



## Efeito da deficiência de estrógeno no preenchimento de defeitos ósseos tratados ou não com biomaterial: um estudo radiográfico em ratas

*The effect of estrogen deficiency on filling bone defects treated or not with biomaterial: a radiographic study on rats*

Maria Bibiana Bartolomei Grassi<sup>[a]</sup>, Sônia Mara Luczyszyn<sup>[b]</sup>, Sung Hyun Kim<sup>[c]</sup>,  
Vinicius Augusto Tramontina<sup>[c]</sup>, Vula Papalexiou<sup>[b]</sup>, Maria de Fátima Pereira de Andrade Scarpim<sup>[a]</sup>

<sup>[a]</sup> C. D., Mestres em Periodontia pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná, (PUCPR), Curitiba, PR - Brasil, e-mail: mbibianag@hotmail.com

<sup>[b]</sup> Doutoradas, professoras adjuntas de Periodontia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba, PR - Brasil.

<sup>[c]</sup> Doutores, professores titulares de Periodontia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba, PR - Brasil.

---

### Resumo

**Objetivos:** O objetivo deste estudo foi avaliar radiograficamente o preenchimento ósseo de defeitos criados em tibia de ratas ovariectomizadas e não ovariectomizadas, preenchidos por coágulo ou material substituto ósseo. **Materiais e métodos:** Foram utilizadas 30 ratas *wistar*, sendo que 15 foram ovariectomizadas (grupo OV) e 15 ratas não receberam ovariectomia (grupo NOV). Decorridos 60 dias da cirurgia de ovariectomia, ambos os grupos foram submetidos à cirurgia para confecção de defeitos ósseos nas tíbias. A tibia direita foi preenchida por coágulo, e a esquerda, por biomaterial sintético (Bone Ceramic®), formando os seguintes grupos: grupos não ovariectomizados com defeitos preenchidos por coágulo (grupo NOV/C) ou por biomaterial (grupo NOV/B), e grupos ovariectomizados com defeitos preenchidos por coágulo (grupo OV/C) ou por biomaterial (grupo OV/B). Decorridos 60 dias da cirurgia de confecção dos defeitos e seus preenchimentos, as ratas foram mortas e suas tíbias removidas. A densidade óssea das tíbias foi avaliada em radiografias digitais e as imagens foram estudadas no programa de imagem ImageJ, por examinador único. Para a análise estatística, utilizou-se o teste Anova a dois critérios multifatoriais completos com  $\alpha < 0,05$ . **Resultados:** A porcentagem média de preenchimento ósseo para cada grupo foi: grupo NOV/C, 71,55%; grupo NOV/B, 70,44%; grupo OV/C, 21,03% e grupo OV/B, 58,93%. **Conclusão:** Com base nos resultados

obtidos, pôde-se concluir que a deficiência de estrógeno interferiu no grau de preenchimento ósseo em defeitos cirurgicamente criados em tíbias de ratas, com ou sem o uso de um biomaterial.

**Palavras-chave:** Ovariectomia. Biomateriais. Densidade óssea.

### Abstract

**Objectives:** The aim of this study was to evaluate radiographically the bone filling of defects surgically created in the tibiae of ovariectomized and non-ovariectomized rats. Defects were filled with coagulum or synthetic bone graft. **Materials and methods:** Thirty female Wistar rats were divided into two groups: 15 rats received ovariectomy (group OVX) and 15 did not (group NOVX). Sixty days after ovariectomy surgery, both groups were submitted to osteotomy surgery for bone defect creation in the tibiae. The right tibiae were filled with coagulum and the left one with synthetic bone graft (Bone Ceramic®). The groups of study were: non-ovariectomized group, with defects filled with coagulum (group NOV/C) or biomaterial (group NOV/B), and ovariectomized group, with defects filled with coagulum (group OV/C) or biomaterial (group OV/B). After 120 days, the rats were sacrificed and their tibiae removed. The bone density was evaluated by digital radiograph and the images were analyzed by ImageJ program. In order to carry out the statistical analysis, Anova test was applied  $\alpha < 0.05$ . **Results:** The mean percentages of bone filling for each group were: group NOV/C, 71.55%; group NOV/B, 70.44%; group OV/C, 21.03% and group OV/B, 58.93%. **Conclusion:** Based on the results obtained, it was possible to conclude that estrogen deficiency interfered on the level of bone filling of surgically created defects in rats tibiae, with or without the use of biomaterial.

**Keywords:** Ovariectomy. Biomaterial. Bone density.

## Introdução

O tecido ósseo é um tecido extremamente ativo. No esqueleto em desenvolvimento, essa atividade é primariamente voltada para o crescimento e a remodelação óssea, processos pelos quais o osso atinge sua forma e seu tamanho. No adulto, a atividade metabólica envolve predominantemente a remodelação, que é responsável pela manutenção desse tecido. Na presença de injúrias, o tecido ósseo é capaz de reparar fraturas ou defeitos locais com a formação de novos tecidos, possuindo a mesma organização estrutural do tecido anterior, sem a formação de cicatriz (1, 2).

Uma importante função estrutural do tecido ósseo é a ancoragem dos dentes nos maxilares (3). Os processos de remodelação e reparo ósseos envolvem uma cascata complexa de respostas biológicas. Eles também são afetados por fatores locais e externos, sendo regulados pela interação de diferentes mecanismos (4). A participação dos hormônios sobre os mecanismos bioquímicos no controle e ajuste da remodelação óssea tem sido descrita em vários trabalhos (3, 5). Dentro desse contexto, o estrógeno, pertencente à família de hormônios sexuais (6), par-

ticipa no ciclo de remodelação óssea (7) – processo pelo qual ocorre a renovação constante do tecido ósseo, onde a matriz osteoide mineralizada é reabsorvida e substituída por tecido ósseo neoformado – e exibe atividade de estimulação dos osteoblastos (8).

