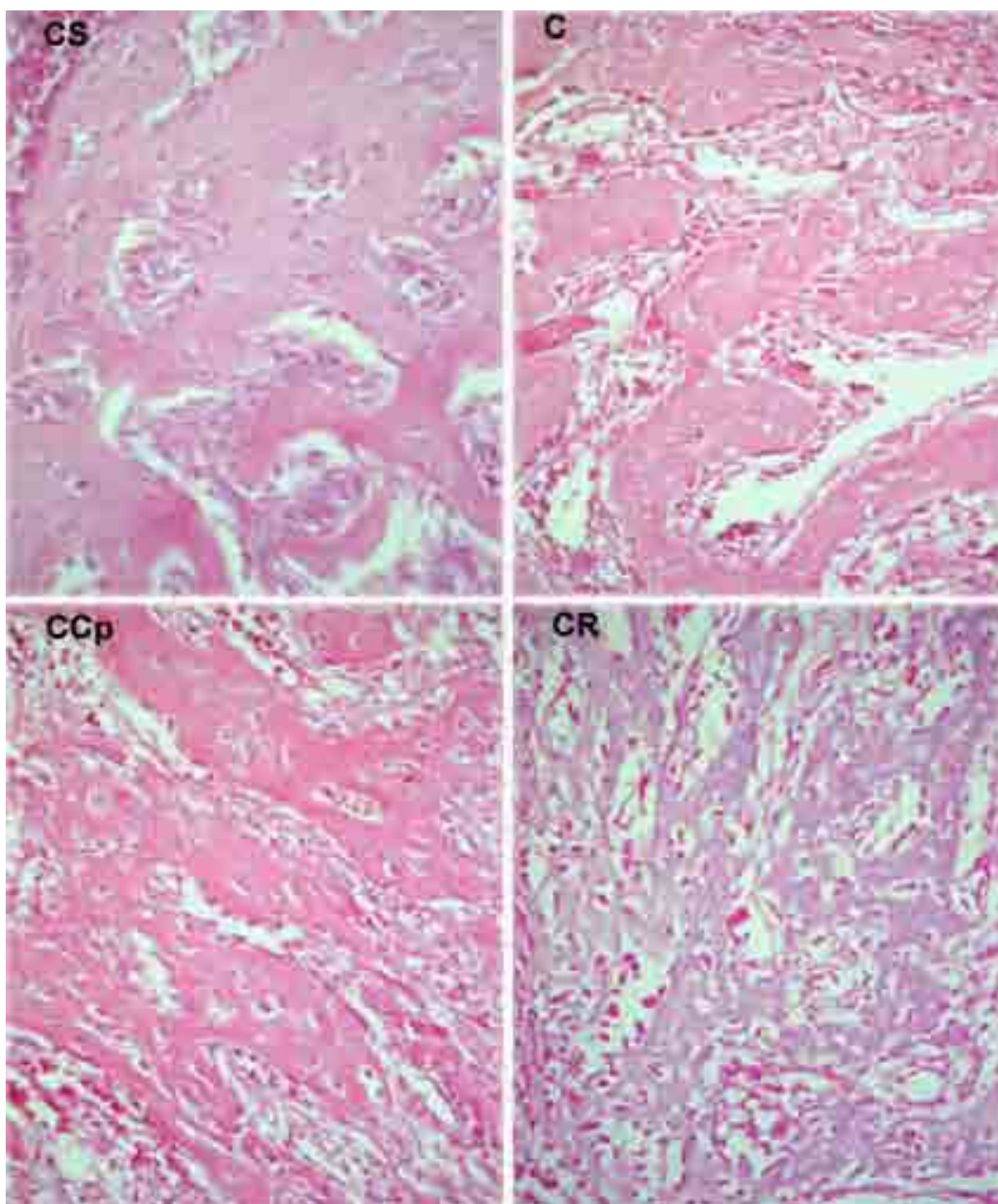


FIGURA 13 - Imagens dos aspectos morfológicos observados nos quatro diferentes grupos aos sete dias. HE: **CS**) grupo falso castrado (*sham*) sem medicação - trabéculas jovens e tecido de granulação abundante. Aumento original 400X; **C**) grupo castrado sem medicação - trabéculas delgadas e mais espaçadas. Aumento original 400X; **CCp**) grupo castrado e tratado com *Calcareia phosphorica* 6CH – trabéculas numerosas e pouco espaçadas, presença de alta celularidade dentro e ao redor das trabéculas, vários osteoblastos. Aumento original 400X; **CR**) grupo castrado e tratado com risedronato - trabéculas delgadas e tecido de granulação abundante. Aumento original 400X.

