

CAMILA PORTO DE DECO

**INFLUÊNCIA DA OSTEOPOROSE E ÁLCOOL NA
OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES EM RATAS**

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

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Marchini

São José dos Campos

2009

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:
Alvarez S, Coelho DCAG, Couto RAO, Durante APM. Guia prático para
Normalização de Trabalhos Acadêmicos da FOSJC. São José dos
Campos: FOSJC/UNESP; 2008.

D355a Deco, Camila Porto.
Influência da osteoporose e álcool na osseointegração em ratas /
Camila Porto de Deco. __ São José dos Campos : [s.n.], 2009.
77f. : il.

Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) – Faculdade de
Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, 2009.
Orientador: Prof. Dr Leonardo Marchini

1. Implante. 2. Etanol 3. Deficiência estrogênica. I. Marchini, Leonardo II.
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Odontologia de São
José dos Campos. III. Título

tD74

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP

AUTORIZAÇÃO

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

São José dos Campos, 16 de julho de 2009.

Assinatura :

E-mail: camilinhaporto@gmail.com

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Leonardo Marchini (orientador)
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
Universidade Estadual Paulista - UNESP

Profa. Adj. Rosilene Fernandes da Rocha
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
Universidade Estadual Paulista - UNESP

Profa. Tit. Célia Marisa Rizzatti Barbosa
Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

São José dos Campos, 16 de julho de 2009.

DEDICATÓRIA

Depois de tanto apoio, eu não poderia dedicar a outra pessoa: Renato, meu amor. Você foi quem mais me incentivou a estar aqui. Obrigada por dividir cada momento comigo e por ser meu exemplo de luta em busca de um sonho. Sou abençoada por viver ao seu lado!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, nas pessoas do diretor e vice-diretor da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Prof. Adj. José Roberto Rodrigues e Prof. Dr. Carlos Augusto Pavanelli.

Ao Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, na pessoa da coordenadora Profa. Adj. Cristiane Yumi Koga Ito, cujo trabalho sempre me serve de exemplo.

À CAPES pela concessão de bolsa que me permitiu a dedicação integral à esta pesquisa.

À Arkema Química Ltda e Regiane R. Rossini, e à Titanium Fix e Dra. Ana Paula Nocentini agradeço pelos materiais que tanto contribuíram para este trabalho.

Às secretárias da pós-graduação, Rosemary da Fátima Salgado, Erena Michie Hasegawa, Maria Aparecida Consiglio de Souza e Lilian Faria das Graças, e também à bibliotecária Silvana Alvarez pela prontidão em nos atender sempre.

Aos funcionários do biotério, Lourival Jacobs, Antônio Domingos Sávio Barbosa Maia Vasconcelos e Marco Antonio Correa Alfredo pela colaboração durante as pesquisas. Sua ajuda foi fundamental na execução desse trabalho. Obrigada pelo apoio nos momentos difíceis.

À Profa. Dra. Adriana Aigotti Haberbeck Brandão por estar sempre disponível.

Agradecimentos especiais:

Aos colegas Emanuel da Silva Rovai e Mariana Oliveira França por contribuírem trazendo ao ambiente de trabalho não apenas sua mão-de-obra, mas também seu bom-humor e leveza. Agradecimento à Isabel Chaves e todos os colegas que em algum momento nos ajudaram.

Aos amigos Lilibeth F. de Brito P. Forte, Ana Paula de Lima, Michelle Roberta V. Silva Reis e Alecsandro de Moura Silva pelas vezes que ajudaram no biotério e em todo o resto. À Fernanda Bertini Moreira pela agradável surpresa da sua amizade.

À Karina Bortolin Lodi por me “emprestar seus alunos” nos dias de cirurgia e “seu ombro” nos dias em que tudo parecia dar errado.

À amiga Mary Anne M. Bárbara agradeço por estar sempre presente, dividindo o trabalho, os problemas e comemorando cada etapa vencida. Foi um prazer trabalhar com você!

À Adriana Mathias Pereira da Silva Marchini agradeço pela ajuda constante. Foi muito bom trabalhar com alguém para quem nunca há “tempo ruim”.

À Prof. Tit. Yasmin Rodarte Carvalho pelas inúmeras vezes em que me ajudou, não importando quão atribulado estava seu dia.

À Prof. Dra. Renata Falchete pelas várias vezes em que deixou de lado seus afazeres para esclarecer minha dúvidas.

À Prof. Dra. Luana M. Reis de Vasconcellos pela ajuda imprescindível em todas as etapas desta pesquisa. Obrigada por tudo! Tudo mesmo!

Agradecimento especial à Profa. Adj. Rosilene Fernandes da Rocha, pela ajuda incondicional. Obrigada por me ensinar que essa etapa não significa somente crescimento profissional, e me fazer “olhar além”. Você contribuiu muito para meu amadurecimento.

Ao meu orientador Prof. Dr. Leonardo Marchini agradeço por estar disponível em todos os momentos. Muito obrigada pela ajuda na etapa mais difícil do trabalho com os animais. Isso foi muito importante para mim.

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte desse trabalho.

Agradeço à minha sogra Arlete, meu sogro Walter e à Adriana. Obrigada pelo apoio e pela torcida!

Agradeço MUITO à minha mãe Ivone, minhas tias Aurélia e Dalva, minha irmã Carol e minha sobrinha Laura. Vocês são muito importantes para mim. Eu não seria nada sem vocês. Obrigada pelas orações e pelo apoio!

Agradeço ao meu avô Ozório Porto (*in memoriam*). Mais uma vez, faço minhas, as suas palavras.

“A saudade (Ozório Porto)

*Quando a cidade adormece
e tudo se faz silente,
é que a saudade aparece
machucando tanto a gente.*

*E cresce a saudade, cresce,
e fica tão abrangente,
que pouco a pouco parece
ser o passado presente.*

*E sendo a saudade assim,
em horas quase sem fim,
vem machucar!... Vem ferir!...*

*É mal, às vezes, sem cura:
É o que restou da ventura
que alguém levou ao partir.”*

Agradeço a Deus por ser tão abençoada! Agradeço por esses dois anos, pelas coisas que aprendi e pelas pessoas que conheci. Esse foi um período de amadurecimento, que com certeza mudou minha maneira de ver muitas coisas...

Agradeço a Deus também por ter me cedido suas criaturas, seus animais, por quem tenho o maior RESPEITO. Com toda certeza, posso dizer que, a cada eutanásia, o sacrifício também foi meu.

“A incompreensão, mais do que impossibilidade de compreender, é a impossibilidade de sentir.”

José Narosky

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| RESUMO | 10 |
| LISTA DE FIGURAS | 11 |
| LISTA DE QUADROS E TABELAS | 12 |
| 1 INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 16 |
| 2.1 Consumo de álcool | 16 |
| 2.2 Osseointegração e consumo de álcool | 22 |
| 2.3 Osteoporose | 24 |
| 2.4 Osseointegração e osteoporose | 26 |
| 3 PROPOSIÇÃO | 33 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS | 34 |
| 4.1 Animais | 34 |
| 4.1.1 Grupos experimentais | 34 |
| 4.1.2 Dieta | 36 |
| 4.2 Procedimentos cirúrgicos | 38 |
| 4.2.1 Anestesia | 38 |
| 4.2.2 Ovariectomia e cirurgia Sham | 39 |
| 4.2.3 Colocação dos implantes | 40 |
| 4.2.4 Eutanásia | 44 |
| 4.2.5 Delineamento experimental | 44 |
| 4.3 Avaliação da osseointegração | 45 |
| 4.3.1 Preparo histológico | 45 |
| 4.3.2 Análise histomorfométrica | 49 |
| 4.4 Análise estatística | 51 |
| 5 RESULTADOS | 52 |
| 5.1 Contato direto osso-implante | 52 |
| 5.2 Alteração de peso dos animais | 54 |
| 5.3 Consumo de ração e líquidos | 56 |
| 5.4 Valor calórico | 59 |
| 6 DISCUSSÃO | 62 |
| 7 CONCLUSÃO | 67 |
| 8 REFERÊNCIAS | 68 |
| ANEXO A - Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa | 74 |
| ANEXO B – Alteração de título | 75 |
| ABSTRACT | 76 |

Deco CP. Influência da osteoporose e álcool na osseointegração em ratas [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”: 2009.

RESUMO

O consumo de álcool e a osteoporose, individualmente, podem afetar o metabolismo ósseo e ter influência negativa sobre tratamentos com implantes odontológicos, comprometendo sua estabilidade biomecânica. Entretanto, os efeitos da associação entre esses dois fatores na osseointegração de implantes é desconhecido. O objetivo deste trabalho foi investigar parâmetros histomorfométricos da osseointegração em ratas sob consumo de álcool associado à osteoporose. Noventa e seis ratas foram divididas conforme o tipo de dieta e quanto à presença ou ausência hormonal. Grupo G1: Sham (ovariectomia simulada), água e ração *ad libitum*; G2: Sham, ração e solução de etanol a 20% *ad libitum*; G3: Sham, ração e solução de sacarose controladas para assegurar uma dieta isocalórica à de G2; G4: ovariectomia, água e ração *ad libitum*; G5: ovariectomia, ração e solução de etanol a 20% *ad libitum*; G6: ovariectomia, ração e solução de sacarose controladas para assegurar uma dieta isocalórica à de G5. Cada grupo foi subdividido em A e B, de acordo com o tempo de osseointegração: 4 ou 6 semanas, respectivamente. Um mês após a ovariectomia ou Sham foi iniciada a dieta e um mês depois foi realizada a cirurgia para colocação dos implantes de titânio nos fêmures dos animais. Após a eutanásia, os fêmures foram avaliados por histomorfometria para quantificação da superfície de contato direto entre osso e implante. Os grupos G5 e G6 foram os que apresentaram a menor porcentagem de contato direto osso-implante quando comparados aos demais. Conclusão: A associação entre a deficiência estrogênica, provocada pela ovariectomia, e o consumo crônico de álcool pode prejudicar a osseointegração, assim como a associação entre deficiência estrogênica e redução no consumo de nutrientes.

Palavras-chave: Implante; osseointegração; etanol; osteoporose.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 01 - Loja óssea preparada, em fêmur de rata, para inserção do implante..... | 43 |
| Figura 02 - Implante posicionado em fêmur de rata..... | 43 |
| Figura 03 - Delineamento experimental..... | 44 |
| Figura 04 - Corte, sem desgaste, evidenciando posicionamento do implante em fêmur de rata..... | 48 |
| Figura 05 - Fotomicrografia de fêmur com implante osseointegrado Visão geral..... | 48 |
| Figura 06 - Fotomicrografia de implante osseointegrado em fêmur de rata..... | 50 |
| Figura 07 - Fotomicrografia de implante não-osseointegrado em fêmur de rata..... | 50 |
| Figura 08 - Gráfico representativo da porcentagem de osseointegração em cada grupo experimental..... | 52 |
| Figura 09 - Gráfico representativo da alteração de peso dos animais ao longo do experimento..... | 54 |
| Figura 10 - Gráfico representativo do ganho de peso dos animais de cada grupo experimental..... | 55 |
| Figura 11 - Gráfico representativo do consumo médio de ração por animal/dia em cada grupo experimental..... | 56 |
| Figura 12 - Gráfico representativo do consumo médio de ração por animal/dia em cada grupo experimental..... | 58 |
| Figura 13 - Gráfico representativo do valor calórico ingerido por animal/dia em cada grupo experimental..... | 59 |

LISTA DE QUADROS E TABELAS

| | | |
|-------------|--|----|
| Quadro 1 - | Divisão dos grupos experimentais..... | 35 |
| Tabela 1 - | Valores de p para porcentagem de contato direto osso-implante em cada grupo experimental..... | 53 |
| Tabela 2 - | Tabela descritiva da porcentagem de contato direto osso-implante em cada grupo experimental..... | 53 |
| Tabela 3 - | Valores de p para alteração de peso em cada grupo experimental..... | 55 |
| Tabela 4 - | Tabela descritiva da alteração de peso dos animais em cada grupo experimental..... | 56 |
| Tabela 5 - | Valores de p para consumo de ração em cada grupo experimental..... | 57 |
| Tabela 6 - | Tabela descritiva do consumo de ração (g) em cada grupo experimental..... | 57 |
| Tabela 7 - | Valores de p para consumo de líquidos em cada grupo experimental..... | 58 |
| Tabela 8 - | Tabela descritiva do consumo de líquido (mL) em cada grupo experimental..... | 59 |
| Tabela 9 - | Valores de p para calorias ingeridas através da ração em cada grupo experimental..... | 60 |
| Tabela 10 - | Valores de p para calorias ingeridas através da dieta líquida em cada grupo experimental..... | 60 |
| Tabela 11 - | Valores de p para calorias totais ingeridas em cada grupo experimental..... | 60 |

| | |
|--|----|
| Tabela 12 - Tabela descritiva de calorias ingeridas através da ração (kcal) em cada grupo experimental..... | 61 |
| Tabela 13 - Tabela descritiva de calorias ingeridas através da dieta líquida(kcal) em cada grupo experimental..... | 61 |
| Tabela 14 - Tabela descritiva do total de calorias (kcal) ingeridas em cada grupo experimental..... | 61 |

1 INTRODUÇÃO

O consumo de álcool etílico (etanol) apresenta diversos malefícios à saúde humana (Kane; Kumar, 2005) e tem sido motivo de preocupação dos agentes de saúde pública em todo o mundo.

O 1º Levantamento Nacional sobre os Padrões de Consumo de Álcool na População Brasileira (Laranjeira et al., 2007) constatou que 52% dos brasileiros podem ser considerados bebedores, sendo que 27% faz uso ocasional ou raro e 25% faz uso com frequência no mínimo semanal. Esses dados ressaltam a importância de se estudar os efeitos do álcool na população brasileira.

Além de sua atuação como depressor do sistema nervoso central, o etanol promove alterações em diversos órgãos (Flemming et al., 2003). Especificamente na região da boca, dentre outros efeitos deletérios (Souza et al., 2006 a, b), o consumo de álcool pode ter uma influência negativa sobre tratamentos com implantes, podendo comprometer a reabilitação oral do paciente (Koo et al., 2004; Galindo-Moreno et al., 2005). Isto ocorre, provavelmente, devido ao fato do seu consumo afetar o metabolismo ósseo (Sampson, 1999; Turner et al. 2001; Chakalakkal, 2005), reduzindo a taxa de formação óssea, prejudicando a proliferação osteoblástica (Chakalakkal, 2005) e aumentando a atividade osteoclástica (Koo et al., 2004).

