



**MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**RICARDO JULIO CABRALES SALGADO**

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO ALENDRONATO NAS  
PROPRIEDADES BIOMECÂNICAS DO TECIDO ÓSSEO  
MANDIBULAR EM MULHERES NA FASE DE PÓS  
MENOPAUSA.**

**Guarulhos**

**2017**

**RICARDO JULIO CABRALES SALGADO**

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO ALENDRONATO NAS  
PROPRIEDADES BIOMECÂNICAS DO TECIDO ÓSSEO  
MANDIBULAR EM MULHERES NA FASE DE PÓS  
MENOPAUSA.**

Dissertação apresentada à UNG Universidade para a  
obtenção do título de Mestre em Odontologia.

**Área de Concentração:** Implantodontia

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gabriela Giro

**Co-orientador:** Prof. Dr. José Augusto Rodrigues

**Guarulhos**

**2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas Fernando Gay da Fonseca**

S164a

Salgado, Ricardo Julio Cabrales

Avaliação da influência do alendronato nas propriedades biomecânicas do tecido ósseo mandibular em mulheres na fase de pós-menopausa. / Ricardo Julio Cabrales Salgado. -- 2017.

41 f.; 31 cm.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gabriela Giro

Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Centro de Pós-Graduação e Pesquisa e Extensão, Universidade Guarulhos, Guarulhos, SP, 2017.

1. Implante dental, 2. Alendronato 3. Osteoporose 4. Osteopenia 5. Menopausa 6. Nanodureza 7. Teste mecânico 8. Módulo de elasticidade I. Título II. Rodrigues, José Augusto (Orientador). III. Universidade Guarulhos

CDD. 617.6

Dedico esta tese a minha amada e querida Família.

A minha amada esposa Kelli Cristina Machi e a meus filhos Ricardo e Gael  
Por ser meu apoio, Você é a mulher que me completa, conhecê-la foi uma das  
melhores coisas que aconteceu em minha vida, sempre me dando tranquilidade e  
muita alegria. Obrigado pelos conselhos, pela paciência e compreensão e, acima de  
tudo, pelo amor. Você é parte essencial da minha vida ao igual que meus filhos.

Por isso os amo e admiro.

Obrigado

A minha querida mãe Blida

Amo você por todos os sacrifícios e por dedicar todo seu tempo à minha educação e  
à dos meus irmãos; agradeço todo o esforço e amor, sempre preocupada com  
minha saúde e bem-estar, fazendo-me sentir amado e, apesar da distância nunca  
me faltou seu amor. Por isso, sempre tive força e coragem para continuar por 6 anos  
com tanta saudade, que às vezes incontida. Sair de casa me fez entender o  
significado de ser um filho e de valorizá-la ainda mais como mãe.  
Obrigado por seu amor e por me ajudar a realizar meus sonhos.

A meu querido pai Romualdo.

Dedico esta tese pelo amor que sempre dedicou a sua família; para mim sempre  
será um homem perfeito e meu modelo a imitar, sempre humilde e de coração puro.  
Amo tudo o que você faz, tudo o que é. Sem seu apoio jamais haveria alcançado  
minhas metas. Obrigado por me ensinar a superar meus erros.  
Amo muito você.

A meus amados irmãos Rolando e Blida Isabel.

apoiando em todos os momentos de minha vida. Obrigado pelo amor, carinho e  
compreensão.

A minha querida tia Enith

Por ser grande exemplo de vida, por me ajudar sempre que precisei e por quem  
tenho profundo carinho, respeito e eterno amor.

Vocês e Deus são tudo o que me fortalece; sem sua ajuda nunca teria podido concretizar este grande sonho.  
Amare a todos eternamente.

Muito Obrigado

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS,

Agradeço por minha família, por minha existência e pelo aprendizado de vida, por colocar em meu caminho grandes amigos e oportunidades, por ser minha companhia nos momentos de solidão, desespero e incerteza e por me dar esperança e tranquilidade.