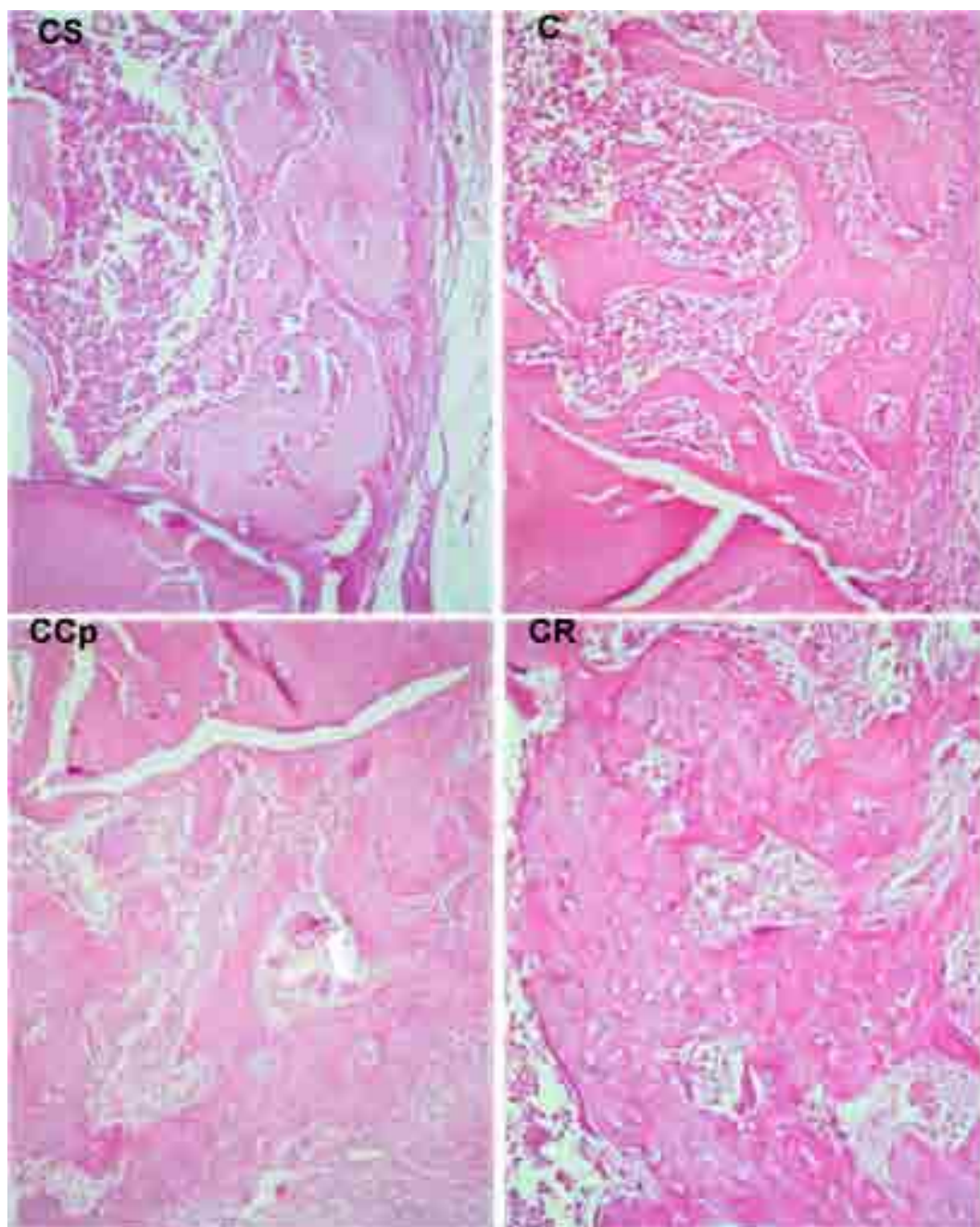


FIGURA 14 - Imagens dos aspectos morfológicos observados nos quatro diferentes grupos aos catorze dias. HE: **CS**) grupo falso castrado (*sham*) sem medicação – poucas trabéculas e lâmina cortical evidente. Aumento original 400X; **C**) grupo castrado sem medicação – várias trabéculas e lâmina cortical pouco evidente. Aumento original 400X; **CCp**) grupo castrado e tratado com *Calcareia phosphorica* 6CH – várias trabéculas, alta celularidade ao redor das trabéculas e lâmina cortical delgada. Aumento original 400X; **CR**) grupo castrado e tratado com risedronato - trabéculas mais espessas. Aumento original 400X.