Além do consumo crônico de álcool, há outros fatores que influenciam o processo de osseointegração. Apesar do uso de implantes dentais apresentar-se hoje como tratamento de eleição para pacientes desdentados, há restrições, como quando ocorre demasiada perda óssea alveolar (Keller et al., 2004) ou patologias do metabolismo ósseo, a exemplo da osteoporose.

A osteoporose compromete a resistência óssea (Pereira et al., 2006), podendo acometer qualquer osso, inclusive maxila e mandíbula (Marques Neto, 2005). A colocação de implantes dentários nesse caso parece possível (Davaranah et al., 2003), mas a estabilidade biomecânica dos implantes, sob estas condições, pode ser comprometida. Considerando que a osteoporose atinge mais de 50% das mulheres e 20% dos homens acima dos 50 anos de idade (Keen, 2007), faixa etária em que a utilização de implantes é alta, a utilização desse tratamento, nestas condições, precisa ser melhor estudada (Cho et al., 2004; Keller et al., 2004).

Deste modo, considerando:

- a) o elevado consumo de álcool (Laranjeira, 2007);
- b) a elevada incidência de osteoporose (Keen, 2007);
- c) a possível influência do consumo de álcool (Koo et al., 2004; Galindo-Moreno et al., 2005) e da osteoporose (Cho et al., 2004; Keller et al., 2004) na aplicação de implantes dentários para reabilitação de pacientes desdentados;
- d) a ausência de trabalhos na literatura consultada que avaliem estas duas variáveis conjuntamente em implantodontia;
- e) e a hipótese da associação entre essas duas variáveis dificultar a osseointegração.

Foi objetivo deste projeto investigar parâmetros histomorfométricos da osseointegração em ratas sob consumo de álcool e com deficiência estrogênica.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Consumo de álcool

O consumo crônico excessivo de álcool pode resultar em osteopenia e aumentar o risco de osteoporose. Esse hábito não apenas aumenta a incidência de fraturas provenientes de quedas, como atrasa a cura da fratura. A osteopenia induzida por álcool resulta principalmente da diminuição da formação óssea, ao contrário do que ocorre na osteoporose induzida por deficiência estrogênica, em que se tem principalmente um aumento da reabsorção óssea. O consumo crônico de álcool parece afetar a atividade osteoblástica, suprimindo sua diferenciação na medula óssea e promovendo adipogênese. Na cura da fratura, o efeito do álcool é suprimir a síntese de matriz óssea, possivelmente devido à inibição da proliferação e diferenciação das células mesenquimais no reparo ósseo. O reparo ósseo deficiente resulta em pouca resistência, dureza e conteúdo mineral (Chakkalakal , 2005).

Apesar dos efeitos deletérios do consumo de álcool no tecido ósseo terem sido demonstrados em diversos trabalhos científicos, a dose e a frequência capazes de desencadear esses efeitos ainda não foram estabelecidas com certeza. Em 2007, Berg et al. publicaram uma revisão sistemática da literatura na qual observaram que, quando comparados a indivíduos que não consumiam bebidas alcoólicas, aqueles que bebiam até 1 dose de bebida por dia apresentaram menor risco de fratura da bacia. Já aqueles que consumiam mais de 2 doses, por dia, tinham esse risco aumentado. Seus achados sugerem que o consumo crônico moderado de bebidas alcoólicas seria benéfico para o tecido

ósseo, enquanto o consumo crônico exacerbado é que traria malefícios. Entretanto, os autores afirmam que a literatura disponível é insuficiente para definir uma média de consumo de álcool seguramente capaz de minimizar risco de fratura óssea e maximizar densidade óssea.

Jugdaohsingh et al. (2006) também concluíram, a partir de uma revisão da literatura, que o consumo moderado de bebidas alcoólicas está associado a um aumento na densidade óssea. Os autores afirmam que os mecanismos que desencadeiam esse efeito ainda não estão claros, mas baixas doses de álcool parecem suprimir a reabsorção óssea. Os autores questionam o papel, no tecido ósseo, dos demais componentes encontrados nos diferentes tipos de bebidas alcoólicas e sugerem que mais trabalhos sejam feitos com o intuito de esclarecer essas dúvidas.

Segundo Turner et al. (2001b), a deficiência estrogênica acelera a remodelação óssea, causando um desequilíbrio que resulta em reabsorção óssea. O álcool poderia desacelerar a perda óssea devido a uma redução na remodelação óssea. Assim, pequenas quantidades de álcool poderiam ser benéficas para a saúde óssea da mulher na menopausa.

Balzan et al. (2001) concordam com os efeitos benéficos da ingestão de doses moderadas de álcool, principalmente após a menopausa. Entretanto, não indicam o uso do álcool uma vez que o risco de haver efeitos prejudiciais é mais alto que os possíveis efeitos positivos.

Experimentalmente, Sampson (1999) estudou o efeito do consumo de álcool em longo prazo. Para tanto, o autor dividiu os ratos em 3 grupos: grupo controle- de dieta livre; grupo álcool- em que 35% das calorias eram oferecidas através de solução de etanol; e grupo isocalórico- tratado com uma solução de maltodextrina para substituir as calorias do etanol. Após a eutanásia foi feita avaliação histomorfométrica das tíbias. O autor observou que, nos animais tratados com álcool, a

cortical óssea apresentava-se mais fina, podendo resultar de redução na atividade osteoblástica.

Turner et al. (2001a) avaliaram o efeito do consumo moderado de álcool em tíbias de ratas. Os animais foram divididos em grupos que tiveram ingestão calórica de 0, 3, 6, 13 e 35% de álcool. Aos 8 meses de idade, após 4 meses de tratamento, foi feita a eutanásia. Os animais que consumiram álcool a 3% apresentaram ganho de peso ao longo do experimento, enquanto os animais que consumiram álcool a 35% apresentaram perda de peso. Houve redução do número de osteoclastos no nível mais baixo de consumo (3% de álcool), mas não nos níveis mais altos. Os animais que consumiram álcool apresentaram adelgaçamento trabecular em comparação aos do grupo controle. A redução foi dose-dependente. Os autores concluíram que o consumo moderado de bebidas alcoólicas pode alterar a remodelação óssea, promovendo redução da espessura trabecular e inibindo proliferação de osteoblastos.

Hogan et al. (2001) avaliaram o efeito do álcool em ratas de 9 meses de idade após o consumo de álcool durante 8 e 14 semanas. Os animais foram divididos em: grupo álcool (que recebeu solução de etanol a 8,1%), grupo isocalórico e grupo controle. Os autores observaram que a cortical óssea da região proximal da tíbia estava mais delgada nos animais que receberam álcool, sendo que esse adelgaçamento foi mais expressivo no grupo que recebeu álcool por 14 semanas. O número e volume das trabéculas ósseas também foi menor no grupo álcool, estando também associado ao tempo de dieta. Os autores observaram também redução de 81% nas propriedades mecânicas da região distal da tíbia do grupo álcool de 14 semanas, já a região de diáfise deste osso não apresentou diferença. Os autores concluíram que o consumo de álcool leva à redução das propriedades mecânicas ósseas e também do volume e número de trabéculas, sendo que a duração da dieta tem grande importância na intensidade do efeito.

Chakkalakal et al. (2002) estudaram o efeito do consumo do álcool no reparo ósseo. Eles utilizaram ratos com idade entre 8 e 10 semanas e os dividiram em 4 grupos: grupo A - recebeu 36% das calorias em etanol; grupo B - recebeu dieta isocalórica ao A, com as calorias do álcool substituídas por maltodextrina; grupo C - foi o grupo controle; grupo D recebeu a mesma dieta de A até o momento em que foi feita a lesão e depois recebeu dieta isocalórica. Após 6 semanas do início da dieta, foi feita lesão óssea nas fíbulas dos animais. Após 7 semanas os animais foram eutanasiados. As fíbulas foram removidas e foi feita avaliação do reparo ósseo. Quando as fíbulas foram seccionadas no local da lesão, a área em que o reparo ainda não estava completo, no grupo A, foi 30% maior que no grupo B e 28% maior que no grupo D. O grupo B foi 14% menor que o grupo C. Os autores concluíram que os animais que ingeriram álcool apresentaram reparo ósseo deficiente quando comparados ao que não ingeriram.

Elmali et al. (2002) também estudaram o efeito do álcool no reparo ósseo. Eles dividiram 20 ratos machos em dois grupos: grupo que recebeu álcool a 7,2% e grupo isocalórico. A dieta foi oferecida durante 4 semanas, ao fim das quais foi feita lesão óssea na tíbia. Depois a dieta foi mantida por mais 4 semanas e então os animais foram eutanasiados, tendo a tíbia removida para avaliação. A densitometria revelou que o grupo álcool apresentou densidade óssea mineral média de $0,11 \text{ g/cm}^2$, enquanto o grupo controle apresentou $0,13 \text{ g/cm}^2$. A média de conteúdo mineral na região da fratura foi de $0,103 \text{ g/cm}^3$ no primeiro grupo e $0,128 \text{ g/cm}^3$ no segundo. As diferenças entre os grupos foram estatisticamente significativas. Os autores concluíram que os animais que consumiram álcool apresentaram um atraso no reparo ósseo devido à menor densidade óssea e menor conteúdo mineral, o que atrapalhou o processo de cura da lesão.

Rocha (2005) avaliou o efeito do álcool no fêmur de 70 ratos, divididos igualmente quanto ao gênero. Os animais foram

separados em grupos: controle; álcool (animais receberam álcool nas concentrações de 10, 20 e 30%); e isocalórico (animais receberam solução de sacarose em concentração correspondente ao valor calórico da concentração alcoólica). Após 8 semanas de dieta os animais foram eutanasiados e os fêmures avaliados. A autora observou que a espessura da cortical tanto nos machos como nas fêmeas não foi alterada; mas a porcentagem do osso trabeculado diminuiu tanto nas fêmeas ingerindo álcool a 30% como nas três concentrações alcoólicas nos machos. A densidade óptica apresentou-se reduzida nas concentrações de 30% tanto nos machos como nas fêmeas. A autora concluiu que o álcool promoveu diminuição da massa óssea e osteopenia.

Torricelli et al. (2007) avaliaram, *in vitro*, o efeito do consumo de álcool e da deficiência estrogênica na atividade dos osteoblastos. Os autores isolaram e cultivaram osteoblastos de ratos divididos em: expostos ao vapor de etanol durante 7 semanas; com deficiência estrogênica provocada por ovariectomia; e controle. Os autores observaram que a taxa de proliferação osteoblástica, assim como a capacidade sintética dos osteoblastos foram significativamente mais afetadas pelo álcool que pela deficiência estrogênica. Isso levou os autores a concluir que o hábito de consumir bebidas alcoólicas pode ser mais deletério para o osso que a deficiência de estrógeno.

Nackaerts et al. (2009) avaliaram 663 mulheres com idade entre 45 e 70 anos, com o objetivo de verificar se o consumo de álcool afetava a quantidade e qualidade óssea mandibular. As mulheres responderam a um questionário sobre seus hábitos, incluindo o consumo de bebidas alcoólicas, e se submeteram ao exame radiográfico. Foram feitas radiografias periapicais e panorâmica, através das quais os autores obtiveram a largura da cortical óssea e padrões de densidade óssea. Os autores observaram que o consumo de álcool estava relacionado tanto a redução da largura da cortical óssea quanto da densidade óssea. Mulheres da mesma idade que consumiam bebidas alcoólicas

moderadamente apresentaram espessura da cortical óssea mandibular 0,27 mm mais finas quando comparadas à mulheres que nunca tiveram o hábito de beber. Indivíduos que consumiam mais de 14 doses de bebidas alcoólicas por semana apresentavam condições ósseas piores.

O consumo de álcool influencia também a manutenção de peso. Aguiar et al. (2004) observaram a alteração de peso em animais submetidos ou não ao consumo de álcool. Os autores ofereceram água para os animais do grupo controle e álcool para os animais do grupo experimental. A concentração de álcool aumentava semanalmente, começando com 5%, e passando para 10, 20 e 40% sucessivamente. Em um primeiro momento os animais receberam ração à vontade, e em um segundo tempo a quantidade de ração ofertada passou a ser a metade da que o grupo controle consumia antes da restrição. A partir daí os animais eram pesados semanalmente. Os autores observaram que o ganho de peso dos animais só foi similar, nos dois grupos, quando o grupo álcool consumia a solução a 5%. Quanto a concentração passou a ser de 10% houve perda de peso, que foi atenuada com a mudança para concentração de 20% e relacionada a um aumento na oferta calórica através do álcool. Quando a concentração passou a ser de 40%, a perda de peso voltou a ser maior. Foi observado também que conforme aumentava a concentração de álcool, diminuía o consumo de ração. Os animais que consumiram álcool a 40% ingeriram apenas 32% da ração ingerida pelos animais do grupo controle.

Santolaria et al. (2000) avaliaram 181 homens que consumiam mais de 80 gramas de etanol por dia e compararam suas condições de saúde às de 43 homens saudáveis não-etilistas. Os autores investigaram hábitos alimentares, índice de massa corporal, massa óssea, presença de cirrose hepática, dentre outros quesitos. Os autores observaram que os homens que consumiam álcool apresentavam perda de massa óssea, mas essa perda não estava relacionada à intensidade do alcoolismo ou presença de cirrose hepática, mas sim à má-nutrição.

Os autores concluíram que a osteopenia alcoólica é uma forma de osteoporose nutricional.

Segundo Sampson (2002), etilistas severos são frequentemente mal-nutridos, e o álcool induz deficiência na produção de vitamina D, o que prejudica a saúde óssea, uma vez que prejudica a absorção de cálcio. Há ainda a redução na ingestão de proteínas que, segundo Rizzoli (2008), são fundamentais para manutenção da integridade e função óssea, e cuja redução está associada à diminuição da massa óssea.

2.2 Osseointegração e consumo de álcool

Os trabalhos que se seguem avaliaram a influência do álcool na osseointegração de implantes. Segundo Branemark (1985), osseointegração é a “inserção ou conexão aparentemente direta de tecido ósseo vital à superfície de um implante, sem tecido conjuntivo interveniente”.

Bombonato-Prado et al. (2004) avaliaram o reparo da ferida alveolar pós exodontia em ratos submetidos ou não ao consumo de álcool. O grupo álcool recebeu concentrações crescentes de álcool até chegar à 30°GL. (Gay-Lussac), começando 4 semanas antes da exodontia e mantidas por períodos que variavam de 1 hora a 6 semanas até a eutanásia. Foi realizada avaliação histológica e histomorfométrica através de microscopia eletrônica por luz e por varredura. Os autores observaram que os animais que consumiram álcool apresentaram atraso significativo no reparo das feridas, devido à menor formação óssea.