A deficiência de estrógeno é considerada um dos fatores patogênicos dominantes para a osteoporose em mulheres. Ocorre também decréscimo na absorção de cálcio da dieta e um aumento dos níveis de cálcio na urina (9). A osteoporose instalada, por sua vez, caracteriza-se pela redução da massa óssea e pela deterioração da microarquitetura, tanto do osso cortical como do osso trabecular, resultante do desequilíbrio entre a reabsorção e a aposição no ciclo fisiológico de remodelação óssea (3).

Diversos estudos clínicos relatam que a qualidade e a quantidade óssea sistêmica são reduzidas em mulheres pós-menopausa, em decorrência da deficiência de estrógeno (3, 10-12) e, ainda, tem sido sugerido que essa diminuição da função ovariana na menopausa pode estar associada inclusive com a diminuição da densidade de massa óssea pós-cranial e bucal (13, 14). Evidências sugerem que a deficiência de estrógeno pode reduzir a densidade óssea dos maxilares, reforçando a hipótese de que, semelhan-

temente ao osso esquelético, o osso bucal também pode ser afetado (3). Pallos et al. evidenciaram radiograficamente que a osteoporose em mulheres pós-menopausa influenciou negativamente o osso alveolar, com decréscimo da massa óssea, demonstrando que a perda óssea generalizada em função da osteoporose torna a maxila suscetível à aceleração na reabsorção de osso alveolar (9).

Várias formas de tratamento têm sido investigadas na tentativa de obter-se a regeneração do tecido ósseo alveolar, especialmente no que se refere às áreas da Periodontia, Implantodontia e Prótese, que requerem altura e espessura de rebordos alveolares para que sejam realizadas reabilitações protéticas e/ou a instalação de implantes dentários, com o objetivo de restabelecer a função e a estética.

Dentre as alternativas de tratamento, podemos citar os enxertos autógenos (do próprio indivíduo), os materiais homogêneos (FDBA – osso humano desidratado por congelamento e DFDBA – osso humano desidratado por congelamento e desmineralizado), os materiais heterogêneos (obtidos a partir de osso bovino) e os materiais aloplásticos ou sintéticos. Vários estudos demonstram que tanto os enxertos autógenos quanto outros materiais podem favorecer a formação óssea (15-18). Os enxertos ósseos têm sido empregados na Odontologia com diversos objetivos, dentre eles, a regeneração óssea guiada (ROG).

Os enxertos autógenos são considerados padrão-ouro dos enxertos ósseos, por possuírem propriedades de osteoindução (processo no qual novo osso é induzido a se formar por meio de fatores de indução contidos no osso, como proteínas ou fatores de crescimento) e osteocondução (processo no qual o enxerto age como arcabouço para que novo osso do hospedeiro possa ser formado) (19). Porém, a necessidade de uma segunda área cirúrgica doadora e a limitação da quantidade de enxerto, muitas vezes, dificulta a utilização de enxertos autógenos na Periodontia e Implantodontia. Dentro desse contexto, tem crescido progressivamente o desenvolvimento de materiais utilizados como substitutos ósseos.

Os substitutos ósseos devem ser biocompatíveis com os tecidos bucais, possuir propriedades osteocondutoras e favorecer a neoformação óssea. Assim, enxertos de diferentes biomateriais, como osso bovino, hidroxiapatita, fosfato tricálcio, vidro bioativo, dentre outros, têm sido investigados (20-23). No entanto, o desenvolvimento de materiais sintéticos pela

indústria de materiais odontológicos tem aumentado progressivamente, visando não apenas oferecer maior quantidade de material para a enxertia, mas principalmente substituir os materiais de origem animal em virtude dos riscos que estes podem apresentar em relação à transmissão de doenças e possíveis rejeições (24).

O fosfato de cálcio bifásico (FBC) é um substituto ósseo totalmente sintético, composto por 60% de hidroxiapatita (HA) e 40% de beta-fosfato tricálcio ( $\beta$ -FT), com partículas que variam de 400 a 700  $\mu$ m. Os biomateriais que fazem parte da composição desse enxerto ósseo sintético já foram pesquisados e estão sendo largamente utilizados como substitutos ósseos, tanto na Periodontia como na área da Implantodontia (22, 25). Esse material apresenta propriedades de osteocondução, é biocompatível, reabsorvível e substituído por tecido ósseo vital durante o processo de remodelação óssea. Essa combinação de HA e  $\beta$ -FT proporciona a este biomaterial sua principal característica, a de ser parcialmente reabsorvível, sendo que o  $\beta$ -FC é rapidamente reabsorvido e a HA permanece por tempos prolongados, o que favorece a manutenção de espaço para nova formação óssea.

Resultados de estudos realizados com esse biomaterial mostraram que ele não produz ação inflamatória e não tem ação local tóxica (26). Histologicamente, verificou-se que os poros de FCB favorecem o crescimento ósseo. O tamanho das partículas e a densidade dos poros, bem como sua composição, determinam a tendência para o crescimento ósseo no interior desses poros e o envolvimento do material pelo tecido, com sua subsequente reabsorção. Os poros do FCB parecem melhorar e favorecer a osteocondução, em razão de sua controlada reabsorção (26).

O uso de modelos animais para verificar o reparo ósseo é bem descrito na literatura. Diversos trabalhos têm investigado a interferência de alguns aspectos, dentre os quais, tabagismo, deficiências hormonais, medicamentos e, também, o efeito de alguns biomateriais sobre o processo de reparo ósseo em defeitos cirurgicamente criados em tíbias de animais (27-29).