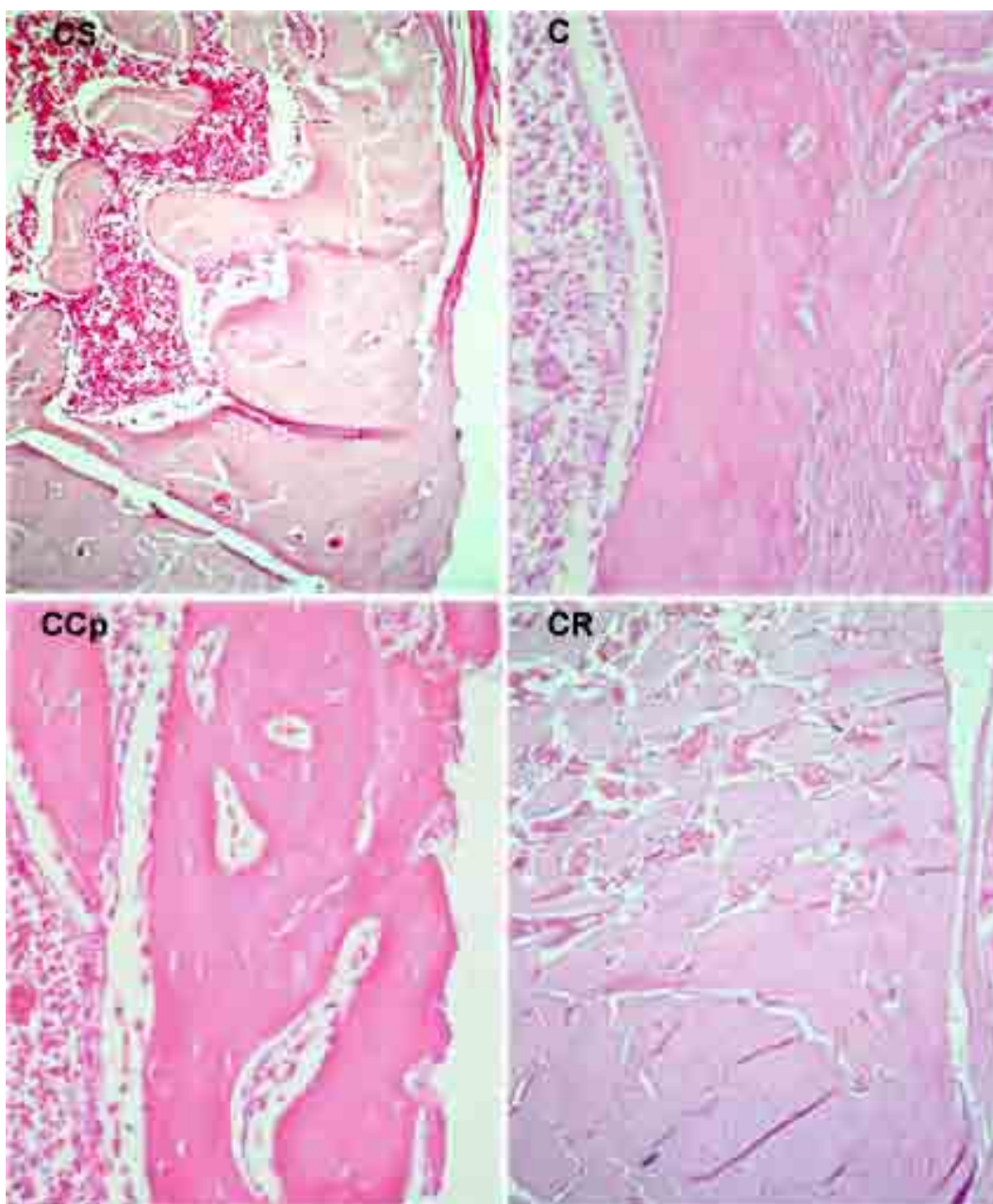


FIGURA 15 - Imagens dos aspectos morfológicos observados nos quatro diferentes grupos aos vinte e oito dias. HE: **CS**) grupo falso castrado (*sham*) sem medicação – lâmina cortical organizada e liberação da cavidade medular evidenciando remodelação avançada. Aumento original 400X; **C**) grupo castrado sem medicação – formação de lâmina cortical muito delgada. Aumento original 400X; **CCp**) grupo castrado e tratado com *Calcareia phosphorica* 6CH – lâmina cortical pouco evidente e presença de várias trabéculas. Aumento original 400X; **CR**) grupo castrado e tratado com risedronato – lâmina cortical espessa e manutenção de várias trabéculas invadindo o canal medular. Aumento original 400X.

6 DISCUSSÃO

O objetivo deste trabalho foi comparar o efeito de dois medicamentos no reparo ósseo, um alopático, na figura do risedronato e outro homeopático, representado pela *Calcareo phosphorica* 6CH.

Para tal, em nosso trabalho foi realizado um estudo experimental em ratos, o que constitui modelo animal já consagrado para pesquisa de doenças ósseas, pois estes animais têm semelhança com os tecidos encontrados nos humanos, além de apresentarem tempos mais curtos de observação devido ao metabolismo acelerado, possibilitarem controle das interferências do meio ambiente e serem de fácil manipulação pelo pequeno porte (JEE³⁶, 1995, JÄRVINEN et al.³⁵, 1998; CHO et al.¹⁶, 2004).

A rata ovariectomizada é considerada um bom modelo para o estudo da perda do osso esponjoso induzida pela deficiência de estrogênio e um modelo pobre para o estudo da perda óssea cortical nas mesmas condições (JEE³⁶, 1995).

A tíbia foi o osso de escolha porque tem sido utilizada para estudo por diversos autores e apresenta poucos planos teciduais superpostos, facilitando o acesso cirúrgico à sua superfície (JÄRVINEN et al.³⁵, 1998).

Quando é induzida lesão óssea monocortical na tíbia, diversos são os fenômenos simultâneos que acontecem para que ocorra o reparo. O coágulo sangüíneo da primeira fase do reparo dá lugar ao tecido de granulação que é prontamente substituído por proliferação e diferenciação celular abundantes, formando o calo ósseo, massa tecidual volumosa que une as extremidades do defeito, além de invadir parte da cavidade medular ou mesmo proliferar para a porção externa

ultrapassando uma linha imaginária traçada entre as bordas da cortical óssea. Com o passar do tempo, ocorre o processo de remodelação óssea, quando todo o osso formado de maneira excessiva, será remodelado, objetivando a formação de uma lâmina compacta de osso maduro. Tal lâmina, inicialmente é delgada, porém após determinado tempo, atinge espessura semelhante às corticais adjacentes à área da lesão.

Em nosso trabalho, todos os animais tiveram suas lesões ósseas fechadas no período de observação, porém os resultados foram conflitantes quando comparados entre si.

As medidas de densidade óssea demonstraram que no período de sete dias, o grupo castrado utilizando a *Calcareia phosphorica* 6CH (CCp) foi o que apresentou maior densidade óssea (DO), seguido do grupo castrado sham (CS), grupo castrado sem medicação (C) e por último do grupo castrado e tratado com risedronato (CR), porém nesse período a diferença entre os grupos não foi significativa. Aos 14 dias observamos que o grupo CCp mostrou aumento do valor de densidade óssea, assumindo o maior valor entre os grupos, seguido do grupo CR que também aumentou a DO em relação ao período de sete dias, com curva semelhante ao grupo tratado com *Calcareia phosphorica*. O grupo castrado sem medicação manteve a DO em um platô, enquanto o grupo sham diminuiu a densidade óssea. Finalmente aos 28 dias, o grupo tratado com risedronato assumiu o maior valor entre os grupos, com valor superior ao de 14 dias e equiparável ao do grupo da *Calcareia phosphorica* aos sete dias. Segue o grupo CR, em valores decrescentes, os grupos castrado sem medicação, o tratado com o medicamento homeopático e por último o grupo sham (Figura 8).

A diminuição nos valores de densidade óssea, observada no grupo sham, progressiva do sétimo para o vigésimo oitavo dia, pode ser explicada pelo processo de remodelação fisiológica do calo ósseo que acontece normalmente na evolução do reparo, levando a diminuição

temporária da quantidade de osso e pelo fato do reparo ainda não estar completo no último dia do experimento o que pode ser verificado nos aspectos histológicos (Figura 15). Os animais deste grupo podem ser considerados como padrão de normalidade, uma vez que a falsa castração ou castração sham não interfere no balanço hormonal, submetendo os animais apenas a um estresse cirúrgico que não deve modificar o metabolismo ósseo, aliado ao fato de não terem sido medicados.

Como demonstrado na Figura 8, o grupo castrado sem medicação (C) mostrou valores de densidade óssea praticamente iguais nos três períodos experimentais e aos sete dias esse valor é estatisticamente semelhante ao observado nos demais grupos (Tabelas 3 e 4). Tais dados indicam que os animais nesse grupo responderam ao estímulo inicial para a formação do calo ósseo e que a DO atingida em uma semana manteve-se estável até o vigésimo oitavo dia. Tal fato sugere que as modificações morfológicas que ocorreram no osso neoformado ao longo do período de reparo considerado não provocaram alterações na densidade óssea detectáveis pela metodologia utilizada.