Koo et al. (2004) avaliaram a osseointegração em coelhas sob consumo de álcool. Os animais foram divididos em 3 grupos: o grupo 1 foi tratado com aguardente de cana de açúcar a 20% de etanol durante

3 semanas no pré-operatório e 8 semanas no pós-operatório da cirurgia para colocação do implante; o grupo 2 foi tratado com álcool apenas no período pós-operatório; e o grupo 3 foi o grupo controle, que recebeu água, ao invés de aguardente, em todo o período. Os animais receberam doses de um polifluorocromo no período pós-operatório e foram sacrificados 8 semanas após a colocação dos implantes. As tíbias foram preparadas sem descalcificação e avaliadas em microscópio de luz fluorescente. Os autores observaram que as áreas marcadas com os polifluorocromos e a área de contato direto osso-implante foram significativamente menores nos grupos que receberam álcool, sendo essa diferença estatisticamente significativa quando comparados ao grupo controle. O grupo controle apresentou média de 64,7% de contato direto osso-implante, o grupo que consumiu álcool somente no pós-operatório apresentou 49,2% de contato, e o grupo que consumiu álcool nos períodos pré e pós-operatório apresentou 49,5%. Os autores concluíram que o álcool promoveu menor contato osso-implante.

Galindo-Moreno et al. (2005) avaliaram, durante 3 anos, 185 pacientes, com idade entre 20 e 68 anos, de ambos os sexos, que receberam 514 implantes. O objetivo do trabalho foi verificar se havia relação entre perda óssea peri-implantar e alguns hábitos, dentre eles o consumo de álcool. A perda óssea foi avaliada através de radiografia digital panorâmica e técnica de análise de imagem. Doze por cento dos participantes faziam uso frequente de álcool. Os autores observaram que pacientes que relatavam consumir quantidade maior que 10 g diários de álcool apresentaram, neste período de 3 anos, perda de 1,49 mm de osso marginal aos implantes, valor significativamente maior que o encontrado em pacientes que não consumiam álcool: 1,28 mm.

Torricelli et al. (2008) avaliaram, *in vitro*, os efeitos do álcool em osteoblastos. Para tanto, os autores expuseram ratos ao vapor de etanol durante 7 semanas de forma intermitente e depois isolaram osteoblastos de seu osso trabecular e cultivaram *in vitro*, em titânio

comercialmente puro. Os autores observaram que os osteoblastos de animais expostos ao vapor de etanol tiveram diminuídas sua viabilidade celular e atividade sintética, quando comparados aos osteoblastos de animais do grupo controle. Os autores concluíram que o álcool reduz a capacidade dos osteoblastos de formar osso ao redor do titânio e sugerem que novas superfícies e terapias sejam desenvolvidas para uso em pacientes alcoólicos.

2.3 Osteoporose

Ao longo de toda vida, o esqueleto é remodelado continuamente através da reabsorção óssea que se dá pelos osteoclastos, e da formação óssea que se dá pelos osteoblastos. Na osteoporose há um desequilíbrio na remodelação óssea, no qual mais osso é reabsorvido do que formado. Essa condição leva à baixa massa óssea e fragilidade que predispoem o paciente a fraturas. A osteoporose pode ser primária ou secundária. A osteoporose primária pode ser do tipo 1, quando acomete principalmente osso trabecular e ocorre por um aumento na reabsorção óssea, principalmente devido à redução estrogênica, como ocorre nas mulheres pós-menopausa; e tipo 2 que acomete homens e mulheres de idade avançada e ocorre devido a uma diminuição na formação óssea, tanto de osso trabecular quanto cortical. A osteoporose secundária pode ser observada em pacientes jovens e idosos e ocorre como consequência de outras doenças (Lerner, 2006). Endocrinopatias, desordens digestivas, neoplasias, desordens genéticas e fármacos são exemplos de condições que podem levar ao seu desenvolvimento (Watts, 2004).

A deficiência de estrogênio, que ocorre em mulheres na menopausa, leva à alta taxa de remodelação óssea que causa redução

do conteúdo mineral do osso (Seeman, 2003). A prevenção da osteoporose, principalmente nestes casos, deve ser baseada em três passos: nutrição adequada; controle do ambiente, para prevenção de quedas; e bons hábitos de vida, incluindo prática de exercícios físicos e evitando hábitos como o do alcoolismo (Pereira et al., 2006).

Os mecanismos de ação do estrógeno na reabsorção óssea não estão completamente esclarecidos. Estudos mostram que o estrógeno pode inibir a formação de osteoclastos, induzir sua apoptose ou inibir proteases produzidas pelos mesmos. Qualquer uma dessas formas diminuiria a reabsorção óssea. Se o estrógeno age diretamente em osteoclastos, ou indiretamente, através de osteoblastos, ainda é controverso. Porém pode-se concluir que o estrógeno inibe a reabsorção óssea agindo em vias relacionadas a formação, atividade e sobrevivência do osteoclasto (Faloni et al., 2007).

Navarro et al. (2009) avaliaram 1139 mulheres pós-menopausa com mais de 50 anos, na Espanha, com relação à osteoporose. Elas não possuíam diagnóstico anterior de osteoporose e foram questionadas quanto à sua condição socioeconômica, além de serem avaliadas através de radiografias e densitometria óssea. Os autores observaram que 40,6% das mulheres com condição socioeconômica baixa apresentavam osteoporose e 24,7% apresentavam fratura vertebral, enquanto 35,6% das de classe socioeconômica média ou alta apresentavam a patologia e 13,4% tinham fratura vertebral. Os autores concluíram que a condição socioeconômica baixa é um fator de risco para a osteoporose.

2.4 Osseointegração e osteoporose

A osteoporose, de causa tanto pós-menopausa quanto senil, tem importantes consequências em cirurgias como as de colocação de implantes dentais. A osseointegração é mais demorada em indivíduos com osteoporose e a ocorrência de insucesso em cirurgias, tanto protéticas quanto ortopédicas reconstrutivas é maior nesses pacientes. Um dos principais fatores para sucesso da osseointegração é a obtenção de estabilidade primária. Quando esta estabilidade não é alcançada, forças podem provocar micro-movimentação no implante, estimulando a formação de tecido fibroso, ao invés de tecido ósseo. Um osso com boa qualidade é muito importante para se conseguir a estabilidade primária. Alterações na micro-estrutura óssea, como as observadas na osteoporose, podem impedir uma estabilização primária firme, tão necessária para o sucesso em longo prazo do implante (Marco et al., 2005).

Lugero et al. (2000) avaliaram a influência da osteoporose na osseointegração de implantes de titânio em coelhos. A osteoporose foi induzida por deficiência de estrogênio, provocada pela ovariectomia. Todos os animais receberam implante na tíbia, que permaneceram por 8 semanas até a eutanásia. A tíbia foi removida para ser avaliada por histomorfometria. Foi realizada densitometria óssea na tíbia e vértebras no início do experimento e 4 semanas após a ovariectomia. Os autores observaram que, nos animais com osteoporose, não houve perda de massa óssea na tíbia, mas nas vértebras a perda foi de 11%. Além disso, os animais com osteoporose apresentaram taxa de aposição mineral e volume trabecular significativamente menores que o grupo controle. A lâmina compacta óssea da tíbia foi 28% mais densa no grupo controle. Os autores concluíram que a formação óssea foi maior no grupo controle.

Becker et al. (2000) estudaram a relação entre osteoporose e a perda do implante. Os autores avaliaram 98 pacientes divididos igualmente em grupo controle e grupo osteoporose. Os indivíduos foram avaliados através de densitometria óssea (DEXA), medida nas regiões proximal e distal da ulna e rádio; classificação da quantidade e qualidade óssea no momento do implante; e questionário. Os resultados não mostraram associação entre os valores da densitometria e o risco de perda do implante. Já a quantidade e qualidade óssea locais foram fatores importantes no sucesso da implantação. Implantes colocados em locais com cortical óssea fina aumentaram em 130% a chance de perda de ao menos um implante, quando comparados a implantes colocados em região de cortical óssea mais densa ou área de osso compacto. Os autores concluíram que a avaliação visual da qualidade do osso no local do implante é melhor que a avaliação óssea por densitometria de ossos periféricos.

Friberg et al. (2001) avaliaram osseointegração de implantes dentais em pacientes com osteoporose. Foram avaliadas: radiografias pré-operatórias, história médica, resistência da mandíbula durante a perfuração óssea para colocação de implantes, e densidade óssea. Treze pacientes receberam o total de 70 implantes e foram avaliados por 3 anos e 4 meses. Os pacientes apresentavam osteoporose nas vértebras, bacia ou ambos. Apenas dois implantes foram perdidos e a taxa de sucesso, ao fim do experimento, foi de 97% para a maxila e 97,3% para mandíbula. Os autores concluíram que implantações em pacientes com osteoporose na coluna e quadril, mas com boa textura óssea local, podem ter sucesso por muitos anos.

August et al. (2001) avaliaram a influência do estrógeno na osseointegração de implantes de titânio. Os 275 pacientes avaliados foram divididos nos seguintes grupos: mulheres pós-menopausa sem reposição hormonal; mulheres pós-menopausa com reposição hormonal; mulheres pré-menopausa; homens com menos de 50 anos; e homens

com 50 anos ou mais. Os pacientes receberam o total de 652 implantes e, após 5 anos, foi avaliado o índice de perda de implantes, por grupo. Mulheres pós menopausa sem reposição hormonal tiveram o maior índice de perda de implantes maxilares (13%), mas só houve diferença estatisticamente significativa quando comparado aos grupos de mulheres pré-menopausa (6,3%) e homens com mais de 50 anos (7,6%). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quando foi considerado o índice de perda de implantes mandibulares. Os autores concluíram que a deficiência de estrógeno pode ser considerada fator de risco para implantes maxilares.

Duarte et al. (2003) avaliaram 30 ratas, com 90 dias de idade, a fim de observar o efeito da deficiência estrogênica na osseointegração de implantes de titânio. Para tanto, os autores dividiram os animais em dois grupos: ovariectomia e Sham (cirurgia sem remoção dos ovários). Vinte e um dias após a ovariectomia ou a cirurgia Sham, os animais foram submetidos à cirurgia para colocação de implantes de titânio nas tíbias. Foi aguardado um período de 60 dias após a implantação e os animais foram eutanasiados. As tíbias foram removidas e preparadas por técnica de desgaste. Os autores avaliaram a porcentagem de contato direto osso-implante e a área óssea cortical e trabecular. A porcentagem de contato direto osso-implante na cortical foi em média de 45,61% para o grupo ovariectomizado e de 50,99% para o grupo controle, não tendo havido diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Já com relação à porcentagem de contato direto com osso trabecular, a média foi de 40,28% para o grupo ovariectomizado e 51,75% para o grupo controle, sendo essa diferença estatisticamente significativa. Os autores observaram ainda que os animais com deficiência estrogênica, promovida pela ovariectomia, apresentavam osso trabecular menos denso que os animais sem essa deficiência. Duarte et al. (2003) concluíram que a deficiência estrogênica tem efeito negativo na qualidade do osso ao redor do implante, mas que isso não significa que a

terapia com implantes deva ser considerada uma contra-indicação absoluta para pacientes idosos ou mulheres pós-menopausa.

Keller et al. (2004) avaliaram osseointegração de implantes em coelhos com osteoporose induzida por injeção intramuscular diária de glicocorticóides. Os 40 animais foram divididos igualmente em: grupo controle; grupo que recebeu glicocorticóides antes da implantação; grupo que recebeu glicocorticóides simultaneamente à implantação; e grupo que recebeu depois. A porcentagem de contato direto osso-implante foi respectivamente, de 49%, 24%, 42% e 31% em cada grupo experimental. Os autores observaram que as injeções de glicocorticóides prejudicaram a osseointegração e resultaram em adelgaçamento cortical, trabéculas irregulares e prejuízo da formação e mineralização da matriz extracelular. Eles sugerem que a alteração da matriz celular, provocada por essa condição induzida de osteoporose, pode afetar, em longo prazo, a estabilidade dos implantes.

Cho et al. (2004) também estudaram a relação entre osseointegração de implantes de titânio e a osteoporose. No experimento, os autores utilizaram 35 ratas divididas igualmente em: grupo Sham seguida por colocação de implantes; grupo colocação de implantes seguido por ovariectomia; grupo ovariectomia seguida por colocação de implantes; e grupo ovariectomia realizada no mesmo tempo cirúrgico da colocação de implantes. Os implantes foram feitos nas tíbias dos animais. O tempo esperado para osseointegração foi de 12 semanas. Após a eutanásia as tíbias foram removidas, preparadas pela técnica de inclusão em resina e desgaste, e submetidas à análise histológica e histomorfométrica. Os autores observaram que somente os grupos colocação de implantes seguida de ovariectomia e colocação de implantes simultânea a ovariectomia houve diferença estatisticamente significativa com relação aos animais que somente receberam os implantes (Sham seguido de colocação de implante). Os animais que receberam ovariectomia e depois implantes apresentaram contato

semelhante estatisticamente aos animais sem ovariectomia. Os autores atribuem isso a uma possível homeostase fisiológica óssea que ocorreria após a ovariectomia, permitindo deposição óssea suficiente para a osseointegração dos implantes.

Carvalho et al. (2006) avaliaram 45 ratas com a finalidade de observar o efeito da osteoporose induzida por ovariectomia e da inalação de fumaça de cigarro na osseointegração de implantes de titânio em tíbias. Os animais foram divididos em grupos: ovariectomizados; com cirurgia Sham; e ovariectomizados com exposição à fumaça de cigarro. Os animais do terceiro grupo inalaram fumaça de cigarro durante 4 meses intermitentemente, sendo 2 meses antes da ovariectomia e 2 meses depois. Em todos os grupos, os implantes foram colocados no mesmo dia em que foi feita a ovariectomia, e 60 dias depois foi feita a eutanásia. As tíbias foram retiradas e preparadas por técnica de inclusão em resina e desgaste. Foi observada a porcentagem média de contato direto entre osso-implante no osso cortical e no osso trabecular. Os resultados para osso cortical nos grupos ovariectomizados, Sham e ovariectomizados com inalação de fumaça foram, respectivamente: 62,05%, 67,09% e 43,59%, havendo diferença estatisticamente significativa apenas entre o último grupo e os demais. Para o osso trabecular, os resultados foram respectivamente 46,47%, 58,14%, 31,01%, havendo diferença significativa entre todos os grupos. Os autores observaram que a inalação da fumaça do cigarro associada à deficiência estrogênica, exerce uma influência negativa sobre a qualidade óssea ao redor dos implantes.