A minha orientadora Professora Doutora Gabriela Giro. Obrigado por me ensinar e por me dar a oportunidade de aprender com você. Como amiga, sempre me ajudou em todos os momentos que precisei; agradeço pelos bons conselhos, pelo carinho e pela amizade todo este tempo.

Ao Professor Doutor José Augusto Rodrigues pela orientação, contribuição e pelas sugestões dadas para este trabalho; pelo exemplo de dedicação como professor e pesquisador. Deixo expressa minha admiração por sua pessoa.

Aos meus colegas da Pós-graduação

Aos Professores da Pós-Graduação em Odontologia da UNG Universidade, área de concentração em Implantodontia, Prof. Dr. Jamil Awad Shibli, Profa. Dra. Alessandra Cassoni Ferreira e Prof. dr. Marcelo de Faveri. Agradeço por todos os ensinamentos que me fizeram crescer como profissional.

A todas as pessoas que colaboraram de forma direta ou indireta, nesse trabalho.

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades mecânicas de fragmentos histológicos de tecido ósseo mandibular de mulheres na fase pós-menopausa. Trinta pacientes foram selecionados para este estudo e divididos em 3 grupos: G1- 10 pacientes saudáveis (controle), G2 - 10 pacientes com osteopenia, G3 - 10 pacientes com osteoporose tratados com alendronato. As amostras de osso foram removidas no momento da cirurgia de instalação de implantes na mandíbula com ajuda de uma trefina e fixadas em formol a 4%. Após o processamento histológico com ajuda de um microscópio ótico foram identificadas e selecionados os 6 pontos de indentação determinados na superfície óssea. A nanodureza e módulo de elasticidade foram avaliadas utilizando-se um penetrador com geometria Berkovich, com raio de aproximadamente 50 nm, módulo elástico de  $1.016 \times 10^6$  Mpa e coeficiente de Poisson de 0.3, com carga de 100mN. Cada ciclo com um intervalo de tempo de 18s para carga e 18s para a descarga e 5s de estática na indentação (profundidade de 10  $\mu$ m), com velocidade de 1mN/s. Os dados foram avaliados por meio do teste de Kruskal-Wallis. Os maiores valores de nanodureza e de módulo de elasticidade foram observados em pacientes dos grupos controle e osteopenia (sem diferença estatística entre eles). Porém, o grupo osteoporose apresentou menores valores para ambas avaliações, com diferença estatística com relação aos demais grupos do estudo ( $p > 0,05$ ). Apesar das limitações desse estudo, podemos concluir que o tratamento com alendronato influencia negativamente na nanodureza e no módulo de elasticidade do tecido ósseo mandibular em mulheres na fase pós menopausa.

**Palavras-chave:** Implante dental; Alendronato; Osteoporose; Osteopenia; Menopausa; Nanodureza; Teste mecânico; Módulo de elasticidade.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the mechanical properties of histological fragments of mandibular bone tissue in postmenopausal women. Thirty patients were selected for this study and divided into three groups: G1 - 10 healthy patients (control), G2 - 10 osteopenia patients, G3 - 10 osteoporosis patients treated with alendronate. As bone samples were removed at the time of implant surgery of the mandible with the help of a trephine and fixed in 4% formalin. After the histological processing with the aid of an optical microscope, 6 indentation points were identified and selected by a water surface. The nanohardness and the modulus of elasticity were evaluated using a Berkovich geometry penetrator, with approximately 50 nm, elastic modulus of  $1.016 \times 10^6$  Mpa and Poisson coefficient of 0.3, with load of 100mN. Each cycle with a range of 18s for load and 18s for a discharge and 5s of static in the depth of 10  $\mu$ m, with the speed of 1mN / s. Data were evaluated using the Kruskal-Wallis test. The highest values for nanohardness and modulus of elasticity were observed in control groups and osteopenia. However, the osteoporosis group presented lower values for both parameters, with statistical significant difference in relation to the other study groups ( $p > 0.05$ ). Despite the limitations of the study, it can be concluded that the treatment with alendronate negatively influencing the nanohardness and the modulus of elasticity of the mandibular bone in postmenopausal women.