Os animais castrados e tratados com *Calcarea phosphorica* foram os que mostraram maior densidade óssea aos sete e 14 dias, com discreto aumento do primeiro para o segundo tempo experimental. A diferença aos 14 dias só foi estatisticamente significativa quando comparado ao grupo sham (Tabelas 3 e 5). No entanto, apresentaram grande queda na densidade óssea aos 28 dias, com níveis inferiores ao grupo castrado e tratado com risedronato e até mesmo do grupo castrado sem medicação, porém permanecendo com densidade maior que o grupo sham. Esses dados demonstram que o osso neoformado aos sete e 14 dias, apresentava quantidade e/ou qualidade suficiente para exibir alta densidade, sugerindo que o medicamento homeopático estimulou a formação do calo ósseo nas fases iniciais do

reparo. A queda intensa na densidade aos 28 dias, pode ser explicada pela remodelação óssea do calo.

O grupo castrado e tratado com risedronato apresentou aumento gradual da DO nos três tempos avaliados. Isso pode ter acontecido supostamente devido a incorporação do risedronato no tecido ósseo neoformado e à sua afinidade pelo cálcio além da ação inibitória sobre os osteoclastos, interferindo diretamente no processo de remodelação óssea. Diversos autores relataram que este medicamento diminui a ação dos osteoclastos através de modificações nessas células como alterações protéicas no citoesqueleto ou inibição da síntese de colesterol e indução de apoptose por ação citotóxica direta (COMPSON¹⁷, 1994; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; LANGER⁴¹, 2004; CASTRO et al.¹⁴, 2004; BAE & STEIN⁷, 2004; BOONEN et al.¹⁰, 2004; SENRA et al.⁶⁵, 2004).

Em comparação com os animais falsos castrados e não medicados (CS) podemos verificar que tanto a castração como os dois tipos de tratamento foram acompanhados de aumento na densidade óssea ao longo do reparo tecidual.

Vários são os estudos utilizando dados provenientes da análise da densidade mineral óssea para diagnosticar a osteoporose e osteopenia além de acompanhar o tratamento em humanos. Este procedimento pode ser realizado através de densitometria óssea (MCCLUNG et al.⁴⁶, 2001; WATTS⁸¹, 2003; MUSSOLINO et al.⁵¹, 2003, FELDSTEIN et al.²³, 2005; HOOVER et al.³⁴, 2005), do método DEXA (ASPRAY et al.⁶, 1996; JÄRVINEN³⁵, 1998; FOGELMAN et al.²⁵, 2000; GILBERT & MCKIENAN²⁷, 2005; MARITZ et al.⁴⁴, 2001; BLADE & FOGELMAN⁹, 2002) ou de métodos mais sofisticados como tomografia, ressonância magnética, ultrassom e espectrometria (CALERO et al.¹⁹, 2000; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; BAE & STEIN⁷, 2004).

Alguns autores afirmaram que o exame radiográfico é pouco sensível, diagnosticando a osteoporose apenas quando a redução

de massa óssea é superior a 30-50%, e que pequenas variações não são detectadas (GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; FUCKS²⁶, 2004; LANGER⁴¹, 2004).

Durante o processo de reparo várias modificações que podem influenciar a densidade no tecido ósseo são observadas, incluindo a mineralização da matriz osteóide, o amadurecimento do osso com transformação do osso esponjoso em lamelar compacto e a remodelação.

Os tratamentos usados nesse trabalho estão relacionados com diferentes alterações morfológicas como variação na quantidade, espessura e qualidade das trabéculas, na celularidade apresentada nos tecidos do calo ósseo e no grau de mineralização. A alta variabilidade dos fatores observados, quando em conjunto, podem possivelmente interferir de maneira direta na variação da densidade óssea.

Autores relataram que os bifosfonatos além de atuarem prevenindo a perda óssea, promovem o aumento de densidade. O risedronato é considerado por muitos como um medicamento de grande capacidade dentro deste grupo (TAKAHASHI et al.⁷⁰, 1999; CASTRO et al.¹⁴, 2004; NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION⁵², 2004).

Para quantificar histomorfometricamente o osso neoformado, delimitamos uma área de 300 por 150 pixels, no calo ósseo, localizada no centro da região entre as duas extremidades corticais das margens do defeito. Nessa área retangular foi sobreposto um retículo, graduado com 72 pontos, provenientes da intersecção entre linhas horizontais e verticais. Os pontos que coincidiram com tecido ósseo foram considerados positivos para formação óssea, gerando dados para a análise estatística. Essa localização foi selecionada por representar a área onde ocorreria mais tardiamente tanto a neoformação quanto a remodelação e maturação óssea.

Aos sete dias, os animais falso castrados (*sham*) sem medicação (CS) apresentaram a maior quantidade de osso neoformado, seguido pelos animais que receberam risedronato (CR), animais

castrados sem medicação (C) e por último pelos animais do grupo da *Calcareia phosphorica* 6CH (CCp). Porém, a diferença entre os grupos foi estatisticamente insignificante (Figura 9).

Aos 14 dias, o grupo CR assumiu a maior porcentagem de formação óssea frente aos outros grupos, seguido pelos grupos CCp e C, que mostraram valores semelhantes entre si, e por último pelo grupo CS cujo valor foi estatisticamente menor que o grupo tratado com risedronato. É importante ressaltar que os valores referentes à quantidade de osso neoformado diminuiu nessa fase, em todos os grupos, devido ao processo de remodelação óssea que já foi iniciado. Porém, a intensidade e velocidade da remodelação foram influenciadas diretamente pelo tratamento recebido ou não.

Aos 28 dias o grupo tratado com risedronato exibiu praticamente a mesma quantidade de osso novo que aos 14 dias e mesmo assim foi o que apresentou maior quantidade de osso, seguido pelo grupo CCp, grupo CS e grupo C.

A estabilização da quantidade de osso formado no grupo CR observado nos tempos de 14 e 28 dias, além do fato que o osso formado superou o encontrado nos demais grupos, demonstra que ocorreu um retardo no processo de remodelação óssea verificado no resultado histológico (Figuras 14 e 15).