Alsaadi et al. (2008) avaliaram 412 pacientes com a finalidade de observar as possíveis causas de perda de implantes após 2 anos ou mais de colocadas as próteses. Os autores coletaram dados através de questionários e os relacionaram à ocorrência ou não de perda de implantes. Um dos fatores sistêmicos avaliados, através do questionário, foi a osteoporose. Dezenove dos pacientes tinham osteoporose e receberam um total de 59 implantes. O índice de sucesso

para este grupo foi de 86,76%. Os autores observaram que, apesar do índice de sucesso não ter sido muito alto nestes pacientes, só estavam significativamente associados à perda do implante, a radioterapia e tipo de implante utilizado.

Holahan et al. (2008) estudaram se a osteoporose afeta o índice de sobrevivência de implantes dentais osseointegrados. Os autores avaliaram 192 mulheres com mais de 50 anos, que tinham colocado o total de 646 implantes. Dentre esse grupo, 57 mulheres tinham osteopenia e 41 tinham osteoporose. Após 5 anos da colocação dos implantes observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa no índice de perda de implantes. Os autores concluíram que o diagnóstico de osteoporose e de osteopenia não aumentou o risco de perda do implante.

Shibli et al. (2008) avaliaram histologicamente a superfície de 2 implantes perdidos de uma paciente com osteoporose tipo I. Os autores observaram que apenas um implante apresentava osso sadio ao seu redor e a porcentagem de contato osso-implante foi de 51,25%. Os autores concluíram que o osso peri-implantar apresentava padrões de normalidade; entretanto o sucesso dessa terapia, em longo prazo, em paciente com osteoporose requer mais investigações.

Viera-Negrón et al. (2008) fizeram um estudo cujo objetivo foi comparar a osseointegração de implantes de titânio em animais com e sem deficiência estrogênica pós-menopausa, e o efeito do bifosfonato nestes casos. Para isso, 32 ratas foram divididas em grupos: não-ovariectomizadas; ovariectomizadas; não-ovariectomizadas fazendo uso de alendronato; e ovariectomizadas com uso de alendronato. Todos os animais receberam implantes de titânio na maxila e foram radiografados 0, 7, 14 e 28 dias após a colocação dos mesmos. A eutanásia ocorreu no vigésimo oitavo dia. Os autores observaram que os grupos que fizeram uso do alendronato apresentaram densidade óssea radiográfica maior que os dos demais grupos. Já o grupo de animais ovariectomizados foi o

que apresentou pior resultado: 50% dos animais perderam os implantes nas 2 primeiras semanas e os que restaram não apresentaram características radiográficas de osseointegração. Os autores concluíram que a osseointegração foi prejudicada pela deficiência estrogênica no grupo ovariectomizado.

3 PROPOSIÇÃO

Este trabalho teve como objetivo investigar parâmetros histomorfométricos da osseointegração de implantes de titânio em ratas sob consumo de álcool e com deficiência estrogênica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Para este trabalho foram utilizadas 96 ratas (*Rattus norvegicus*, variação *albinus*, *Wistar*) com 3 meses de idade. Os animais foram fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”-UNESP. Os animais foram mantidos em temperatura ambiente e alimentados com dieta sólida e líquida controladas.

O estudo foi realizado em conformidade com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP sob protocolo nº030/2007-PA/CEP.

4.1.1 Grupos experimentais

Noventa e seis animais participaram da pesquisa, sendo que 9 foram a óbito, resultando em um n=87 ao fim do experimento. Foram perdidos 3 animais após a anestesia, 2 por fratura após perfuração do osso para colocação dos implantes e 4 por complicações da ovariectomia.

Os animais foram divididos em seis grupos conforme o tipo de dieta oferecida e quanto à presença ou ausência hormonal (Quadro 1). Depois cada grupo foi subdividido em A e B, de acordo com os diferentes tempos de eutanásia.

Quadro 1 – Divisão dos grupos experimentais

| Dieta → | Água | Etanol 20% | Isocalórica |
|------------------------------|------|------------|-------------|
| Condição hormonal ↓ | | | |
| Sham (Ovariectomia simulada) | G1 | G2 | G3 |
| Ovariectomia | G4 | G5 | G6 |

- a) Grupo 1: Grupo Sham associado à dieta livre: os animais foram submetidos à ovariectomia simulada (Sham) e receberam água e ração *ad libitum* (n final=15).
- G1A: eutanásia 4 semanas após implantes (n=8)
 - G1B: eutanásia 6 semanas após implantes (n=7);
- b) Grupo 2: Grupo Sham associado ao consumo de álcool: os animais foram submetidos à ovariectomia simulada e receberam ração e solução de etanol a 20% *ad libitum* (n final=12).
- G2A: eutanásia 4 semanas após implantes (n=6)
 - G2B: eutanásia 6 semanas após implantes (n=6);
- c) Grupo 3: Grupo Sham associado à dieta isocalórica: os animais foram submetidos à ovariectomia simulada e receberam ração e solução de sacarose controladas para assegurar dieta isocalórica ao grupo G2 (n final=15).
- G3A: eutanásia 4 semanas após implantes (n=8)
 - G3B: eutanásia 6 semanas após implantes (n=7);

- d) Grupo 4: Grupo ovariectomizado associado à dieta livre: os animais foram submetidos à ovariectomia e receberam água e ração *ad libitum* (n final=16).
- G4A: eutanásia 4 semanas após implantes (n=8)
 - G4B: eutanásia 6 semanas após implantes (n=8);
- e) Grupo 5: Grupo ovariectomizado associado ao consumo de álcool: os animais foram submetidos à ovariectomia e receberam ração e solução de etanol a 20% *ad libitum* (n final=14).
- G5A: eutanásia 4 semanas após implantes (n=7)
 - G5B: eutanásia 6 semanas após implantes (n=7);
- f) Grupo 6: Grupo ovariectomizado associado à dieta isocalórica: os animais foram submetidos à ovariectomia e receberam ração e solução de sacarose controladas para assegurar dieta isocalórica ao grupo G5 (n final=15).
- G6A: eutanásia 4 semanas após implantes (n=8)
 - G6B: eutanásia 6 semanas após implantes (n=7).

4.1.2 Dieta

A dieta sólida empregada para todos os grupos foi a ração Labina (Purina, São Paulo - Brasil). Cada animal dos grupos G2 e G5 recebeu 50 gramas de ração diariamente. O controle da dieta sólida desses grupos teve início um dia antes dos demais para que no dia seguinte fosse verificada a quantidade média de ração ingerida e essa quantidade fosse oferecida aos animais dos grupos G3 e G6. Dessa maneira foi possível oferecer as mesmas condições calóricas e

nutricionais a esses grupos. Os animais dos grupos G1 e G4 receberam dieta sólida livre.

A dieta líquida dos animais dos grupos G2 e G5 consistiu em uma solução de álcool etílico com alcooolatura de 99,5° (Ecibra, Santo Amaro - Brasil) na concentração de 20%. Inicialmente estes animais passaram por um período de adaptação de nove dias (três dias recebendo álcool a 5%, três dias a 10% e três dias a 15%). Posteriormente, foram administradas, por oito semanas, soluções preparadas diariamente na concentração alcoólica de 20%. Os animais desses grupos não recebiam água, caso contrário poderiam evitar o consumo da solução alcoólica. Cada animal desses grupos recebia 50mL da solução alcoólica diariamente.

O controle da dieta líquida dos animais dos grupos G2 e G5 também teve início um dia antes dos demais, para que no dia seguinte fosse verificada a quantidade média de solução alcoólica ingerida e essa quantidade fosse oferecida aos animais dos grupos G3 e G6. Entretanto esses últimos grupos recebiam o valor calórico do álcool através de uma solução isocalórica de sacarose P.A. (Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro - Brasil). Os animais dos grupos G3 e G6 podiam beber água à vontade. Os animais dos grupos G1 e G4 tinham como dieta líquida apenas água, que podia ser ingerida livremente.

O tempo de dieta alcoólica, de 8 a 10 semanas, foi assim definido por ter sido observado que após esse tempo de consumo, já seria possível detectar efeitos deletérios do álcool no osso (Hogan et al., 2001; Elmali et al., 2002; Bombonato-Prado et al., 2004; Koo et al., 2004; Rocha, 2005).

A concentração de álcool a 20% foi escolhida por ter-se mostrado, previamente, eficaz em proporcionar efeitos ósseos (Aguar et al., 2004; Koo et al., 2004; Rocha, 2005). O uso de animais isocalóricos foi presente em diversos trabalhos como forma de controle, através da simulação da deficiência nutricional provocada pelo consumo de álcool

(Sampson, 1999; Hogan et al., 2001; Chakkalakal et al., 2002; Elmali et al., 2002; Rocha, 2005).

No início do experimento e imediatamente antes da eutanásia todos os animais foram pesados em balança semi-analítica com a finalidade de verificar se o tratamento interferiu no desenvolvimento dos mesmos.

Diariamente foram registrados os valores médios da ração e dieta líquida consumida por gaiola. A partir desses dados, foram calculadas médias de consumo por animal para os grupos experimentais, considerando ração ingerida (g) e solução líquida (mL).

4.2 Procedimentos cirúrgicos

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em sala cuidadosamente limpa, utilizando-se álcool etílico na concentração de 70%; e com instrumentais devidamente esterilizados. O cirurgião e os auxiliares usaram aventais esterilizados em autoclave, além de materiais descartáveis como máscaras e luvas estéreis.

4.2.1 Anestesia

Para promover anestesia geral foram utilizados: solução de 13 mg/Kg de cloridrato de xilazina (Anasedan-Vetbrands, Paulínia - Brasil), substância com propriedades sedativas e analgésicas, além de relaxante muscular; e 33 mg/Kg de cloridrato de quetamina (Dopalen-Vetbrands, Paulínia - Brasil), anestésico geral. A associação destes fármacos foi administrada por via intramuscular.

4.2.2 Ovariectomia e cirurgia Sham

A ovariectomia é uma forma de indução de osteoporose utilizada por diversos pesquisadores, dentre eles Luger et al. (2000), Duarte et al. (2003), Cho et al. (2004), Carvalho (2006) e Viera-Négron et al. (2008) cujos trabalhos nos serviram como referência.

As ratas pertencentes aos grupos G4, G5 e G6 foram ovariectomizadas aos três meses de idade. Após pesagem e anestesia dos animais, foi realizada tricotomia da região abdominal lateral e antissepsia local com álcool iodado. Para iniciar a ovariectomia, foi realizada incisão longitudinal na lateral do corpo, logo abaixo da última costela, próximo à região dos rins. A incisão teve extensão aproximada de 1 cm na pele. Depois foi feita a incisão na musculatura subjacente e com uma pinça buscou-se o ovário. Após sua exposição foi realizada ligadura logo abaixo deste para promoção de hemostasia. Para isto foi utilizado fio de seda nº 4 (Ethicon/Johnson & Johnson, São José dos Campos - Brasil). Estes procedimentos foram realizados bilateralmente. Os ovários foram removidos juntamente com a gordura circundante e pequena porção do útero. Ao final dos procedimentos, as camadas musculares e a pele foram suturadas com fio de seda nº 4 e foi realizada nova antissepsia com álcool iodado na região operada.

Nos animais do grupo Sham (G1, G2 e G3) todos os procedimentos acima foram realizados para simulação do estresse cirúrgico, exceto a ligadura e remoção dos ovários. Portanto, após a exposição do ovário, os órgãos foram recolocados na cavidade abdominal.

Após o procedimento cirúrgico todos os animais receberam dose única de antibiótico benzilpenicilina benzatina, benzilpenicilina procaína, benzilpenicilina potássica, diidroestreptomicina

base sulfato e estreptomicina base sulfato em ampola de 6.000.000UI (Pentabiótico Veterinário - FortDodge, Porto Alegre - Brasil), por via intramuscular na dose de 1,35 mL/kg. Receberam também dose de 1 mg/kg de antiinflamatório (Diclofenaco sódico 75 mg, Voltaren injetável - Novartis, Rio de Janeiro - Brasil) por via intramuscular.

Em seguida os animais voltaram para as gaiolas, onde receberam a dieta correspondente ao seu grupo até o momento de colocação dos implantes.

4.2.3 Colocação dos implantes

Os animais de todos os grupos foram submetidos à cirurgia para colocação de implante osseointegrável 30 dias após realizada a cirurgia de ovariectomia ou Sham, dependendo do grupo experimental. Esse período de 30 dias após a ovariectomia para realização da cirurgia para colocação de implantes foi determinado a partir de trabalhos que mostraram que esse tempo é suficiente para causar alterações ósseas por deficiência estrogênica (Lugero et al., 2000; Duarte et al., 2003). Dessa forma, no momento da colocação dos implantes, já haveria alguma fragilidade óssea.

Utilizou-se implante confeccionado sob medida, exclusivamente para uso neste experimento. O implante foi confeccionado em liga de titânio comercialmente pura e apresentava 2 mm de diâmetro e 2 mm de comprimento, formato cilíndrico, com superfície lisa, usinada e jateada. Os implantes foram limpos por imersão em água destilada e detergente enzimático, em cuba ultrassônica, e em seguida submetidos a concentrações crescentes de álcool para desidratação. Depois foram

esterilizados em autoclave. Os implantes foram colocados em ambos os fêmures de todos os animais, na região mais distal.

Antes do procedimento cirúrgico foi realizada antissepsia e anestesia como descrito previamente. Quando necessário, no transoperatório foi utilizado também anestésico local composto por 3% de cloridrato de prilocaína com felipressina (Citanest 3% com Octapressin - Dentsply, Petrópolis - Brasil).

Após anestesia dos animais, os locais cirúrgicos dos fêmures de ambos os lados foram submetidos à tricotomia e à antissepsia com solução de álcool iodado. A incisão apresentou cerca de 2 cm de comprimento e foi realizada no sentido longitudinal do fêmur, expondo sua região distal, próxima à articulação do joelho. O tecido muscular subjacente foi divulsionado expondo o periósteo, que foi incisado com a lâmina de bisturi nº 15, resultando na exposição da cortical do fêmur.

Para a realização da perfuração óssea para o implante, foi utilizada uma broca, em formato de lança, para implante de 2.0 mm de diâmetro acoplada em peça-reta conectados em motores Driller (Dentscler MC101, Ribeirão Preto - Brasil). Esta broca teve a função de guia para a fresa helicoidal também de 2.0 mm de diâmetro (Titanium Fix, São José dos Campos, Brasil). Em cada fêmur foi realizada uma loja cirúrgica (figura1).