O objetivo deste estudo foi avaliar, radiograficamente, a influência da deficiência de estrogênio no preenchimento ósseo de defeitos cirurgicamente criados em tíbias de ratas, ovariectomizadas ou não, e o comportamento de um biomaterial substituto ósseo no preenchimento desses defeitos.

## Materiais e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Núcleo de Bioética, Comitê de Ética no uso de animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Registro do projeto número 310.

Para o estudo, foram utilizadas 30 ratas *Wistar* com peso aproximado de 250 g e com 30 dias de idade, fornecidas pelo Biotério da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. As ratas foram mantidas em gaiolas individuais com água *ad libitum* e ração (Libina® - fabricante: Purina®) durante todo o experimento.

Os animais foram divididos em dois grandes grupos: 15 ratas ovariectomizadas (grupo OV) e 15 ratas não ovariectomizadas (grupo NOV). Foram realizadas, então, duas intervenções: a primeira para a ovariectomia (grupo OV), e a segunda, após 60 dias, para a confecção e o preenchimento dos defeitos ósseos com biomaterial sintético (B).

Para cada grupo (grupo OV e grupo NOV), foram criados defeitos ósseos cirúrgicos nas tíbias. A tíbia direita foi preenchida por coágulo (C), e a esquerda, por biomaterial substituto ósseo sintético (Bone Ceramic®, fabricante Strumann®) (B).

Alguns animais foram perdidos durante o experimento. Desse modo, os seguintes grupos foram designados:

- Grupo NOV/C - Grupo não ovariectomizado, com defeito ósseo preenchido por C (n = 11).
- Grupo NOV/B - Grupo não ovariectomizado, com defeito ósseo preenchido com B (n = 11).
- Grupo OV/C - Grupo ovariectomizado, com defeito ósseo preenchido por C (n = 13).
- Grupo OV/B - Grupo ovariectomizado, com defeito ósseo preenchido com B (n = 13).

Para todas as cirurgias, a pré-anestesia foi realizada com cloridrato de tiazina (Rompun® - fabricante: Bayer®), a 2% (5mg/kg), no músculo bíceps femoral da pata traseira. Após a constatação do início do relaxamento muscular e ligeira sedação, os animais foram anestesiados com injeção intramuscular de cloridrato de ketamina (Dopalen® - fabricante: Agribands®), 10% (10mg/kg), no músculo bíceps femoral da pata traseira.

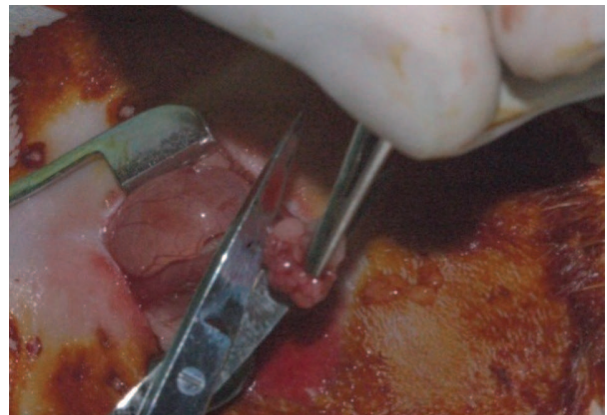
Na primeira intervenção (grupos OV/C e OV/B), após tricotomia da região abdominal lateral, a pele e a musculatura foram incisadas com lâmina de bis-

turi n. 15 (Sovereign® - fabricante: Paramount surgical®) até o acesso aos ovários, que foram retirados bilateralmente (Figuras 1 e 2).

A musculatura abdominal foi suturada com fio reabsorvível (Vicryl 4.0 - fabricante: Ethicon® Johnson & Johnson®), e a pele, com fio de nylon 4.0 (Fio mononylon 4.0 - fabricante: Ethicon® Johnson & Johnson®).

Como medicação pós-operatória, foi administrado o antibiótico Enrofloxacin 4,0 mg, duas vezes ao dia, por cinco dias. Também foi administrado anti-inflamatório Dexametasona 2,0 mg, duas vezes ao dia, por cinco dias. E, como analgésico, utilizou-se Buprenorfina 1,0 mg, duas vezes ao dia, por dois dias.

Decorridos 60 dias após a cirurgia de ovariectomia, foi realizada a segunda intervenção cirúrgica para a confecção dos defeitos ósseos nas tíbias, em ambos os grupos de ratas que receberam ou não a cirurgia de ovariectomia. Após a anestesia, foi feita tricotomia da região e limpeza com solução de iodo



**Figura 1** - Remoção dos ovários que foram amarrados e removidos bilateralmente



**Figura 2** - Ovários direito e esquerdo removidos

povidine. Uma incisão de aproximadamente 3 cm foi confeccionada com lâmina de bisturi 15 e a superfície óssea da tíbia foi exposta para mensuração e confecção do defeito.

Com o uso de uma broca diamantada número 3100 (Microdent®- fabricante Microdont LTDA), devidamente selecionada para a padronização dos defeitos, e sob irrigação constante com soro fisiológico, os defeitos ósseos foram criados com as dimensões de 2,5 mm de diâmetro por 1,5 mm de profundidade, sendo um em cada tíbia do animal. Na tíbia direita, o defeito foi preenchido por coágulo e, na tíbia esquerda, o defeito foi preenchido por B (Bone Ceramic®).