Quando expostos à ação do risedronato os osteoclastos sofrem alterações morfológicas e funcionais que acarretam na inibição ou diminuição da reabsorção óssea (COMPSON¹⁷, 1994; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; LANGER⁴¹, 2004; CASTRO et al.¹⁴, 2004; BAE & STEIN⁷, 2004; BOONEN et al.¹¹, 2004). Por isso esse medicamento tem sido indicado como uma boa escolha para o tratamento da osteoporose, principalmente em casos com perda óssea avançada. Alguns autores relataram que também deve ocorrer ativação de osteoblastos com indução de formação óssea e não somente controle da reabsorção excessiva (COMPSON, 1994). Em nosso material, a grande quantidade

de osso formado no sétimo dia de experimento no grupo castrado e tratado com risedronato comprova essa hipótese, uma vez que superou os valores do grupo castrado sem tratamento e dos animais castrados e tratados com o medicamento homeopático.

A quantidade de osso formada no grupo tratado com *Calcareia phosphorica* 6CH, detectada pela contagem de pontos no retículo, manteve-se estável ao longo dos três períodos, sugerindo que houve maior estímulo formador de osso que de remodelação.

Os animais do grupo castrado sem tratamento conseguiram formar o calo ósseo, porém, devido à falta de hormônios sexuais, perdeu massa óssea continuamente à medida que ocorreu a remodelação do calo.

O grupo falso castrado sem tratamento, que é o nosso controle biológico, mostrou grande estímulo formador de osso no início do reparo, grande atividade remodeladora aos catorze dias, demonstrada pela presença de cortical delgada e espessamento dessa cortical na fase final do reparo.

No entanto, comparando os dados da histomorfometria usando o retículo com os da densidade óssea observamos discrepância entre os resultados obtidos e passamos a questionar que o tamanho da janela que continha o retículo limitava a interpretação da real quantidade de osso neoformado. Então, resolvemos medir a espessura do calo ósseo através de uma linha no centro da lesão, acreditando que observaríamos de modo mais acurado as variações no comportamento dos grupos, o que de fato foi evidenciado após a avaliação estatística.

Pudemos verificar que todos os grupos fizeram calo ósseo volumoso, porém, o que formou este em maior espessura aos sete e vinte e oito dias foi o grupo tratado com risedronato, seguido aos sete e vinte e oito dias pelos demais grupos CS, CCp e C. Novamente nossos dados sugeriram que o risedronato deve tanto estimular a formação óssea quanto impedir sua reabsorção e remodelação (Figura 12).

Aos catorze dias os animais tratados com o medicamento homeopático *Calcarea phosphorica* 6CH foram os que exibiram a maior espessura de calo ósseo, o que pode ser explicado por um pico de ação mais tardio. No entanto, esse medicamento não impediu a reabsorção do osso formado uma vez que a remodelação do calo mostrou valores semelhantes aos do grupo castrado sem medicamento no vigésimo oitavo dia (Figura 15).

Medindo a espessura do tecido cortical adjacente à lesão observamos a influência dos medicamentos no osso fora da lesão, foi extremamente discreta e estatisticamente insignificante (Figura 11). Os medicamentos estudados não modificaram a condição óssea externa à lesão óssea.

Todas as projeções de aumento de tecido ósseo apontam que após os 28 dias de tempo deste experimento o grupo tratado com risedronato continuará a incrementar a formação de tecido ósseo, sugerindo que tempos mais longos de observação e estudo através de marcadores bioquímicos (HARRIS et al.³⁰, 1999; FOGELMAN et al.²⁵, 2000; GUEDES JUNIOR et al.²⁹, 2003; LEDER et al.⁴², 2003), e testes de resistência mecânica (CALERO et al.¹³, 2000; BAE & STEIN⁷, 2004) serão úteis na interpretação da ação dos medicamentos.

7 CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho possibilitaram as seguintes conclusões:

- a) o medicamento risedronato foi o que apresentou melhores resultados quanto ao reparo ósseo em todos os períodos;
- b) o osso formado no grupo que recebeu risedronato mostrou-se mais resistente à remodelação;
- c) a *Calcareia phosphorica* 6CH foi mais eficiente nas fases iniciais do processo de reparo;
- d) os animais tratados com risedronato e *Calcareia phosphorica* 6CH formaram osso de qualidade morfológica semelhante a dos grupos sem tratamento;
- e) a castração interferiu de forma prejudicial no reparo devido à perda óssea contínua;
- f) o exame radiográfico mostrou-se pouco sensível a pequenas alterações da perda e neoformação óssea;

8 REFERÊNCIAS*

- 1 ALKAN, A. et al. Histomorphometric evaluation of the effect of doxycycline on the healing of bone defects in experimental diabetes mellitus: a pilot study. **J Oral Maxillofac Surg**, v.60, p898-904, 2002.
- 2 ALMEIDA, J. D. et al. Estudo da reparação óssea em mandíbulas de ratos. **PGR: Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos**, v.3, n.1, p.49-53, jan./jun. 2000.
- 3 AMADEI, S. U. **Estudo comparativo dos efeitos da isoflavona e da ipriflavona na reparação óssea em tíbias de ratas ovariectomizadas**. 2004. 108f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal, Área de concentração em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2004.
- 4 ANBINDER, A. L. **Influência da sinvastatina, administrada via oral ou subcutânea, na reparação óssea em tíbias de ratos** 2004. 121f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal, Área de concentração em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2004.

* Baseado em:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS E TÉCNICAS, Rio de Janeiro. **Informação e documentação**: referências, elaboração NBR 6023. Rio de Janeiro, 2002. 23p.