Para evitar o aquecimento decorrente do atrito da broca com o osso, foi mantida irrigação com soro fisiológico estéril (cloreto de sódio a 0,9%) durante todo o procedimento. Os implantes foram posicionados sob ligeira pressão até que houvesse adaptação destes à cortical óssea (figura 2).

Posteriormente à colocação dos implantes, o tecido muscular e a pele foram suturados em camadas com fio de seda nº 4 (Ethicon/Johnson & Johnson, São José dos Campos, Brasil) e novamente

foi realizada antissepsia com álcool iodado. Os animais receberam dose única de antibiótico e antiinflamatório, assim como descrito após a ovariectomia. Em seguida os animais voltaram para as gaiolas onde receberam a dieta correspondente ao seu grupo até a eutanásia, ou seja, 4 ou 6 semanas após a colocação dos implantes.

Esse período de osseointegração de 4 a 6 semanas foi assim definido por ter sido demonstrado que após esse tempo já é possível observar osseointegração de implantes em ratos (Viera-Negrón et al., 2008). A escolha de dois tempos de osseointegração visou observar se haveria inter-relação entre os fatores, estudados, o tempo e a qualidade da osseointegração.

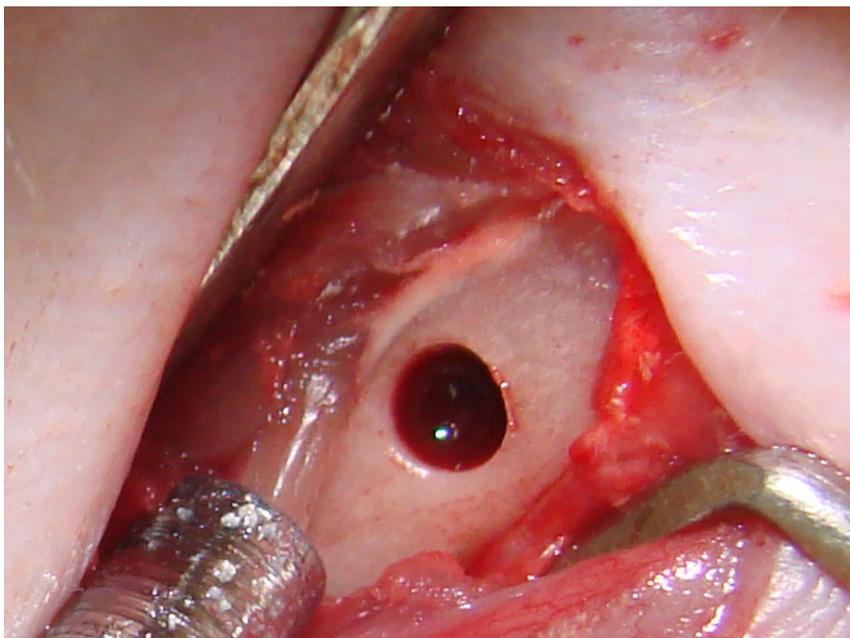


Figura 1 - Loja óssea preparada, em fêmur de rata, para inserção do implante.

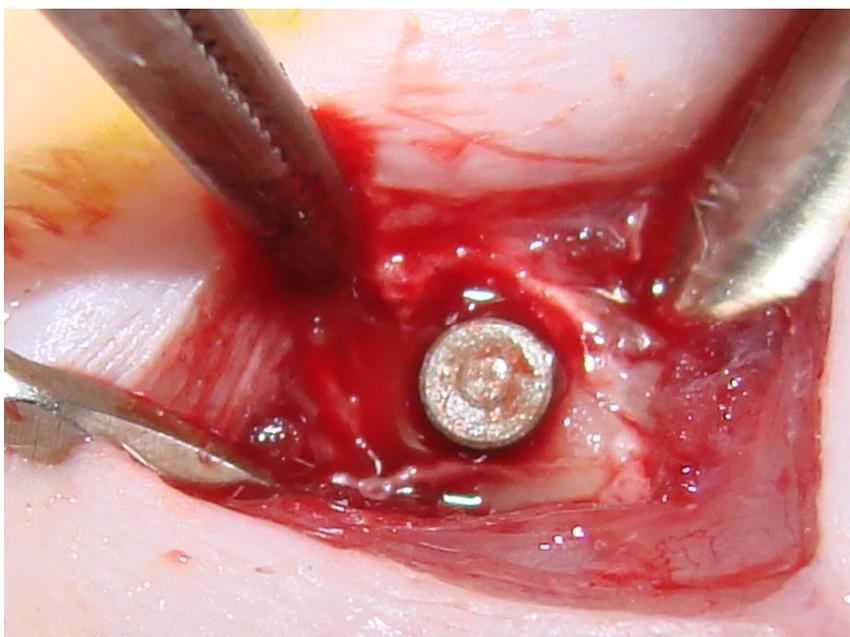


Figura 2 - Implante posicionado em fêmur de rata.

4.2.4 Eutanásia

Transcorridos 4 (para os subgrupos A) e 6 semanas (para o subgrupo B) da data de colocação dos implantes, todos os animais foram anestesiados e eutanasiados. A eutanásia foi promovida mediante ministração de dose excessiva de anestésico. Os fêmures direito e esquerdo foram removidos, dissecados e fixados em formol a 10%. O sucesso da ovariectomia foi confirmado com a observação dos cornos uterinos atrofiados no momento da eutanásia.

4.2.5 Delineamento experimental

A figura abaixo mostra como foi feito o delineamento experimental do estudo.

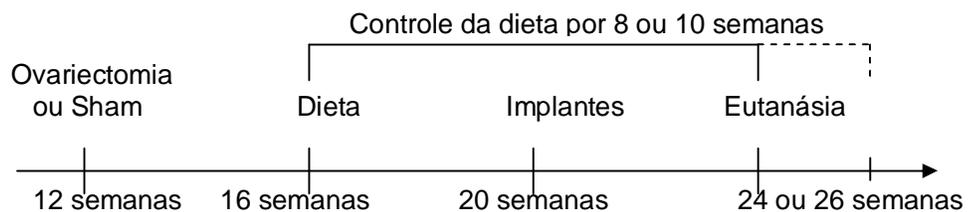


Figura 3 - Delineamento experimental

4.3 Avaliação da osseointegração

4.3.1 Preparo histológico

Para o preparo histológico foi utilizada a técnica de desgaste para tecido ósseo não descalcificado (Donath e Breuner, 1982) modificada. Inicialmente, os fêmures foram fixados em formol a 10% e após 48 horas foram segmentados de forma que se tornassem menores, facilitando as etapas posteriores. Os segmentos ósseos onde estavam os implantes voltaram para a solução de formol a 10%, onde permaneceram por mais 48 horas. Os demais segmentos foram armazenados para futuras avaliações.

Após este período os fragmentos foram lavados em água corrente por 24 horas e submetidos a concentrações crescentes de álcool de 60%, 70%, 80%, 90% e 100%, para desidratação.

Os fêmures foram mantidos em álcool absoluto por 3 dias e a seguir imersos em xilol (P.A.) por mais 3 dias para promover diafanização das peças. Após este processo as peças foram embebidas em solução resinosa de concentração crescente, para que a penetração do material fosse uniforme. Esse procedimento foi dividido em 3 fases:

- a) Fase 1: foi preparada solução de 85% de metilmetacrilato (Fluka, Buchs, Suíça) e 15% de dibutilfitalato (Fluka, Buchs, Suíça), na qual a peça permaneceu imersa por 2 dias, em temperatura ambiente;

- b) Fase 2: foi preparada a mesma solução da fase 1 acrescentando-se 1g de peróxido de benzoíla (Arkema Química, São Paulo - Brasil) , na qual a peça permaneceu imersa por 2 dias, em geladeira;
- c) Fase 3: foi preparada a mesma solução da fase 1 acrescida de 3 g de peróxido de benzoíla, na qual a peça foi incluída, tendo sido mantida em estufa a 37°C de 2 a 4 dias, tempo necessário para a polimerização da resina.

Na fase de inclusão, foram utilizados vidros preparados previamente com uma camada de aproximadamente 2 mm da mesma solução da fase 3, formando um fundo de resina que evitava que a peça tocasse o fundo do frasco. As peças foram colocadas no centro do vidro e a solução vertida vagarosamente até cobrir a fragmento do fêmur em aproximadamente 3 mm.

Todos os passos foram realizados em capela com fluxo laminar devido à alta toxicidade das substâncias utilizadas. Após a polimerização, o vidro foi quebrado e obteve-se o bloco com o espécime.

Com o bloco obtido na inclusão preparado, o próximo passo foi obter os cortes que revelariam o osso e o implante. Para isso cada bloco foi preso na morsa do aparelho de corte Labcut 1010 (Extec, Enfield - Estados Unidos) e seccionado por meio de um disco diamantado de 3 polegadas de diâmetro. Foram obtidos 2 cortes por espécime, ou seja cada fêmur resultou em 2 cortes e cada animal em 4 cortes (figura 4).

O cortes foram examinados em microscópio de luz para escolha do lado a ser analisado e a superfície deste lado foi ligeiramente lixada em polítriz Labpol 8-12 (Extec, Enfield - Estados Unidos) com lixa d'água de granulação 1200 para polimento. A seguir, os cortes foram limpos e colados com éster de cianocrilato (Super Bonder-Loctite, São Paulo - Brasil) sobre a lâmina de plexiglass. Para que a camada de cola

fosse uniforme e o menos espessa possível, foi utilizada uma prensa no momento da colagem do corte à lâmina.

Já colados nas lâminas, os cortes foram desgastados em polítriz Labpol 8-12 (Extec, Enfield, Estados Unidos), usando lixas d'água de numeração 600 e 1200, até obter cerca de 120 microns de espessura. No decorrer do desgaste, os cortes foram observados em microscópio de luz para a verificação de uma mínima espessura com o máximo de detalhes. Por fim, o material foi corado com azul de toluidina a 5% (figura 5) e observado em microscópio de luz.



Figura 4 - Corte, sem desgaste, evidenciando posicionamento do implante em fêmur de rata.



Figura 5 - Fotomicrografia de fêmur com implante osseointegrado. Visão geral. Coloração com azul de toluidina. Magnificação original: 10x.

4.3.2 Análise histomorfométrica

Para análise quantitativa do tecido ósseo neoformado foram feitas imagens através microscópio de luz Zeiss Axiophot 2 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha) com ocular de aumento de 10x e objetivas planapo de 20x, sob um foco fixo. As imagens foram digitalizadas por câmera digital acoplada ao microscópio e avaliada em um monitor de televisão.

Para padronização das imagens, estas foram captadas na interface osso-implante. As imagens foram feitas nas mesmas posições em todas as lâminas. As áreas avaliadas foram méso-cervical, méso-apical, apical-central (base do implante), disto-cervical e disto-apical dos implantes. Como cada lâmina permitia a avaliação de 5 áreas diferentes do implante e cada animal possuía 4 lâminas (2 de cada fêmur), foram avaliadas, no total, 348 lâminas ou 1740 áreas de interface osso/implante.

As imagens foram transferidas para um microcomputador para análise histomorfométrica das estruturas selecionadas. O programa de imagem utilizado foi o NIH Image-J (versão Windows 1.31). Foi feita avaliação da superfície de contato direto osso-implante, para saber se houve osseointegração (figura 6) ou não (figura 7).

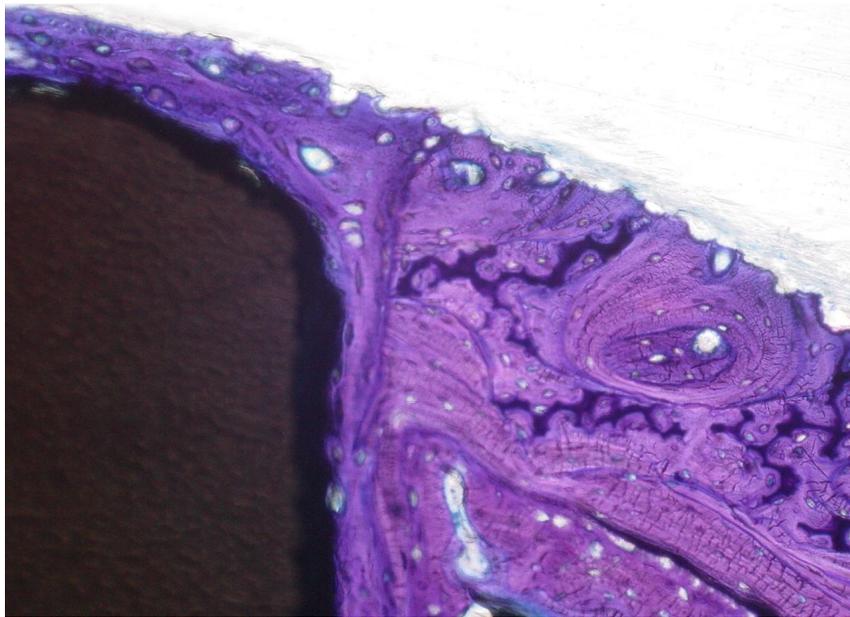


Figura 6 - Fotomicrografia de implante osseointegrado em fêmur de rata. Coloração de azul de toluidina. Magnificação original: 20x.



Figura 7 - Fotomicrografia de implante não-osseointegrado em fêmur de rata. Coloração de azul de toluidina. Magnificação original: 20x.

4.4 Análise estatística

Os resultados foram avaliados estatisticamente com um nível de significância definido de 5%. Logo, todos os intervalos de confiança, apresentados ao longo do trabalho, foram construídos com 95% de confiança estatística.

Todos os dados foram analisados inicialmente de forma descritiva. Para avaliar o efeito dos fatores principais de grupo experimental e tempo de osseointegração (eutanásia) e sua interação nos valores de porcentagem de contato direto osso-implante e alteração de peso foi utilizado o teste GLM (General Linear Models). Para estabelecer comparações entre os grupos foram utilizadas Comparações Múltiplas de Tukey. O Teste T-Student Pareado foi utilizado para comparar os resultados do peso inicial e final. A correlação entre porcentagem de contato direto osso-implante, alteração de peso, consumo de líquido e consumo de ração foi calculada através da Correlação de Pearson. Com relação ao valor calórico, foi utilizado o teste ANOVA e a Comparação Múltipla de Tukey para especificar as comparações entre os grupos. O teste de Levene foi utilizado para testar a homocedasticidade das variâncias.