Previamente ao preenchimento da tíbia esquerda, o biomaterial foi hidratado em soro fisiológico durante dez minutos e, então, inserido no defeito, preenchendo-o por completo. Ao final, os tecidos foram reposicionados e suturados com fio reabsorvível 4.0 (Vicryl 4.0 – Ethicon®, fabricante: Jonhson & Jonhson®) na musculatura e fio mononylon 4.0 (Vicryl 4.0 – Ethicon®, fabricante: Jonhson & Jonhson®) para a pele. A medicação pós-operatória seguiu o mesmo protocolo da cirurgia de ovariectomia.

Decorridos 60 dias da cirurgia de confecção das cavidades óssea e seus respectivos preenchimentos, os animais foram sacrificados com overdose de cloridrato de ketamina. As tíbias foram expostas seccionadas e fixadas em solução de formol a 10%.

Foram realizadas radiografias digitais de todas as tíbias com o uso do aparelho Kodak Digital K2200, utilizando-se o tempo de exposição de dois segundos. Para a tomada das radiografias, as tíbias foram colocadas sobre um guia especialmente confeccionado para padronizar o posicionamento das peças e a incidência do raio. As imagens foram analisadas por meio de um programa de imagem (Image-J Processing®, programa de análise de imagens digitalizadas de domínio público JAVA. Programa inspirado por NIH image) para avaliação do preenchimento ósseo. As imagens foram analisadas por um único examinador, devidamente treinado e calibrado.

Primeiramente, foi delimitada a área do defeito ósseo (Figura 3) e, então, essa área foi preenchida totalmente com escala de vermelho para obtenção de valores compatíveis com o preenchimento total do defeito; ao valor obtido foi atribuído 100% de preenchimento ósseo (Figura 4). Posteriormente, por meio de ferramentas do próprio programa, e na mesma escala de vermelho, foi obtido o valor

de preenchimento ósseo resultante após o período de 60 dias de pós-operatório da cirurgia de confecção das cavidades ósseas e seus preenchimentos (Figura 5). Os valores finais referentes ao preenchimento ósseo foram transferidos para o programa Excel, por meio do qual foi obtido o resultado, representando a porcentagem final de preenchimento ósseo.

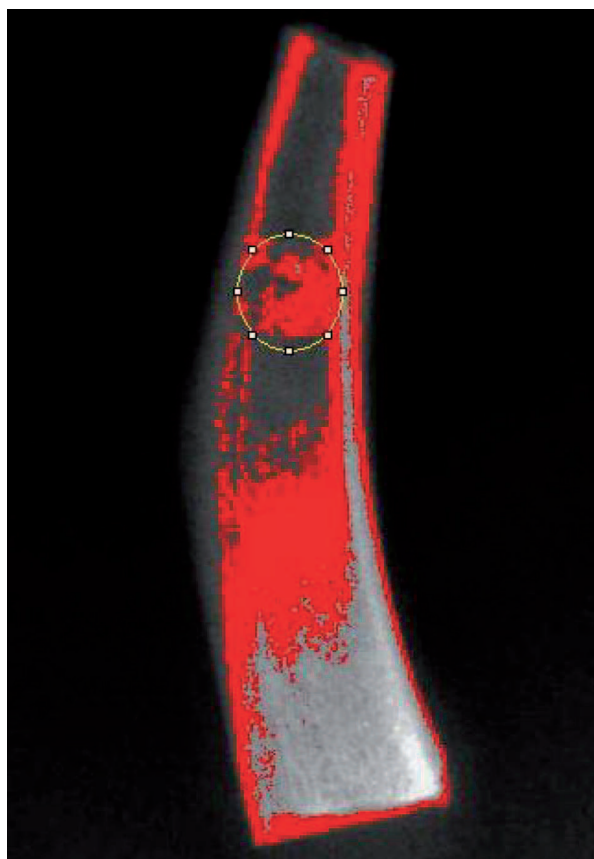
Para a análise estatística, foi avaliada a normalidade, por meio do teste Kolmogorov-Smirnov, que indicou haver uma distribuição normal, uma vez que  $p > 0,05$ . Para se avaliar a homogeneidade da amostra, foi utilizado o teste de variância de Levene, que indicou haver homogeneidade, uma vez que  $p > 0,05$ . A distribuição da amostra apresentou normalidade e homogeneidade, e o teste estatístico aplicado foi Anova, a dois critérios multifatoriais completos, que indicou existir diferenças nos valores médios entre grupo, tipo de preenchimento, mostrando ainda existir interação entre os dois fatores, uma vez que  $p < 0,05$ .



**Figura 3** - Representação da forma como foi delimitado o defeito ósseo no programa ImageJ



**Figura 4** - Representação da forma como foi preenchido o defeito com escala de vermelho para se obter valores de preenchimento ósseo compatível com o preenchimento ósseo total do defeito



**Figura 5** - Representação da forma de preenchimento do defeito em escala de vermelho no programa ImageJ, para se obter valores referentes ao preenchimento ósseo do defeito para o período de 60 dias de pós-operatório

## Resultados

### Análise radiográfica descritiva

Radiograficamente, as tíbias do grupo NOV (grupo NOV/C e grupo NOV/B – representados pelas Figuras 6 e 8) apresentaram maior radiopacidade que as do grupo OV (grupo OV/C e grupo OV/B – representados pelas Figuras 7 e 9), respectivamente. Também foi observada imagem radiográfica circunscrita radiopaca nas margens dos defeitos preenchidos por coágulo no grupo NOV (Figura 6 - indicado pela seta vermelha). No grupo OV, observou-se áreas predominantemente radiolúcidas nos defeitos preenchidos por coágulo (grupo OV/C - Figura 7) e no grupo OV/B foram observados espaços radiolúcidos circundando o biomaterial radiopaco (Figura 9 - indicado pela seta vermelha).