- 5 ARISAWA, E. A. L. et al. Influências da calcitonina na reparação óssea de tíbias de ratas ovariectomizadas. **PGR: Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos**, v.3, n. 1, p.54-9, jan./jun. 2000.
- 6 ASPRAY, T. J. et al. Consequences of withholding testosterone treatment. **Lancet**, v. 348, n.9027, p.609, Aug. 1996. (Letter).
- 7 BAE, D. C.; STEIN, B. S. The diagnosis and treatment for osteoporosis in men on androgen deprivation therapy for advanced carcinoma of the prostate. **J Urol**, v.172, p. 2137-44, Dec. 2004.
- 8 BANDEIRA, F. et al. **Osteoporose**. Rio de Janeiro: Medsi, 2000. 390p.
- 9 BLAKE, G. M.; FOGELMAN, B. Bone densitometry, steroids and osteoporosis. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v.11, p.641-647. 2002. Disponível em: <http://gateway.ut.ovid.com>. Acesso em: 08 feb. 2005.
- 10 BOONEN, S. et al. Preventing osteoporotic fractures with antiresorptive therapy: implications of microarchitectural changes. **J Intern Med**, v. 255, n.1, p 1–12, Jan. 2004.
- 11 BOONEN ,S. et al. Safety and efficacy of risedronate in reducing fracture risk in osteoporotic woman aged 80 and older: implication for the use of antiresorptive agents in the old and oldest old. **J Am Geriat Soc**, v.52, n.11, p 1832-9, Nov. 2004.
- 12 BOYLE, W. J.; SIMONET, W.S.; LACEY, D.L. Osteoclast differentiation and activation. **Nature**, v. 423, p 337-42. May 2003,

- 13 CALERO, J. A. et al. Speed of sound, bone mineral density and bone strength in ooforectomized rats. **Eur J Clin Invest**, v.30, p.210-4, Mar. 2000. Disponível em: <http://gateway2.ovid.com>. Acesso 3, em 05 jan. 2005.
- 14 CASTRO, L. F.; SILVA, A. T. A.; CHUNG, M. C. Bifosfonatos (BFs) como transportadores osteotrópicos no planejamento de fármacos dirigidos. **Quim Nova**, v.27, n.3, p.456-60, 2004.
- 15 CHAVES, M. G. A. M. **Efeito do medicamento homeopático (Symphytum officinallis 6CH) e do osso bovino granulado na reparação óssea em tibia de ratos**: estudo histomorfométrico. 2001. 156f. Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal, Área de concentração em Biopatologia Bucal) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista São José dos Campos, 2001.
- 16 CHO, P. et al. Examination of the bone-implant interface in experimentally induced osteoporotic bone. **Implant Dent**, v.13, n.1, p.79-84, 2004.
- 17 COMPSON, J. E. Fortnightly review: the therapeutic use of bisphosphonates. **Br Med J**, v.309, n.6956, p.711-5, Sept. 1994.
- 18 CONSEJO GENERAL DE COLEJOS OFICIALES DE FARMACEUTICOS. **Panorama actual del medicamento**, v. 24, n.239. 2000. Disponível em: <http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia>. Data: 08 dez. 2004.
- 19 CRANDALL, C. Risedronate: a clinical review. **Arch Intern Med**, v.161, n. 3, p. 353-60, Feb. 2001.

- 20 CRANNEY, A. et al. The osteoporosis methodology group: the osteoporosis research advisory group III. Meta-analysis of risedronate for the treatment of postmenopausal osteoporosis. **End Rev**, v.23, n. 4, p.517-23, Aug. 2002.
- 21 DE LAET, C. E., et al. Bone density and risk of hip fracture in men and woman: cross sectional analysis. **Brit Med J**, v.315, p 221-225, July 1997.
- 22 DUCY, P; SCHINKE, T.; KARSENTY, G. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. **Science**, v.289, n.5484, p 1501-4. Set. 2000. Disponível em: www.scienceway.org. Acesso em: 08 dez. 2004.
- 23 FELDSTEIN, A. et al. Bone mineral density measurement and treatment for osteoporosis in older individuals with fractures. **Arch Intern Med**, v.163, n.13, p 2165-72. Oct. 2003.
- 24 FISHER, P.; SCOTT, D. L. A randomized controlled trial of homeopathy in rheumatoid arthritis. **Rheumatol**, v.40, n.9, p1052-5. Sept. 2001.
- 25 FOGELMAN, I. et al. Risedronate reverses bone loss in postmenopausal women with low bone mass: results from a multinational, double-blind, placebo-controlled trial. **Obstet Gynecol Surv**, v.55, n.10, p.630-2, Oct. 2000.
- 26 FUKS, A. G. **Diagnóstico e tratamento da osteoporose**. Local da publicação: Endocrinologia do MedCenter. Disponível em: <http://www.medstudents.com.br/main.html>. Acesso em: 02 jun. 2004.

- 27 GILBERT, S. G.; McKIERNAN, J. M. Epidemiology of male osteoporosis and prostate cancer. **Curr Opin Urol**, v.15, n.1, p.23-7, 2005. Disponível em: <http://gateway.ut.ovid.com/gw1/ovidweb.cgi>. Acesso em: 05 fev. 2005.
- 28 GOSAIN, A. R. et al. Osteogenesis in cranial defects: reassessment of the concept of critical size and the expression of TGF- β isoforms. **Plastic Reconstr Surgery**, v.106, n.2, p 360-71, Aug. 2000.
- 29 GUEDES JUNIOR, F. S. et al. **Osteoporose**. 2003. 17f. Monografia (Especialização em Ortopedia e Traumatologia) - Escola de Medicina da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, Vitória, 2003. Disponível em: <http://www.medstudents.com.br/main.html>. Acesso em: 08 jul. 2004.
- 30 HARRIS, S. T. et al. Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Vertebral efficacy with risedronate therapy (VERT) study group. **J Am Med Assoc**, v.282, n.14, p.1344–52, Oct. 1999. Disponível em: <http://gateway.ut.ovid.com/gw1/ovidweb.cgi>. Acesso em: 15 out. 2004.
- 31 HIGDON, J. **Phosphorus**. Oregon State University. Linus Pauling Institute. 2003. Disponível em: <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/minerals/phosphorus>. Acesso em: 17 nov. 2004.
- 32 HIRABAYASHI, H.; FUJISAKI, J. Bone-specific drug delivery systems:

- approaches via chemical modification of bone-seeking agents. **Clin Pharmacokinet**, v.42, n.15, p.1319-30, 2003.
- 33 HOFBAUER, L. C.; SCHOPPOL, M. Clinical implications of the progesterin RANKL/RANK system of bone and vascular disease. **J Am Med Assoc**, v.292, n. 4, p.490-5, July 2004.
- 34 HOOVEN, F. et al. Follow up treatment for osteoporosis after fracture. **Osteoporosis Int**, v.16, p.296-301, June 2005.
- 35 JÄRVINEN, T. et al. Randomized controlled study of effects of sudden impact loading on rat femur. **J Bon Min Res**, v.13, n.9, p.1475-82, Sept.1998.
- 36 JEE, W.S.S. Animals models in the prevention and treatment of osteopenia: forward. **Bone**, v.17, n.4, suppl., p.113S-114S, Oct.1995. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science>. Acesso em: 15 jun. 2004.
- 37 JONES, J. E.; KASSITY, N. Varieties of alternative experience: complementary care in the neonatal intensive care unit. **Clin Obst Gynecol**, v.44, n. 4, p750-68, 2001.
- 38 JUNQUEIRA, J. C. et al. Effects of sinvastatin on bone regeneration in the mandibles of ovariectomized rats on blood cholesterol level. **J.Oral Sci**, v.44, n. 3/4, p.117-24, 2002.
- 39 JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10.ed. Rio de

Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 495p.

- 40 KENT, J. T. Calcareo phosphorica. In: **Matéria médica homeopática**. Buenos Aires: Albatrós, 1989. v.1, p.362-367.
- 41 LANGER, A. L. **Osteoporose**: conceito geral e importância nos quadros de miopatias. Disponível em <http://www.distrofiamuscular.net/osteoporose.htm>. Acesso em: 02 jun. 2004.
- 42 LEDER, B. Z. et al. Differential effects of androgens and estrogens on bone turnover in normal men. **J Clin Endocrinol Metabolism**, v.88, n.1, p.204-10, 2003.
- 43 MARCUS, R. Fármacos que afetam a calcificação e a renovação do osso. In: GOODMAN, L. S.; GILMAN, E. D. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9.ed. Cidade do México: McGraw-Hill Interamericana, 1996. p.1126-46.
- 44 MARITZ, F. J. et al. Effect of statins on bone mineral density and bone histomorphometry in rodents. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. n.21, p.1636-41, 2001. Disponível em: <http://www.atvbaha.org>. Acesso em: 16 jun. 2004.
- 45 MARIE, P. J. The molecular genetics of bone formation: implication for therapeutic interventions in bone disorders. **Am J Pharmacog**, v.1, n.3, p.175-87, 2001.
- 46 McCLUNG, M. R. et al. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in

elderly woman. **New England J Med**, v.344, n.5, p.333-40, Feb. 2001.

- 47 MELLO, M. E. V. **Noções sobre Hahnemann e a homeopatia em animais.** Disponível em: http://www.homeopatiaonline.com/ver_textoh.asp?id=11. Acesso em: 30 nov. 2004.
- 48 MORAES, M. D. **Como a homeopatia vê as doenças.** Disponível em: http://www.homeopatiaonline.com/ver_textoh.asp?id=2. Acesso em: 30 nov. 2004.
- 49 MORAES, M. D. **O que você deveria saber sobre a homeopatia.** Disponível em http://www.homeopatiaonline.com/ver_textoh.asp?id=4. Acesso em: 30 nov. 2004.
- 50 MORAES, M. D. **Homeopatia:** modo de usar. Disponível em: http://www.homeopatiaonline.com/ver_textoh.asp?id=15. Acesso em: 30 nov. 2004.
- 51 MUSSOLINO, M. E.; MADANS, J. H.; GILLUN, R.F. Bone mineral density and stroke. **Stroke**. v. 34, p.E20-22, Mai. 2003.
- 52 NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION. Feb. 2004. Disponível em: <http://www.n.f.org.osteoporosis/stats.htm>. Acesso em 20 jun. 2004.
- 53 O'KEEFE, R. Osteoporosis in men. The effect of gender on skeletal health. **J Bone Joint Surg**. v.83-A, n.2, p.319, Feb. 2001. Disponível em: <http://gateway.ut.ovid.com/gw1/ovidweb.cg>. Acesso em: 10 jun. 2004.
- 54 PHILIPPE De Lyon Homeopatia. **Homeopatia**. São Paulo. Disponível em:

<http://www.homeopatia.com.br>. Acesso em: 06 dez. 2004.

- 55 PLOTKIN, H. **O que são os bisfosfonatos**. São Paulo: Laboratório Merk, 2004. Disponível em: <http://www.aguaforte.com/oi/bisfosfonatos.html>. Acesso em: 28 nov. 2004.
- 56 RADOMINSKI, S.C. et al. **Osteoporose em mulheres na pós-menopausa**. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Local: Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia e Sociedade Brasileira de Reumatologia, 16p. (Projeto Diretrizes), Aug. 2002.
- 57 RANG, H. P. et al. Metabolismo ósseo. In: **Farmacologia**. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. Cap.30, p.509-18.
- 58 RIGGS, B. L; KHOSLA, S; MELTON, L. J. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. **Endocrine Rev**, v.23, n.3, p.279-302, 2002.
- 59 RISEDRONATE Sodium. **American Journal of Health-System Pharmacy**. v.58, n.18, p.1706-7, Sept. 2001.
- 60 RODAN, G. A.; REZKA, A. A. Osteoporosis and bisphosphonates. **J Bone Joint Surg**, v.85-A, Suppl.3, p.8-12, 2003. Disponível em: <http://gateway.ut.ovid.com/gw1/ovidweb.cg>. Acesso em: 10 jun. 2004.
- 61 ROSEN, C. Restaurando ossos em envelhecimento. **Sci Am**, v.1, n. 11,

- p.83-9. Apr. 2003. Disponível em www.scian.com.br. Acesso em 11 jun. 2004
- 62 RUBIN, C. T.; BAIN, S. D.; McLEOD, K.J. Supression of the osteogenic response in the agin skeleton. **Calcif Tissue Intern**, v.50, p.306-13, 1992.
- 63 SALGADO, C.S.C. **Desenvolvimento de osteopenia experimental em ratos machos e tratamento com risedronato**. 2002. 113f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal, Área de concentração em Biopatologia Bucal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de São José dos Campos. São José dos Campos, 2002.
- 64 SILVA, S.R. Incorporando novas ferramentas. **Assoc Paul Cir Dent**, v.55, n.4, p.233-42, jul/ago. 2001.
- 65 SENRA, G. S. et al. Estudo radiográfico do reparo ósseo em ratos SHR com osteoporose utilizando homeopatia e risedronato. In: MOSTRA DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ, 5, 2004, Taubaté. **Resumo em anais**. V Mostra de pós-graduação da Universidade de Taubaté. Taubaté, 2004. p.306.
- 66 SMITH JUNIOR, L. H.; THIER, S. O. **Fisiopatologia**: os princípios biológicos da doença. 2 ed, São Paulo: Panamericana, 1992. p 585-9.
- 67 SMITH, M. R. Bisphosphonates to prevent osteoporosis in men receiving androgen deprivation therapy for prostate cancer. **Drugs Aging**, v.20, n.3, p.175-83, 2003.
- 68 STEENBERGHE, D. V. et al. Impact of systemic diseases and medication

on osseointegration. **Periodontol** 2000, v. 33, p.163-71, 2003.