5 RESULTADOS

5.1 Contato direto osso-implante

Os grupos G5 (ovariectomia associada ao consumo de álcool) e G6 (ovariectomia associada à dieta isocalórica) foram os que apresentaram a menor porcentagem de contato direto osso-implante (figura 8), portanto a pior osseointegração. Entretanto não houve diferença estatisticamente significativa entre esses grupos quando comparados entre si (tabela 1), assim como os demais grupos também não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si.

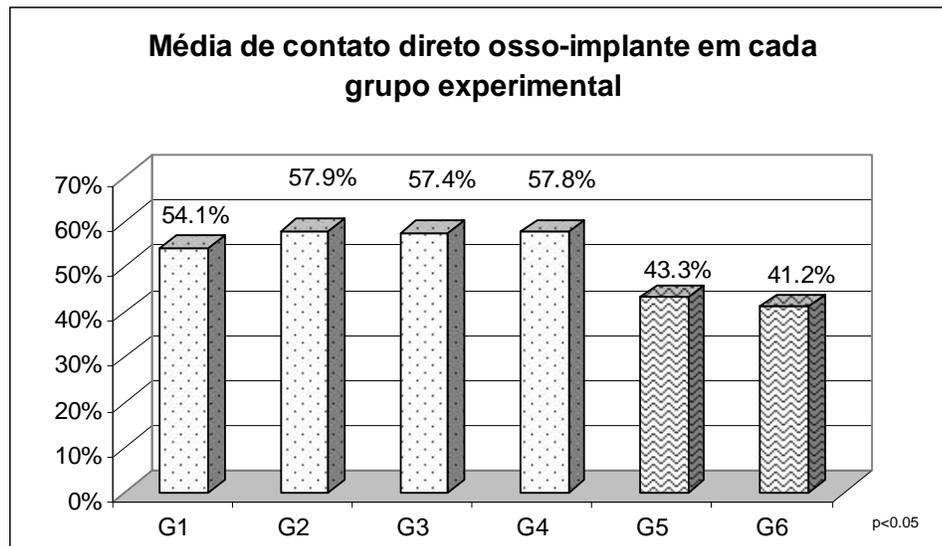


Figura 8 - Gráfico representativo da porcentagem de osseointegração em cada grupo experimental. Estampas diferentes representam valores estatisticamente diferentes.

Tabela 1 - Valores de p para porcentagem de contato direto osso-implante em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 |
|--------|---------|---------|---------|---------|-------|
| G2 | 0,751 | | | | |
| G3 | 0,834 | 1,000 | | | |
| G4 | 0,713 | 1,000 | 1,000 | | |
| G5 | 0,002* | <0,001* | <0,001* | <0,001* | |
| G6 | <0,001* | <0,001* | <0,001* | <0,001* | 0,966 |

* Diferença estatisticamente significativa

A análise descritiva da porcentagem de contato direto osso-implante em cada grupo experimental pode ser observada na tabela 2.

Tabela 2 - Tabela descritiva da porcentagem de contato direto osso-implante em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Média | 54,1% | 57,9% | 57,4% | 57,8% | 43,3% | 41,2% |
| Mediana | 55,2% | 61,1% | 61,9% | 63,4% | 42,5% | 40,4% |
| Desvio Padrão | 30,1% | 29,7% | 29,4% | 31,6% | 30,4% | 30,2% |
| 1° Quartil | 29,4% | 35,4% | 35,7% | 31,5% | 16,3% | 14,1% |
| 3° Quartil | 80,4% | 85,8% | 80,4% | 85,6% | 69,6% | 66,7% |
| Int. Confiança | 3,4% | 3,8% | 3,4% | 3,5% | 3,6% | 3,4% |

Não houve associação entre a porcentagem de contato direto osso-implante e o tempo de eutanásia ($p=0,885$).

Com relação aos grupos experimentais ($p=0,508$) e ao tempo de osseointegração/eutanásia ($p=0,688$) houve homogeneidade das variâncias.

5.2 Alteração de peso dos animais

Todos os animais, independentemente do grupo, apresentaram ganho de peso ao longo do experimento ($p < 0,001$). O peso médio geral aumentou de $277,5 \pm 3,75$ gramas para $325,8 \pm 7,46$ gramas (figura 9).

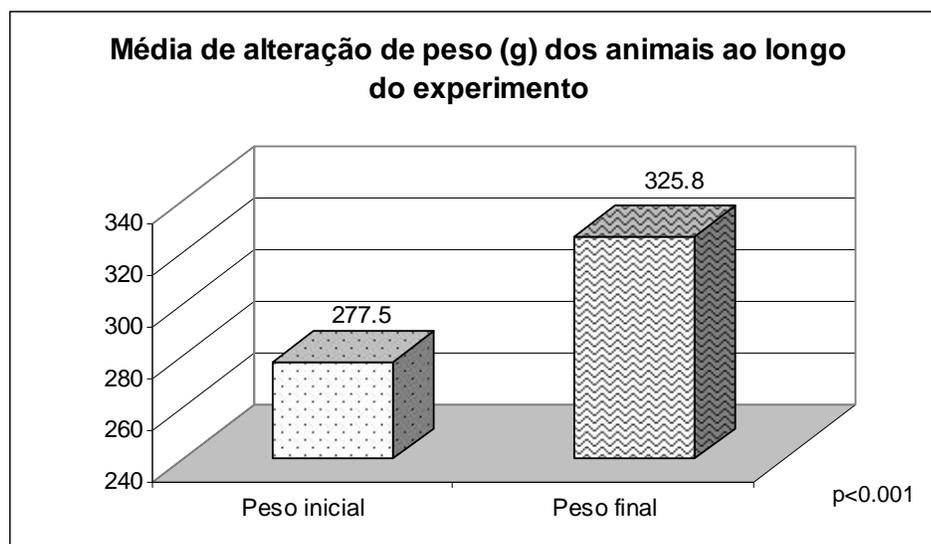


Figura 9 - Gráfico da alteração de peso dos animais ao longo do experimento. Estampas diferentes representam valores estatisticamente diferentes.

Não houve associação entre o ganho de peso dos animais e o tempo de eutanásia, ou seja 4 ou 6 semanas ($p = 0,056$).

O grupo G4 (ovariectomia associada à dieta livre) foi o que apresentou maior ganho de peso, seguido por G1 (Sham associado à dieta livre), como pode ser observado no gráfico seguinte (figura 10).

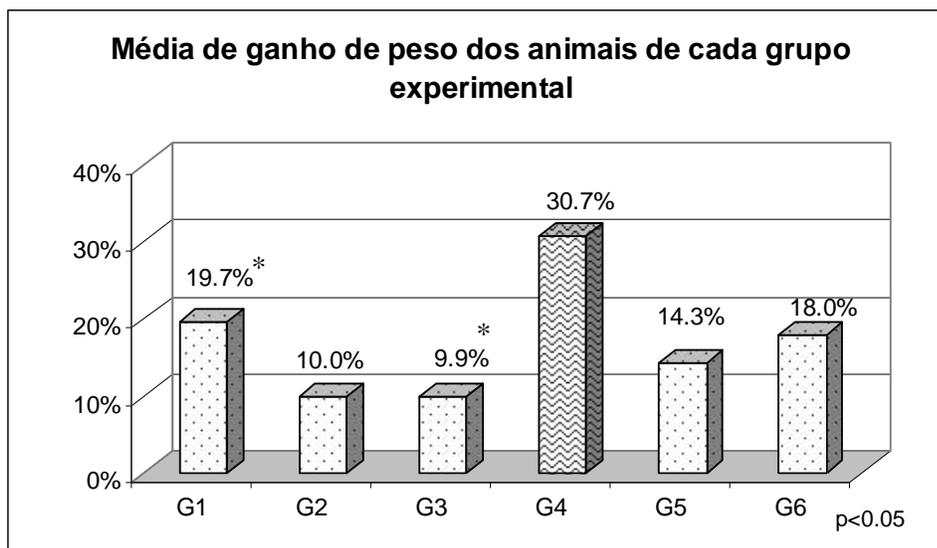


Figura 10 - Gráfico representativo do ganho de peso dos animais de cada grupo experimental. Estampas diferentes representam valores estatisticamente diferentes, exceto* G1 que é diferente de G3 ($p=0,033$).

As tabelas 3 e 4 mostram respectivamente os valores de p e os valores descritivos da alteração de peso dos animais em cada grupo experimental.

Tabela 3 - Valores de p para alteração de peso em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 |
|--------|--------|---------|---------|---------|-------|
| G2 | 0,050# | | | | |
| G3 | 0,033* | 1,000 | | | |
| G4 | 0,012* | <0,001* | <0,001* | | |
| G5 | 0,487 | 0,788 | 0,753 | <0,001* | |
| G6 | 0,997 | 0,143 | 0,107 | 0,003* | 0,785 |

* Diferença estatisticamente significativa # Diferença com tendência a ser estatisticamente significativa.

Tabela 4 - Tabela descritiva da alteração de peso dos animais em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Média | 19,7% | 10,0% | 9,9% | 30,7% | 14,3% | 18,0% |
| Mediana | 16,7% | 9,3% | 8,9% | 30,2% | 15,2% | 19,0% |
| Desvio Padrão | 8,7% | 9,4% | 5,2% | 12,9% | 5,3% | 9,9% |
| 1° Quartil | 13,6% | 3,9% | 7,1% | 20,0% | 11,1% | 13,0% |
| 3° Quartil | 22,9% | 18,2% | 13,9% | 38,4% | 16,8% | 21,3% |
| Int. Confiança | 1,0% | 1,2% | 0,6% | 1,4% | 0,6% | 1,1% |

5.3 Consumo de ração e líquidos

O grupo que mais consumiu ração também foi G4, novamente seguido por G1 (figura 11). Não houve diferença estatisticamente significativa entre esses dois grupos, mas houve diferença quando esses foram comparados a todos os demais grupos (tabela 5).

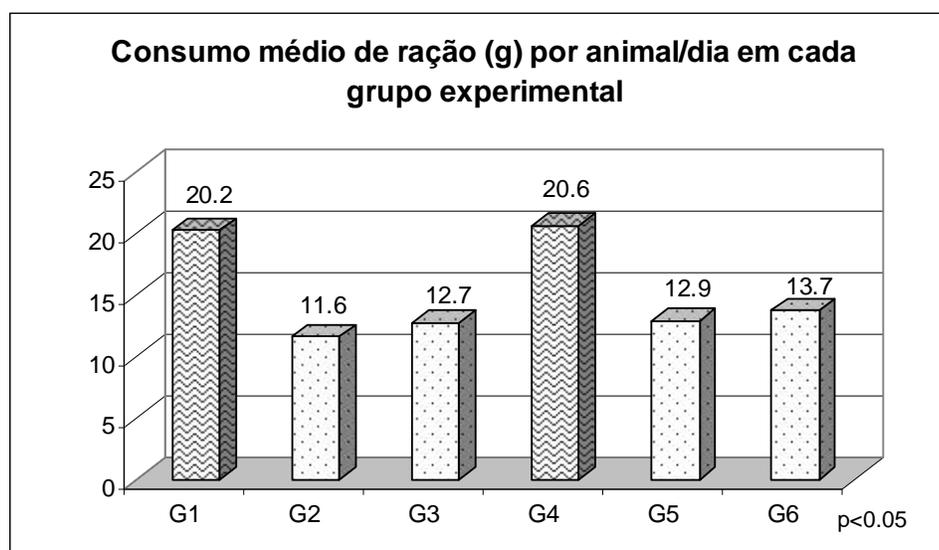


Figura 11 - Gráfico representativo do consumo médio de ração por animal/dia em cada grupo experimental. Estampas diferentes representam valores estatisticamente diferentes.

Tabela 5 - Valores de p para consumo de ração em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| G2 | <0,001* | | | | |
| G3 | <0,001* | 0,794 | | | |
| G4 | 0,994 | <0,001* | <0,001* | | |
| G5 | <0,001* | 0,630 | 1,000 | <0,001* | |
| G6 | <0,001* | 0,129 | 0,837 | <0,001* | 0,927 |

* Diferença estatisticamente significativa

A tabela 6 mostra os valores descritivos do consumo de ração em cada grupo experimental.

Tabela 6 - Tabela descritiva do consumo de ração (g) em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Média | 20,2 | 11,6 | 12,7 | 20,6 | 12,9 | 13,7 |
| Mediana | 21 | 12 | 13 | 21 | 13 | 14 |
| Desvio Padrão | 3,78 | 3,20 | 2,79 | 4,50 | 2,73 | 2,44 |
| 1° Quartil | 20 | 12 | 12 | 20 | 12 | 13 |
| 3° Quartil | 22 | 13 | 14 | 23 | 14 | 15 |
| Int. Confiança | 1,33 | 1,15 | 1,02 | 1,61 | 0,96 | 0,87 |

O grupo G4 foi o que mais ingeriu líquidos, seguido por G1 (figura 12).

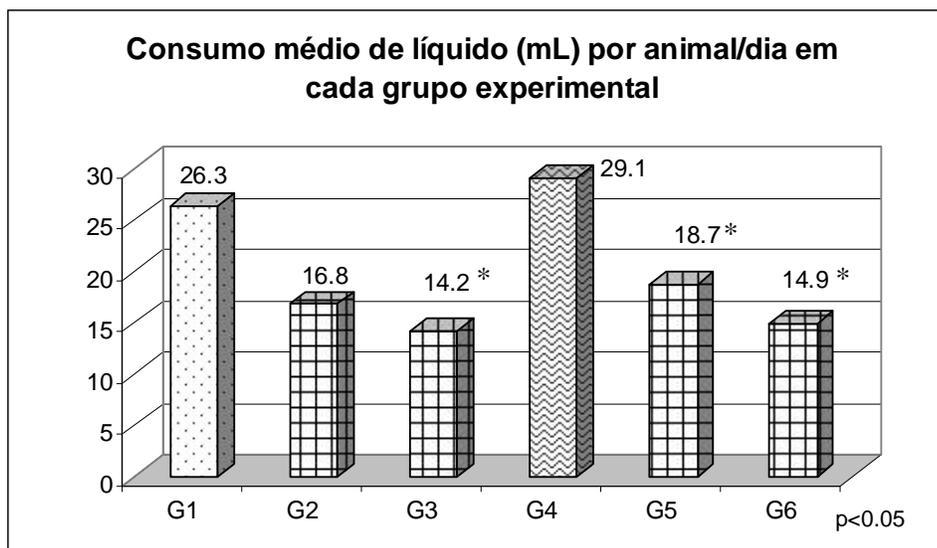


Figura 12 - Gráfico representativo do consumo médio de ração por animal/dia em cada grupo experimental. Estampas diferentes representam valores estatisticamente diferentes. *G5 é estatisticamente diferente de G3 ($p<0.001$) e de G6 ($p=0.002$).