### Análise do preenchimento ósseo

As médias de preenchimento ósseo estão representadas nas Tabelas 1 e 2.

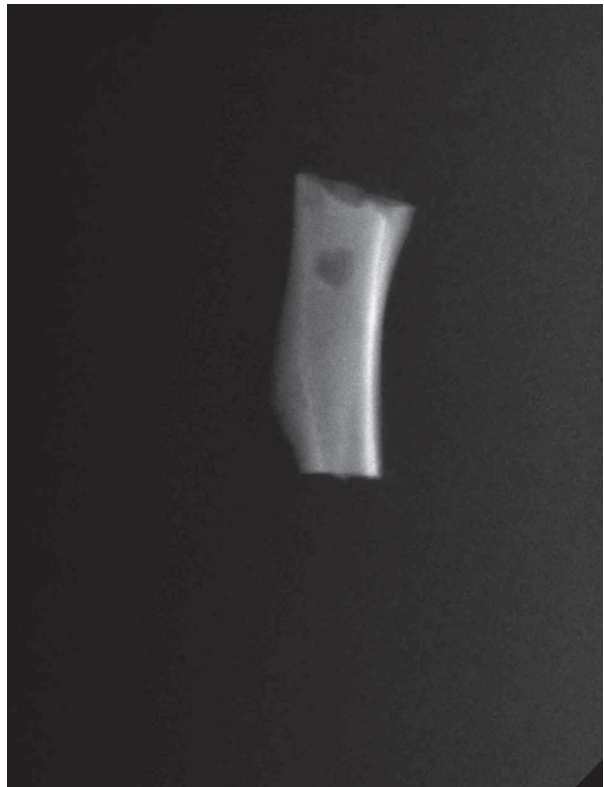
**Tabela 1** - Representação da porcentagem média de preenchimento ósseo, quando comparados o grupo OV e o grupo NOV

Grupo NOV/C (71, 55%) × Grupo OV/C (21, 03%)	$p = 0,000^*$
Grupo NOV/B (70, 44%) × Grupo OV/B(58, 93%)	$p = 0,023^*$

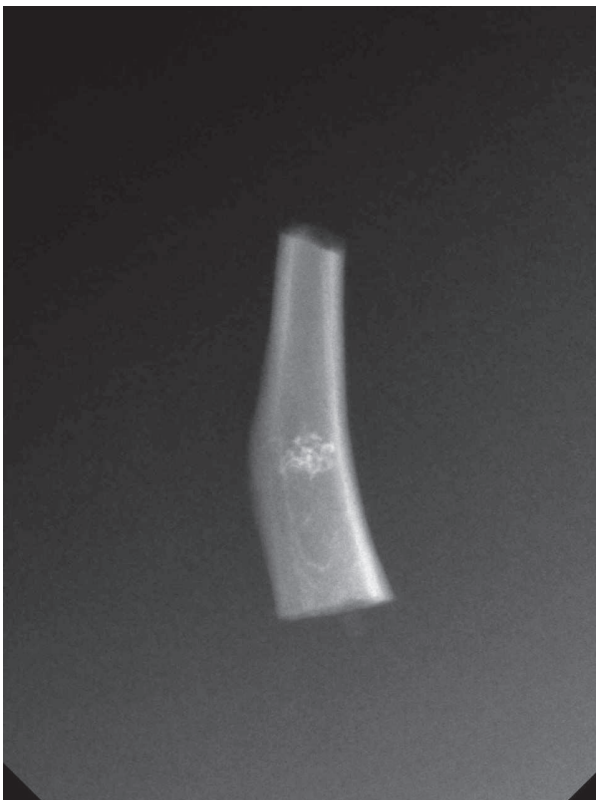
Fonte: Dados da pesquisa.



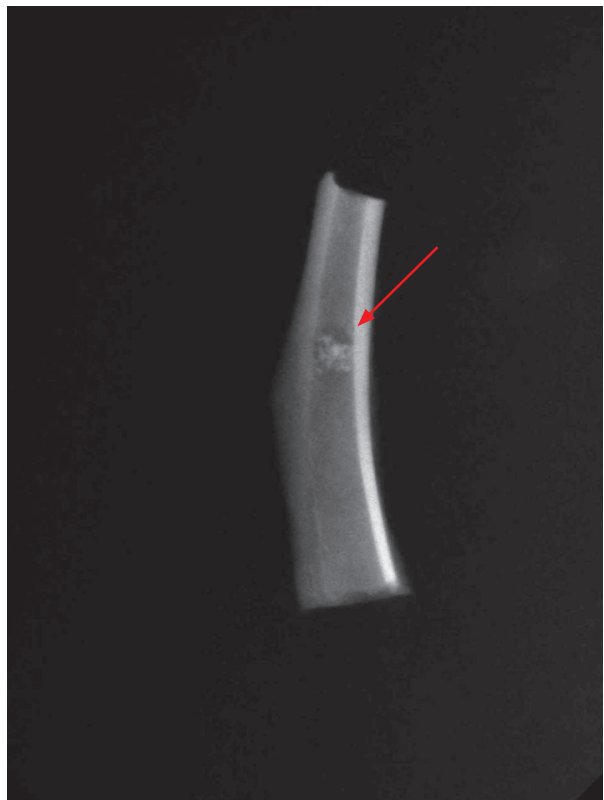
**Figura 6** - Imagem radiográfica de tíbia do grupo NOV/C



**Figura 7** - Imagem radiográfica de tíbia do grupo OV/C



**Figura 8** - Imagem radiográfica de tíbia do grupo NOV/B



**Figura 9** - Imagem radiográfica de tíbia do grupo OV/B

**Tabela 2** - Representação da média de preenchimento ósseo dos defeitos, segundo o tipo de preenchimento (coágulo × biomaterial)

Grupo NOV/C (71,55%) × Grupo NOV/B (70,44%)	$p = 0,9924$
Grupo OV/C (21,03%) × Grupo OV/B (58,93%)	$p = 0,000^*$

Fonte: Dados da pesquisa.