- 69 SZEJNFELD, V. L. **Osteoporose**: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Sarvier, 2000. 406p.
- 70 TAKAHASHI, M. et al. Effect of prostaglandin and bisphosphonate on cancellous bone volume and structure in the ovariectomized rat studied by quantitative three-dimensional nuclear magnetic resonance microscopy. **J Bone Mineral Res**, v.14, n.5, p.680-9, May 1999.
- 71 TEITELBAUN, S.L. Bone resorption by osteoclasts. **Science**, v.289, n.5484, p.1504-8, Sept. 2000.
- 72 TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S. R. **Princípios de anatomia e fisiologia**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. Cap.6, p.145-65.
- 73 TOWNBRIDGE, H. O.; EMLING, R. C. **Inflamação**: uma revisão do processo. 4.ed. São Paulo: Santos, 1996. 172 p.
- 74 TYLER, M.L. Calcarea phosphorica. In: **Retratos de medicamentos homeopáticos**. São Paulo: Santos, 1992. v.1 p. 181-7.
- 75 ULLMAN, D. Homeopathic medicine: principles and research. In: SHOEN, A. M.; WYNN, S. G. **Complementary and alternative veterinary medicine**. Crawfordsville: R. R. Donnelley & Sons, 1998. p.469-84.
- 76 VIJNOVSKY, B. Calcarea phosphorica (fosfato de calcio). In: **Tratado de**

matéria médica homeopática. São Paulo: Rumo Gráfica, 1992, p.331-336.

- 77 VOISIN, H. Calcareo phosphorica (fosfato de cal). In: **Manual de matéria médica para o clínico homeopata.** 2 ed. São Paulo. Andrei, 1987. p 252-6
- 78 VONDRACEK, S. F.; HANSEN, L. B. Current approaches to the management of osteoporosis in men. **Am J Health-Syst Pharm**, v.61, n.17, p.1801-11, Sept. 2004.
- 79 WATTS, N. B. et al. Risedronate prevents new vertebral fractures in postmenopausal women at high risk. **J Clin Endocrinol Metabol**, v.88, n.2, p.542-9, Feb. 2003.
- 80 WATTS, N. B et al. Relationship between changes in bone mineral density and vertebral fracture risk associated with risedronate. **J Clin Densitom**, v.7, n.3, p.255-61, Mar. 2004.
- 81 WATTS, N. B. Diagnosis and evaluation of patients with osteoporosis. **South Med J**, v.97, n.6, p 540-1, June 2004.
- 82 WANG, C. J. et al. The effect of alendronate on bone mineral density in the distal part of the femur and proximal part of the tibiae after total knee arthroplasty. **J Bone Joint Surg**, v.85-A, n.11, p.2121-6. Nov. 2003.
- 83 WYLLIE, M. G. ADAM and the andropause: pharmaceutical review. **BJU Int**, v.91, p883-4, 2003.

WERKMAN, C. **Study of the effects of Risedronate and *Calcarea phosphorica* 6CH on bone repair in castrated male rats.** 2005.110p. Thesis (Masters degree in Oral Biopathology, Oral Biopathology Area) – Odontology College of São José dos Campos, São Paulo State University, São José dos Campos, 2005.

ABSTRACT

Osteoporosis, a disease characterized by progressive bone loss, has been the target of several studies lately. It results in a much higher risk for fractures and might cause slower bone consolidation. The aim of this work was to study the effects of Risedronate (allopathic medicine) and *Calcarea phosphorica* 6CH (homeopathic medicine) to repair bone lesions in male rats with osteoporosis, induced by castration. For this, eighty-four three-months-old rats were used divided in four groups of twenty-one animals. Three groups were castrated and one group was submitted to Sham surgery. One month later, monocortical lesions were made in all animals' tibiae and after one day they began the different treatments according to the following groups: CR – castrated/Risedronate (1mg/kg/day); CCp - castrated/*Calcarea phosphorica* 6CH (3 drops/day); CP - castrated/placebo and SP - Sham/placebo that received 3 drops/day of distilled water. The animals were sacrificed at seven, fourteen and twenty-eight days after the beginning of treatment and had their tibiae removed. The tibiae's digital XR was analyzed in order to evaluate optical density, using the Image Tool program. Then, they were decalcified and processed for histologic analysis. Histomorphometric measures of bone percentual formation were evaluated using a graticule in the central area of the lesion, with the Image J program. Data was submitted to ANOVA, Tukey and Dunnett tests (5% level). According to the optical density, the CCp group showed the best results at seven and fourteen days, but it was surpassed by the CR group at the 28th day. The histomorphometrical analyses showed that the SP group had the best result at seven days but the CR group formed more bone than all the other groups at 14 and 28 days. Measuring the bony callus, the CR group had the thicker callus at seven and 28 days. It was concluded that Risedronate stimulated more bone formation than *Calcarea phosphorica* 6CH during bone repair, due to the formation of a bone resistant to remodeling. *Calcarea phosphorica* was more efficient at the initial stages of bone repair process. Castration has interfered negatively leading to continuous bone loss. Radiographic exams demonstrated low sensibility to detect small variations on bone loss and neoformation in rats.

KEYWORDS: Bone tissue repair; risedronato; *Calcarea phosphorica* 6CH; comparative study; allopathic and homeopathic medicine; osteoporosis.