As tabelas 7 e 8 mostram, respectivamente os valores de p e os valores descritivos do consumo de líquidos em cada grupo experimental.

Tabela 7 - Valores de p para consumo de líquidos em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 |
|-----------|---------|---------|---------|---------|--------|
| G2 | <0,001* | | | | |
| G3 | <0,001* | 0,094# | | | |
| G4 | 0,044* | <0,001* | <0,001* | | |
| G5 | <0,001* | 0,329 | <0,001* | <0,001* | |
| G6 | <0,001* | 0,419 | 0,971 | <0,001* | 0,002* |

* Diferença estatisticamente significativa # Diferença com tendência a ser estatisticamente significativa.

Tabela 8 - Tabela descritiva do consumo de líquido (mL) em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 |
|----------------|------|------|------|------|------|------|
| Média | 26,3 | 16,8 | 14,2 | 29,1 | 18,7 | 14,9 |
| Mediana | 27 | 18 | 14 | 29 | 19 | 15 |
| Desvio Padrão | 4,81 | 3,32 | 3,24 | 3,43 | 3,63 | 3,90 |
| 1° Quartil | 25 | 16 | 12 | 27 | 17 | 13 |
| 3° Quartil | 29 | 19 | 16 | 32 | 21 | 17 |
| Int. Confiança | 1,69 | 1,19 | 1,18 | 1,23 | 1,28 | 1,40 |

5.4 Valor calórico

O consumo calórico médio por animal/dia em cada grupo experimental pode ser visto na figura 13.

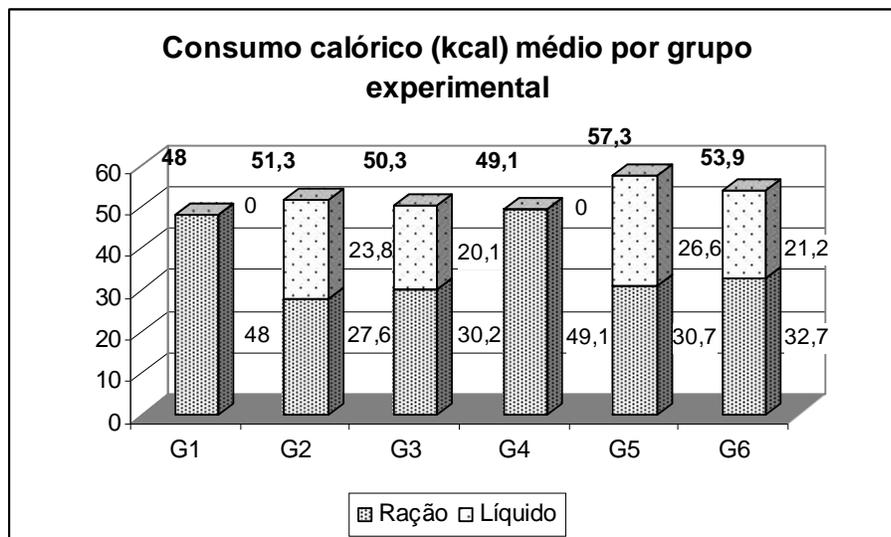


Figura 13 - Gráfico representativo do valor calórico ingerido por animal/dia em cada grupo experimental. Observe o valor calórico fornecido pela ração, pela dieta calórica e o valor calórico total.

As tabelas 9, 10 e 11 mostram, respectivamente, os valores de p para calorias ingeridas através da ração, da dieta líquida e calorias totais em cada grupo experimental.

Tabela 9 - Valores de p para calorias ingeridas através da ração em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 |
|-----------|---------|---------|---------|---------|-------|
| G2 | <0,001* | | | | |
| G3 | <0,001* | 0,795 | | | |
| G4 | 0,994 | <0,001* | <0,001* | | |
| G5 | <0,001* | 0,630 | 1,000 | <0,001* | |
| G6 | <0,001* | 0,129 | 0,837 | <0,001* | 0,927 |

* Diferença estatisticamente significativa

Tabela 10 - Valores de p para calorias ingeridas através da dieta líquida em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 |
|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| G2 | <0,001* | | | | |
| G3 | <0,001* | 0,009* | | | |
| G4 | 1,000 | <0,001* | <0,001* | | |
| G5 | <0,001* | 0,089# | <0,001* | <0,001* | |
| G6 | <0,001* | 0,142 | 0,913 | <0,001* | <0,001* |

* Diferença estatisticamente significativa # Diferença com tendência a ser estatisticamente significativa.

Tabela 11 - Valores de p para calorias totais ingeridas em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 |
|-----------|--------|-------|--------|--------|-------|
| G2 | 0,767 | | | | |
| G3 | 0,944 | 0,999 | | | |
| G4 | 0,998 | 0,951 | 0,997 | | |
| G5 | 0,003* | 0,172 | 0,069# | 0,017* | |
| G6 | 0,185 | 0,919 | 0,730 | 0,421 | 0,746 |

* Diferença estatisticamente significativa # Diferença com tendência a ser estatisticamente significativa.

As tabelas 12, 13 e 14 mostram, respectivamente, os dados descritivos sobre calorias ingeridas através da ração, da dieta líquida e calorias totais em cada grupo experimental.

Tabela 12 - Tabela descritiva de calorias ingeridas através da ração (kcal) em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Média | 48,0 | 27,6 | 30,2 | 49,1 | 30,7 | 32,7 |
| Mediana | 50 | 29 | 30 | 50 | 31 | 33 |
| Desvio Padrão | 9,0 | 7,6 | 6,6 | 10,7 | 6,5 | 5,8 |
| 1° Quartil | 47 | 28 | 27 | 48 | 29 | 30 |
| 3° Quartil | 53 | 32 | 33 | 55 | 34 | 36 |
| Int. Confiança | 3,17 | 2,73 | 2,42 | 3,83 | 2,29 | 2,08 |

Tabela 13 - Tabela descritiva de calorias ingeridas através da dieta líquida(kcal) em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Média | 0 | 23,8 | 20,1 | 0 | 26,6 | 21,2 |
| Mediana | 0 | 25 | 20 | 0 | 26 | 21 |
| Desvio Padrão | 0 | 4,7 | 4,6 | 0 | 5,1 | 5,5 |
| 1° Quartil | 0 | 23 | 18 | 0 | 24 | 18 |
| 3° Quartil | 0 | 26 | 23 | 0 | 30 | 24 |
| Int. Confiança | -x- | 1,69 | 1,67 | -x- | 1,81 | 1,98 |

Tabela 14 - Tabela descritiva do total de calorias (kcal) ingeridas em cada grupo experimental

| Grupos | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Média | 48,0 | 51,3 | 50,3 | 49,1 | 57,3 | 53,9 |
| Mediana | 50 | 55 | 48 | 50 | 59 | 55 |
| Desvio Padrão | 9,0 | 11,6 | 8,4 | 10,7 | 9,5 | 8,9 |
| 1° Quartil | 47 | 50 | 45 | 48 | 55 | 51 |
| 3° Quartil | 53 | 58 | 53 | 55 | 62 | 58 |
| Int. Confiança | 3,17 | 4,14 | 3,06 | 3,83 | 3,35 | 3,20 |

6 DISCUSSÃO

Nossos resultados sugerem que a osseointegração de implantes de titânio pode ser prejudicada pela associação entre redução estrogênica e consumo de álcool, confirmando a hipótese do experimento. Em nossa busca, não encontramos, na literatura, trabalhos experimentais que testassem o efeito da interação desses dois fatores na osseointegração de implantes. Portanto iremos discutir separadamente a influência do álcool e depois da deficiência estrogênica na osseointegração.

Nossos resultados sobre osseointegração e consumo de álcool podem ser comparados aos de Koo et al. (2004). Ao avaliarem a osseointegração de implantes de titânio em animais submetidos ao consumo crônico de álcool, os autores observaram que o grupo que consumiu álcool apresentou menor porcentagem de contato direto osso-implante, quando comparado ao controle. Esse resultado se contrapõe ao encontrado no presente trabalho, em que não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo que fez consumo de álcool (G2), o controle (G1) e o isocalórico (G3). Isso pode ter sido ocasionado por pequenas diferenças na metodologia empregada. Koo et al. (2004) trabalharam com implantes rosqueáveis em tíbias de coelhas, enquanto nós trabalhamos com implantes lisos em fêmures de ratas. Mas talvez o fator de maior relevância seja o período de consumo de álcool. Os animais do experimento de Koo et al. (2004) consumiram álcool por 2 ou 4 semanas além do período que nossos animais consumiram. Embora não tenhamos encontrado diferenças na osseointegração de nossos ratos após 4 ou 6 semanas de consumo de álcool pós-operatório, talvez essas 2 ou 4 semanas a mais causassem diferença. Estudos com períodos

prolongados de consumo de álcool devem ser realizados para que possamos esclarecer esses resultados.

Nossos resultados sobre osteoporose e osseointegração podem ser comparados aos de Duarte et al. (2003). Os autores também promoveram deficiência estrogênica através da ovariectomia de ratas e depois utilizaram implantes de titânio para observar a osseointegração. Seus resultados estão de acordo com os encontrados na presente pesquisa. Embora os autores tenham encontrado médias de porcentagem de contato ligeiramente inferiores às encontradas aqui, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, quando se trata de porcentagem média de contato direto osso-implante, considerando osso cortical.

Cho et al. (2004) também avaliaram o efeito da redução estrogênica, provocada por ovariectomia, na osseointegração de implantes de titânio e apresentam resultados que concordam com os apresentados por Duarte et al. (2003) e pelo presente trabalho. Embora os valores de porcentagem de contato direto osso-implante encontrados tenham sido maiores que os encontrados por nós e por Duarte et al. (2003), Cho et al. (2004) também não encontraram diferença estatisticamente significativa entre esses grupos.

Carvalho et al. (2006) também obtiveram resultados concordantes com os nossos. A porcentagem média de contato direto osso cortical-implante nos grupos controle e ovariectomia não mostrou diferença estatisticamente significativa, quando observado osso cortical. Apesar de concordantes, os valores de osseointegração foram maiores que os encontrados no presente trabalho.

Keller et al. (2004) encontraram resultados que divergem dos de Duarte et al. (2003), Cho et al. (2004), Carvalho et al. (2006) e dos nossos. Ao contrário dos últimos, Keller et al. (2004) encontraram diferença estatisticamente significativa ao comparar a osseointegração do grupo controle aos grupos de animais com condição de osteoporose

induzida. Essa diferença pode ser devida à diferente metodologia empregada para indução de osteoporose. Enquanto no presente trabalho, e nos demais supracitados, a osteoporose foi induzida mediante redução estrogênica, provocada por ovariectomia, no trabalho de Keller et al. (2004) a osteoporose foi induzida através de injeções intramusculares diárias de glicocorticóides. O fato da metodologia empregada por Keller et al. (2004) induzir à osteoporose por via diferente da redução de estrógeno pode ter sido a razão pela qual o resultado encontrado foi diferente dos demais. As vias por meio das quais a redução estrogênica e o uso de glicocorticóides induzem perda óssea são complexas e sua compreensão ainda não é completa. Entretanto, a diminuição na formação óssea é maior com os glicocorticóides, do que com redução estrogênica. Os efeitos ósseos dos glicocorticóides são rápidos (Kanis et al., 2007) e talvez sejam mais rápidos que os promovidos pela redução hormonal.

Os resultados ambíguos encontrados tanto em pesquisas sobre osteoporose, realizadas em animais quanto em casos clínicos com humanos, não permitem uma conclusão segura e consensual com relação à sua influência sobre tratamentos com implantes. Essa é a razão pela qual a osteoporose é considerada fator de risco, mas não fator impeditivo a esse tipo de tratamento.

Quando consideramos a interação entre osteoporose e consumo de álcool, Balzan et al. (2001), Turner (2001a) e Berg et al. (2007) consideram que a associação de ambos pode ter efeito positivo sobre o metabolismo ósseo. Segundo os autores, a deficiência estrogênica aumenta a reabsorção óssea porque acelera a remodelação óssea e o álcool, por reduzir a remodelação óssea, provocaria uma desaceleração na perda óssea ocasionada pela redução hormonal. O consumo de álcool exerceria um fator positivo para o metabolismo ósseo. Nossos resultados mostraram que, ao menos no que concerne à osseointegração não houve melhora, pelo contrário, uma vez que o grupo que associou uso de álcool à ovariectomia (G5) foi o que apresentou pior

condição de osseointegração. Entretanto, não há certeza sobre qual seria a dose capaz de promover esse efeito benéfico. Mais trabalhos devem ser feitos a fim de se verificar se há efeito positivo do consumo de álcool sobre o metabolismo ósseo em condições de redução estrogênica e em que dose. Jugdaohsingh et al. (2006) questiona se esse efeito não seria promovido por outros componentes encontrados nas bebidas e não ao álcool.

Além do grupo G5 (ovariectomia associada ao consumo de álcool), G6 (ovariectomia associada à dieta isocalórica) também apresentou a osseointegração comprometida, quando comparado aos demais grupos. Embora esse grupo não tenha feito ingestão de álcool, ele tem em comum com o primeiro o fato de ambos serem ovariectomizados e terem apresentado redução no consumo de ração. Isso nos leva a concluir que a associação entre redução estrogênica e deficiência nutricional, pelo consumo reduzido de ração, pode trazer prejuízos ao metabolismo ósseo e não o consumo de álcool *per se*.

A deficiência nutricional associada ao consumo de álcool já foi relatada por diversos autores como Santolaria et al. (2000) e Sampson (2002). A redução na alimentação, devido ao etilismo, faz com que proteínas, vitaminas e minerais, essenciais a uma boa saúde óssea, deixem de ser ingeridos (Rizzoli, 2008; Morgan, 2008) e piora a qualidade óssea.

Assim como no presente trabalho, Aguiar et al. (2004) também observaram que os animais submetidos ao consumo de solução alcoólica tiveram menor ingestão de ração quando comparados aos animais do grupo controle e atribuíram esse fato a um efeito anoréxico do etanol. Todavia, Aguiar et al. (2004) observaram perda de peso nos animais que consumiram álcool, ao contrário do que foi observado no presente estudo. Isso pode ser devido ao fato de que os animais de Aguiar et al. (2004) recebiam quantidade restrita de ração, enquanto os nossos receberam ração *ad libitum*. Devemos lembrar que

mesmo recebendo ração *ad libitum*, os animais que consumiram álcool, comeram menor quantidade de ração que os demais, porque o álcool supria parte de suas necessidades energéticas.