## Discussão

Diversos estudos em mulheres pós-menopausa, com quadros de osteopenia/osteoporose, evidenciaram que a deficiência de estrógeno acelera o processo de perda óssea, diminui o conteúdo ósseo mineral e reduz a densidade de massa óssea, tornando o tecido ósseo fragilizado. Nos maxilares, foram relatadas perda de processo alveolar e redução na densidade óssea mandibular. Mohajery et al. (30) observaram que mulheres com deficiência de estrógeno apresentaram, além da redução da densidade óssea sistêmica, diminuição da densidade óssea bucal. O estrógeno estimula a síntese e secreção de osteoprotegerina (OPG), uma proteína secretada por osteoblastos, prevenindo a união do fator de diferenciação de osteoclasto (FDO, também conhecido como RANKL) ao receptor ativador de NF- $\kappa$ B (RANK), o que inibe a formação de osteoclastos (31). O estrógeno regula positivamente o TGF- $\beta$ , um potente inibidor da reabsorção óssea (32, 33).

Para avaliar a deficiência de estrógeno, a técnica da ovariectomia em ratas tem sido descrita como um modelo confiável de estudo, promovendo condições similares ao que foi observado em mulheres com idade avançada acometidas por osteoporose (34-36). Estudos incluindo esses animais demonstraram que o método é preciso (37), uma vez que existem similaridades entre ratos e humanos a respeito da resposta à deficiência de estrógeno, como uma rápida perda óssea no período inicial à ovariectomia e um aumento na média de remodelamento ósseo. Esses aspectos promovem suporte científico para o uso da ovariectomia em ratas como um modelo para avaliar a diminuição óssea após a menopausa ou outras condições de deficiência de estrógeno (5, 38, 39).

Neste trabalho, o período experimental de 120 dias pareceu adequado, segundo os dados da análise, para evidenciar os efeitos da deficiência de estrógeno em tíbias de ratas ovariectomizadas. Com relação à ovariectomia, existem divergências na literatura sobre a definição do tempo necessário entre a ovariectomia e a constatação dos prováveis efeitos da deficiência de estrógeno no tecido ósseo. Com o período de 60 dias pós-ovariectomia em ratas, Tanaka et al. 2002 (40) detectaram alteração no osso mandibular na região de septo interradicular de primeiros molares, uma maior separação trabecular, menor volume ósseo e redução do número de trabeculares. Já Kuroda et al. (41) observaram mudanças na densidade óssea mineral mandibular de ratas ovariectomizadas após um período de 109 dias de experimento, enquanto Paz et al. (42) analisaram ossos longos e obtiveram resultados de diminuição de massa óssea em seis semanas pós-ovariectomia (39). Elovic et al. (43) investigaram a densidade da mandíbula de ratas ovariectomizadas nos períodos de 14, 114 e 200 dias, e não encontraram mudanças na densidade de massa óssea, sugerindo que a função mastigatória pode promover resistência à perda óssea. Em outro experimento, Tanaka et al. (44), adotando o período de 60 dias pós-ovariectomia, não observaram mudanças significativas na densidade de massa óssea de côndilos mandibulares entre ratas ovariectomizadas e não ovariectomizadas.

No presente estudo, quando se avaliou o efeito da deficiência de estrógeno, observou-se que a ovariectomia promoveu uma menor percentagem de preenchimento ósseo, visto radiograficamente, no reparo dos defeitos ósseos para ambos os tipos de preenchimento avaliados (coágulo ou biomaterial). No grupo OV/B foram observados espaços radiolúcidos circundando o FCB radiopaco, sugerindo menor preenchimento dos defeitos quando comparados ao grupo NOV/B, no qual tais áreas radiolúcidas não foram tão visíveis. Dessa maneira, pode-se sugerir que a deficiência de estrógeno induzida neste experimento afetou o grau de preenchimento dos defeitos. De fato, Orrico et al. (38) observaram que a ovariectomia diminuiu a densidade óssea mineral e acelerou a perda óssea em ratas. Duarte et al. (36) relataram que a ovariectomia em ratas afetou a formação óssea ao redor de implantes e também do osso pré-existente.

A remodelação ou *turnover* ósseo é o processo pelo qual a matriz osteoide está continuamente se renovando, com remoção localizada de osso antigo



e substituição por osso recém-formado, por meio de uma ação coordenada por osteoblastos (OB) e osteoclastos (OC). As atividades de OB e OC são combinadas em definidos espaços anatômicos chamados unidade multicelular básica de remodelação óssea (UMB) e, em condições normais, existe um equilíbrio entre os processos de osteogênese e osteoclastogênese. Com a diminuição da secreção de estrogênios na menopausa, tem-se como consequência, maior atividade metabólica óssea, com maior ritmo na remodelação óssea. Na deficiência de estrogênio, ocorre um aumento de IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ , que são as mais potentes citocinas estimuladoras da reabsorção óssea e inibidoras da formação óssea (45, 46). Além disso, ocorre um aumento da taxa de formação de osteoclastos, bem como o aumento do recrutamento de osteoclastos para a superfície a ser remodelada (47), com predomínio da atividade de reabsorção óssea sobre a de formação. Com base nessas informações, pode-se sugerir que esse processo de reabsorção aumentada tenha seu reflexo nas imagens radiográficas avaliadas neste estudo, quando se observou um predomínio de áreas radiolúcidas em radiografias de tíbias de ratas ovariectomizadas, durante o processo de cicatrização dos defeitos confeccionados.