Assim, como no presente trabalho, Chakkalakal et al. (2002) e Carvalho et al. (2006) também observaram, em suas pesquisas, que todos os animais, inclusive os que consumiram álcool, apresentaram ganho de peso. Esses resultados também são concordantes com os de Elmali et al. (2002), que observaram que, assim como no presente trabalho, tanto os animais que consumiam álcool, quanto os isocalóricos apresentaram aumento de peso e não houve diferença estatisticamente significativa entre eles.

O número de animais por gaiola pode ter sido uma limitação do trabalho. Devido à ausência de espaço físico para abrigar gaiolas individuais, foram mantidos até 5 animais por gaiola. Essa condição deve ser ressaltada, uma vez que se trata de um trabalho que envolve dieta e nesse caso não foi possível estabelecer a dieta individual, mas somente por grupo. Contudo, esse quesito, embora importante, não parece ter influenciado sobremaneira os resultados já que todos os animais se alimentaram satisfatoriamente e ganharam peso.

7 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada neste estudo, a associação entre a deficiência estrogênica, provocada pela ovariectomia, e o consumo crônico de álcool prejudicaram a osseointegração, assim como a associação entre redução estrogênica e consumo reduzido de nutrientes.

8 REFERÊNCIAS

Aguiar AS, Da-Silva VA, Boaventura GT. Can calories from ethanol contribute to body weight preservation by malnourished rats? *Braz J Med Bio Res.* 2004;37:841-6.

Alsaadi G, Quirynen M, Komárek A, Van Steenberghe D. Impact of local and systemic factors on the incidence of late oral implant loss. *Clin Oral Implants Res.* 2008 Jul;19(7):670-6.

August M, Chung K, Chang Y, Glowacki J. Influence of estrogen status on endosseous implant osseointegration. *J Oral Maxillofac Surg.* 2001;59:1285-9.

Balzan SMP, Medeiros LR, Pionner SR, Maffazzioli L, Zylberstein. Osteoporose e álcool. *J Bras Med.* 2001;80(4),60-4.

Becker W, Hujuel PP, Becker BE, Willingham H. Osteoporosis and implant failure: an exploratory case-control study. *J Periodontol.* 2000;71(4):625-31.

Berg KM, Kunins HV, Jackson JL, Nahvi S, Chaudhry A, Harris KA et al. Association between alcohol consumption and both osteoporotic fracture and bone density. *Am J Med.* 2008;121:406-18.

Bombonato-Prado KF, Brentegani LG, Thomazini JA, Lachat JJ, Carvalho TL. Alcohol intake and osseointegration around implants: a histometric and scanning electron microscopy study. *Implant Dent.* 2004 Sep;13(3):238-44.

*Baseado em:

Internacional Comité of Medical Journal Editors. Bibliographic Services Division. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: simple referentes [homepage na Internet]. Bethesda: US Nacional Library; c2003 [disponibilidade em 2006 fev; citado em 20 mar.]. Disponivel em : http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. Tissue integrated prostheses: Osseointegration in clinical dentistry. Berlim: Quintessence; 1985.

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

Chakkalakal DA, Novak JR, Fritz ED, Mollner TJ, McVicker DL, Lybarger DL et al. Chronic ethanol consumption results in deficient bone repair in rats. *Alcohol Alcohol*. 2002;37(1):13-20.

Chakkalakal DA. Alcohol-induced bone loss and deficient bone repair. *Alcohol Clin Exp Res*. 2005;29(12):2077-90.

Cho P, Schneider GB, Krizan K, Keller JC. Examination of the bone-implant interface in experimentally induced osteoporotic bone. *Implant Dent*. 2004;13(1):79-87.

Davarpanah M, Martinez H, Kebir M, Tecucianu JF. Manual de implantodontia clínica. Porto Alegre: Artmed; 2003.

Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. *J Oral Pathol* 1982;11:318-26.

Duarte PM, César Neto JB, Gonçalves PF, Sallum EA, Nociti FH. Estrogen deficiency affects bone healing around titanium implants: a histometric study in rats. *Implant Dent*. 2003;12(4):340-6.

Elmali N, Ertem K, Ozen S, Inan M, Baysal T, Güner G et al. Fracture healing and bone mass in rats fed on liquid diet containing ethanol. *Alcohol Clin Exp Res*. 2002;26(4):509-13.

Faloni APS, Cerri PS. Mecanismos celulares e moleculares do estrogênio na reabsorção óssea. *Rev Odont UNESP*. 2007;36(2):181-8.

Fleming M, Mihic SJ, Harris RA. Etanol. In: Lazo J.S.; Parker K.L.Goodman, A.G. As bases farmacológicas da terapêutica. 10. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 2003. p.325-37.

Friberg B, Ekestubbe A, Melistrom D, Sennerby L. Branemark implants and osteoporosis: a clinical exploratory study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2001;3(1):50-6.

Galindo-Moreno P, Fauri M, Ávila-Ortiz G, Fernández-Barbero JE, Cabrera-Léon A, Sánchez-Fernández E. Influence of alcohol and tobacco habits on peri-implant marginal bone loss: a prospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2005;16(5):579-86.

Hogan HA, Argueta F, Moe L, Nguyen LP, Sampson HW. Adult-onset alcohol consumption induces osteopenia in female rats. *Alcohol Clin Exp Res.* 2001May;25(5):746-54.

Holahan CM, Kennel KA, Weaver AL, Assad DA, RegennitterFJ, Kademani D. Effect os osteoporotic status on the survival of titanium dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008Sep-Oct;23(5):905-10.

Jugdaohsingh R, O'Connell MA, Sripanyakorn S, Powell JJ. Moderate alcohol consumption and increased bone mineral density: potential ethanol and non-ethanol mechanisms. *Proc Nutr Soc.* 2006; 65, 291-310.

Kane AB, Kumar V. Patologia nutricional e ambiental. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editors. *Patologia: bases patológicas das doenças.* Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p.152-83.

Kanis JA, Stevenson M, McCloskey EV, Davis S, Lloyd-Jones M. Glucocorticoid-induced osteoporosis: a systematic review and cost-utility analysis. *Health Technol Assess.* 2007;11(7):1-231.

Keen, R. Osteoporosis: strategies for prevention and management. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2007;21(1):109-22.

Keller JC, Stewart M, Roehm M, Schneider GB. Osteoporosis-like bone conditions affect osseointegration of implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004;19(5):687-94.

Koo S, König Júnior B, Mizusaki CI, Allegrini Júnior S, Yoshimoto M, Carbonari MJ. Effects of alcohol consumption on osseointegration of titanium implants in rabbits. *Implant Dent*. 2004;13(3):232-7.

Laranjeira R, Pinsky I, Zaleski M, Caetano R. I Levantamento nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira. Brasília: Secretaria Nacional Antidrogas, 2007.

Lerner UH. Bone Remodeling in Post-menopausal Osteoporosis. *J Dent Res*. 2006;85(7):584-95.

Lugero GG, De Falco Caparbo V, Guzzo ML, König Júnior B, Jorgetti V. Histomorphometric evaluation of titanium implants in osteoporotic rabbits. *Implant Dent*. 2000;9(4):303-9.

Marco F, Milena F, Gianluca G, Vittoria O. Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis. *Micron*. 2005;36(7-8):630-44.

Marques Neto JF. Epidemia da osteoporose no Brasil. *Rev Nutrição em Pauta*. 2001 dez.

Morgan KT. Nutritional determinants of bone health. *J Nutr Elder*. 2008;27(1-2):3-27.

Nackaerts O, Horner K, Jacobs R, Karayianni K, Mitsea A, Berkas L et al. Is self-reported alcohol consumption associated with osteoporotic mandibular bone loss in women? *Eur J Oral Sci*. 2009 Feb;117(1):7-12.

Navarro MC, Sosa M, Saavedra P, Lainez P, Marrero M, Torres M et al. Poverty is a risk factor for osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2009 Mar;20(3):393-8.

Pereira SRM, Mendonça LMC. Osteoporose e Osteomalácia. In: Freitas EV, Py L, Cançado FAX, Doll J. Tratado de geriatria e gerontologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p.798-841.

Rizzoli R. Nutrition: its role in bone health. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2008 Oct;22(5):813-29.

Rocha RF. Influência do consumo de álcool no fêmur de ratos machos e fêmeas [tese de livre docência]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2005.

Sampson HW. Effect of alcohol consumption on adult and aged bone: a histomorphometric study of the rat animal model. *Alcohol Clin Exp Res.* 1999;23(8):1416-7.

Sampson HW. Alcohol and other factors affecting osteoporosis risk in women. *Alcohol Res Health.* 2002; 26(4):292-8.

Santolaria F, González-Reimers E, Pérez-Manzano JL, Milena A, Gómez-Rodríguez MA, González-Díaz A et al. Osteopenia assessed by body composition analysis is related to malnutrition in alcoholic patients. *Alcohol.* 2000;22:147-57.

Seeman E. Reduced bone formation and increased bone resorption: rational targets for the treatment of osteoporosis. *Osteopor Int.* 2003;14(3):S2-S8.

Souza DM, Kantorsky KZ, Rocha RF, Carvalho, YR. Avaliação do efeito da dieta alcoólica sobre a morfometria das glândulas submandibulares de *rattus norvegicus*. *Rev Odonto.* 2006;14(27/28):129-35.

Souza DM, Ricardo LH, Prado MA, Prado FA, Rocha RF. The effect of alcohol consumption on periodontal bone support in experimental periodontitis in rats. *J Appl Oral Sci.* 2006;14(6):443-7.

Shibli JA, Aguiar KC, Melo L, Ferrari DS, D'Avila S, Iezzi G et al. Histologic analysis of human peri-implant bone in type 1 osteoporosis. *J Oral Implantol.* 2008;34(1):12-6.

Torricelli P, Fini M, Giavaresi G, Borsari V, Rimondini L, Rimondini R, et al. Intermittent exposure to ethanol vapor affects osteoblast behaviour more severely than estrogen deficiency does In vitro study on rat osteoblasts. *Toxicol.* 2007;237:168-76.

Torricelli P, Fini M, Giavaresi G, Rimondini L, Tschon M, Rimondini R et al. Chronic alcohol abuse and endosseous implants: Linkage of in vitro osteoblast dysfunction to titanium osseointegration rate. *Toxicol.* 2008;243:138-44.

Turner RT, Kidder LS, Kennedy A, Evans GL, Sibonga JD. Moderate alcohol consumption suppresses bone turnover in adult female rats. *J Bone Miner Res.* 2001;16(3):589-94.

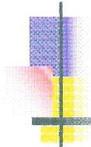
Turner RT, Sibonga JD. Effects of alcohol use and estrogen on bone. *Alcohol Res Health.* 2001;25(4):276-81.

Viera-Negrón YE, Ruan WH, Winger JN, Hou X, Sharawy MM, Borke JL. Effect of ovariectomy and alendronate on implant osseointegration in rat maxillary bone. *J Oral Implantol.* 2008;34(2):76-82.

Watts NB. Diagnosis and evaluation of patients with osteoporosis. *South Med J.* 2004;97(6):540-1.

ANEXO A - Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa

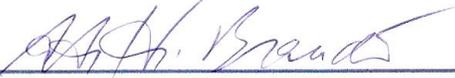
 **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
Av. Eng. Francisco José Longo, 777 – Jd. São Dimas
CEP 12201-970 – F. (12) 3947-9028 / 9037
Fax (12) 3947-9010 / aigotti@fosjc.uncsp.br / Guedes@fosjc.uncsp.br



CERTIFICADO
Comitê de Ética em Pesquisa
Envolvendo Animais

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº **030/2007-PA/CEP**, sobre **“Avaliação da influência da osteoporose e da ingestão de álcool na reparação óssea e osseointegração de implantes em ratos**, sob responsabilidade de **CAMILA PORTO DE DECCO**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 14 de agosto de 2007.



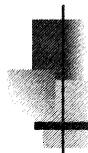
Prof. Dra. ADRIANA AIGOTTI HABERBECK BRANDÃO
Coordenadora do CEP/ANIMAIS/FOSJC

ANEXO B – Alteração de título



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Av. Eng. Francisco José Longo, 777 – São Dimas – CEP 12201-970 – F. (12) 3947-9000 – FAX (12) 3947-9028 -



Comitê de Ética em Pesquisa
Envolvendo Animais

São José dos Campos, 11 de maio de 2009

Ofício nº 07/09-CEP

| | |
|---|---|
| Prezado(a) Sr.(a) | CAMILA PORTO DE DECO |
| Projeto | Avaliação da influência da osteoporose e da ingestão de álcool na reparação óssea e osseointegração de implantes em ratos |
| PARECER | |
| <p>Por solicitação da Pesquisadora, foi aprovada a emenda ao projeto acima mencionado, com referência a ALTERAÇÃO DO TÍTULO DO PROJETO, passando para “ Influência da osteoporose e álcool na osseointegração de implantes em ratas”. Convalidando dessa forma o Protocolo nº 030/2007-PA/CEP de 14/08/2007.</p> | |

Atenciosamente,

Prof. Titular YASMIN RODARTE CARVALHO

Coordenadora

Deco CP. Influence of osteoporosis and alcohol in osseointegration in rats [dissertation]. São José dos Campos: School of Dentistry of São José dos Campos, UNESP – São Paulo State University; 2009.

ABSTRACT

Alcohol intake and osteoporosis can, separately, affect bone physiology and have presented negative impacts on dental implant therapy. However, the effects of the association of both factors in the osseointegration are unknown. The aim of this study was evaluate osseointegration in rats alcohol fed and presenting induced osteoporosis. Methodology: Ninety-six female rats were divided according to diet and hormonal condition. Group G1: Sham (simulated ovariectomy), food and water ad libitum; G2: Sham, food and ethanol 20% solution ad libitum; G3: Sham, food and sucrose solution controlled to warranty an isocaloric diet in relation to G2; G4 ovariectomy, food and water ad libitum; G5 ovariectomy, food and ethanol 20% solution ad libitum; G6: ovariectomy, food and sucrose solution controlled to warranty an isocaloric diet to G5. The groups were subdivided according to time of osseointegration 4 or 6 weeks. Implants surgery was done one month after ovariectomy or Sham. After euthanasia, the femurs were removed and evaluated by histomorfometry. Results: Groups G5 and G6 showed the worse osseointegration condition. Conclusion: The association between estrogen deficiency and alcohol intake and the association between estrogen deficiency and reduced intake of nutrients can negatively affect osseointegration.

Keywords: Implant; osseointegration; ethanol; osteoporosis.