Quando se comparou tipos de preenchimento ósseo, não houve diferenças estatisticamente significativas na porcentagem de preenchimento ósseo visto radiograficamente no grupo NOV (grupo NOV/C e grupo NOV/B), sugerindo que níveis normais de estrogênio podem ter favorecido o preenchimento de defeitos cirurgicamente criados, observados radiograficamente, mesmo no grupo que não recebeu o biomaterial. Em contrapartida, no grupo OV (grupo OV/C e grupo OV/B), houve diferenças significativas na porcentagem de preenchimento ósseo. Conforme o esperado, o grupo que recebeu preenchimento com FCB evidenciou um melhor preenchimento radiográfico do que o grupo que recebeu preenchimento por coágulo (48). Isso pode ser em razão das propriedades radiopacas do FCB, cujas partículas foram vistas radiograficamente no interior do defeito ósseo em processo de cicatrização.

Na grande maioria dos estudos com uso de biomateriais, são testadas as propriedades destes e seus respectivos resultados clínicos em indivíduos saudáveis. Neste estudo, procurou-se avaliar se, frente à deficiência de estrogênio, o uso de um biomaterial poderia interferir no preenchimento ósseo, visto radiograficamente.

## Conclusão

Com base nos resultados obtidos, pôde-se concluir que:

- 1) A deficiência de estrogênio interferiu no grau de preenchimento ósseo em defeitos cirurgicamente criados em tíbias de ratas, com ou sem o uso de um biomaterial.
- 2) O fosfato de cálcio bifásico favoreceu o preenchimento dos defeitos ósseos no grupo ovariectomizado.
- 3) O preenchimento ósseo obtido no grupo não ovariectomizado não diferiu entre os defeitos que receberam ou não o biomaterial.

## Referências

1. Katchburian E, Arana V. Tecido ósseo: In: Katchburian E, Arana V. Histologia básica. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p. 11-128.
2. Shenk RK. Regeneration: biologic basis. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK. Guided bone regeneration implant dentistry. Chicago: Quintessence Books; 1994. p. 49-100.
3. Lerner UH. Bone remodeling in post menopausal osteoporosis. J Dent Res. 2006;85(7):584-95.
4. Amadei UA, Silveira VAS, Pereira CA, Carvalho YA, Rocha RF. A influência da deficiência estrogênica no processo de remodelação e reparação óssea. J Bras Patol Med Lab. 2006;42(1):5-12.
5. Chow J, Tobias JH, Colston KW, Chambers TJ. Estrogen maintains trabecular bone volume in rats not only suppression of bone resorption but stimulation of bone formation. J Clin Invest. 1992;89(1):74-8.
6. Willians CL, Stangel GM. Estrogerenos e progestênios. In: Goodman G. As bases farmacológicas da terapêutica. 9a ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill; 1996. p. 1045-67.
7. Compton JE. Sex steroids and bone. Physiol Rev. 2001;81(1):419-47.
8. Hill PA, Orth M. Bone remodeling. Br Orthod. 1998; 25(2):101-7.
9. Pallos D, Ceschin A, Victor GA, Bulhões RC, Quirino MRS. Menopause: a risk factor for periodontal disease? Rev Bras Ginec Obstet. 2006;28(5):292-7.

10. Kribbs PJ, Chesnut CH, Ott SM, Kilcoyne RF. Relationships between mandibular and skeletal bone in an osteoporotic population. *J Prosthet Dent.* 1989;62(6):703-7.
11. Payne JB, Reinhardt RA, Nummikoski PV, Dunning DG, Patil KD. The association of cigarette smoking with alveolar bone loss in postmenopausal females. *J Clin Periodontol.* 2000;27(9):658-64.
12. Taguchi A, Tanimoto K, Sueti Y, Wada T. Tooth loss and mandibular osteopenia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;79(1):127-32.
13. Von Wowern N, Klausen B, Kollerup G. Osteoporosis: a risk factor in periodontal disease. *J Periodontol.* 1994;65(12):1134-8.
14. Von Wower N. Bone mineral content of mandibles; normal reference values- rate of age-related bone loss. *Calcif Tissue Int.* 1988;43(4):193-8.
15. Bagambisa FB, Kappert HF, Schilli W. Interfacial reactions of osteoblasts to dental implant materials. *J Oral Maxillofac Surg.* 1994;52(1):52-6.
16. Trombelli L, Annunziata M, Berlaro RF, Scabbia A, Guida L. Autogenous bone graft in conjunction with enamel matrix derivative in the treatment of deep periodontal intra-osseous defects: a report of 13 consecutively treated patients. *J Clin Periodontol.* 2006;33(1):69-75.
17. Froum SJ, Ortiz M, Wiffitt WC. Bone blending: a technique for osseous implants. *J Periodontol.* 1972;43(5):295-7.
18. Richardson CR, Mellonig JT, Brunsvold MA, McDonnell HT, Cochran DL. Clinical evaluation of Bio-Oss: a bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Clin Periodontol.* 1999;26(7):421-8.
19. Mellning JT. Periodontal regeneration: bone grafts. In: Nevins M, Mellonig JT. *Periodontal therapy: clinical approaches and evidence of success.* Chicago: Quintessence;1998. p. 233-48.
20. Camargo PM, Weinlaender M, Madzarevic M, Lenovic V, Vasilic N, Kenney EB. The Inter. *J Periodontics e Rest Dent.* 2005;25(1):49-50.
21. Galgut PN, Wait IM, Brookshaw JD, Kingston CP. A 4-year controlled clinical study into the use of a ceramic hydroxyapatite implant material for the treatment of periodontal bone defects. *J Clin Periodontol.* 1992;19(8):570-7.
22. Bowers GM, Vargo JW, Levy B, Emerson JR, Begquist JJ. Histologic observations following the placement of Tricalcium Phosphate Implants in human intra-bony defects. *J Periodontol.* 1986;57(5):286-7.
23. Anton S, Malgorzata P, Arweiler NB, Ausschill TM, Nemcovsky C. Four-year results of a prospective-controlled clinical study evaluating healing of intra-bony defects following treatment with an enamel matrix protein derivative alone or combined with a bioactive glass. *J Clin Periodontol.* 2007;34(6):507-13.
24. Carson ER, Marx RE, Buck BE. The potential for HIV transmission through allergenic bone. A review of risk and safety. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;80(1):17-23.
25. Kenney EB, Lekovic V, Sá Ferreira JC, Han T, Dimitrijevic B, Carranza FA Jr. Bone formation within hydroxyapatite implants in human periodontal defects. *J Periodontol.* 1986;57(2):76-83.
26. Ellinger RF, Nery EB, Lynch KL. Histological assessment of periodontal defects following implantation of hydroxyapatite and biphasic calcium Phosphate ceramics: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1986;6(3):22-33.
27. Bouxsein ML, Myers KS, Shultz KL, Donahue LR, Rosen CJ, Beamer WG. Ovariectomy-induced bone loss varies among inbred strains of mice. *J Bone Miner Res.* 2005;20(7):1085-92.
28. Carvalho MD, Benatti BB, Neto CJB, Nociti FH Jr, Filho GRN, Casati MZ, et al. Effect of cigarette smoke inhalation and estrogen deficiency on bone healing around titanium implants: a histometric study in rats. *J Periodontol.* 2006;77(4):599-605.
29. Wronsky TJ, Lowry PL, Walsh CC, Ignaszewski LA. Skeletal alterations in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int.* 1985;37(3):324-8.
30. Mohajery M, Brooks SL. Oral radiographs in the detection of early signs of osteoporosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1992;73(1):112-7.
31. Bolon B, Carter C, Daris M, Monory S, Capparelli C, Hsieh A, et al. Adenoviral delivery of osteoprotegerin in a mouse ovariectomy model of osteoporosis. *Mol Ther.* 2001;3(2):197-205.

32. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basis regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev.* 2000;21(2):115-37.
33. Pacifici R. Estrogen, citokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1996;11(8):1043-51.
34. Hutton JE, Heath RM, Chain JY, Harnett J, Jemt T, Johns RB, et al. Factors related to success and failure rates at 3-year follow-up in a multicenter study of overdentures supported by Branemark implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1995;10(1):33-42.
35. Sims NA, Morris HA, Moore RJ, Durbridge TC. Estradiol treatment transiently increases trabecular bone volume in ovariectomized rats. *Bone.* 1996;19(5):455-61.
36. Duarte P, Gonsalves PF, Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH Jr. Age-related and surgically induced estrogen deficiencies may differently affect bone around titanium implants in rats. *J Periodontol.* 2005;76(9):1496-501.
37. Orrico SRP, Gonsalves D, Galeazzi ST, Giro G, Takayama L, Pereira RMR. The influence of loss bone mass on induced periodontal disease: a radiographic and densitometric study of female rats. *J Periodontol.* 2005;76(9):1436-42.
38. Orrico SRP, Giro G, Gonsalves D, Takayama L, Pereira RMR. Influence of the period after ovariectomy on femoral and mandibular bone density and on influenced periodontal disease. *J Periodontol.* 2007;78(1):164-9.
39. Roggia C, Gao Y, Cenci S, Weitzmann MN, Toraldo G, Isaia G, et al. Up-regulation of TNF-producing T cells in the bone marrow: a key mechanism by which estrogen deficiency induces bone loss *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(24):13960-5.
40. Tanaka M, Ejiri S, Toyooka E, Kohno S, Ozawa H. Effects of ovariectomy on trabecular structures of rats alveolar bone. *J Periodontal Res.* 2002;37(2):161-5.
41. Kuroda S, Mukohyama H, Kondo H, Aoki K, Ohya K, Ohyama T, et al. Bone mineral density of mandible in ovariectomized rats: analyses using dual energy x-ray absorptiometry and peripheral quantitative computed tomography. *Oral Dis.* 2003;9(1):24-8.
42. Da Paz LHBC, Falco V, Teng NC, Reis LM, Pereira RMR, Jorgetti V. Effect of 17 $\beta$ -estradiol or alendronate on the densitometry, bone metabolism of ovariectomized rats. *Braz J Med Biol Res.* 2001;34(8):1015-22.
43. Elovic RP, Hipp JA, Hayenes WC. Ovariectomy decreases the bone area fraction of the rat mandible. *Calcif Tissue Int.* 1995;56(4):305-10.
44. Tanaka M, Ejiri S, Kohno S, Ozawa H. The effect of aging and ovariectomy on mandibular condyle in rats. *J Dent Res.* 2000;79(11):1907-13.
45. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol.* 2008;79(8 Suppl):1569-76.
46. Grave D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2008;79(8 Suppl):1585-91.
47. Weitzmann NM, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *J Clin Invest.* 2006;116(5):1186-94.
48. Crespi R, Cappare P, Gherlone E. Magnesium-enriched hydroxyapatite compared to calcium sulfate in the healing of human extraction sockets: radiographic and histomorphometric evaluation at 3 months. *J Periodontol.* 2009;80(2):210-8.

Recebido: 15/11/2011

Received: 11/15/2011

Aprovado: 02/12/2011

Approved: 12/02/2011