**Key words:** Dental implant; Alendronate; Osteoporosis; Osteopenia; Menopause; Nanohardness; Mechanical test; Modulus of elasticity.



## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2. PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>3. ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>	<b>20</b>
<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>33</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>40</b>

## 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O osso é um tecido conjuntivo mineralizado composto principalmente de colágeno tipo I, e a organização e conformação dessas fibras determina a sua dureza e resistência (Nyman et al., 2006, Ritchie, 2009). O osso é a estrutura de carga do corpo (Ritchie, 2009), e, portanto, é necessário não apenas investigar sua composição, mas também suas propriedades mecânicas. A estrutura hierárquica do osso consiste em fibras de colágeno mineralizadas (~ 10 µm), formando padrões de fibra (~ 50 µm) cujos limites criam interfaces lamelares. Além disso, no osso cortical, as lamelas concêntricas formam os ósteons (sistema de Harvers) de aproximadamente 100 µm (Ritchie, 2009). Além disso, o tecido ósseo sofre um processo contínuo de remodelação para se adaptar à demanda do organismo por meio de um delicado equilíbrio entre reabsorção e formação, que é realizado pelos osteoclastos e osteoblastos, (Hesse et al., 2014). Na idade adulta, as alterações hormonais durante o processo de envelhecimento tornam o processo de reabsorção aumentado (Rodan, Martin, 2000). Com isso, doenças ligadas ao processo de homeostase óssea são muito comuns após os 50 anos de idade. A osteopenia e osteoporose são doenças características do processo de envelhecimento, onde o desequilíbrio da remodelação óssea gera a diminuição da densidade mineral óssea e alteração de sua microarquitetura, tornando o osso mais susceptível a fraturas (Rachner et al., 2011).

### **Microestrutura óssea**

Os dois principais tipos de tecido ósseo são o trabecular, uma estrutura de aspecto esponjoso; e o cortical, mais sólido e formado por lamelas ósseas. Além das diferenças estruturais, os dois tipos diferem também quanto a outros aspectos como a distribuição espacial das células, densidade da matriz mineralizada, distribuição dos vasos sanguíneos e área ocupada pela medula óssea. Em ambos, os osteoblastos e osteoclastos movem-se sobre a superfície, sendo que os osteoblastos podem tornar-se embebidos na matriz, dando origem aos osteócitos. Em função de sua maior superfície em relação ao volume, o osso trabecular é metabolicamente mais ativo que o cortical.

O entendimento do osso trabecular como material de engenharia (compósito e poroso) possibilita uma análise das propriedades físicas, químicas, mecânicas e

estruturais deste tecido biológico, contribuindo na avaliação da qualidade óssea em função da microarquitetura e massa óssea (Torres-del-Pliego et al., 2013). Sendo este, um dos materiais mais complexo encontrados na natureza. Segundo Cowin (2001), a resistência mecânica do osso obedece às leis que regem o remodelamento ósseo, conhecido como Lei de Wolff's, similar entre qualquer corpo elástico e materiais de engenharia, dependente apenas da organização da estrutura, fração de volume, densidade relativa e composição (Liu et al., 2008).

O que permite classificar o osso trabecular no formato placa e/ou haste (Hulme et al., 2007), como material compósito, viscoelástico, heterogêneo, ortotrópico e anisotrópico (Cauley et al., 2010; Hayashi et al., 2011), formado por uma matriz classificada em diferentes níveis de organização e composição: de natureza orgânica, essencialmente colágeno tipo I, inorgânico, constituída por cristais de hidroxiapatita (HA) e água, dentro de uma complexa macro e microarquitetura. Juntas proporcionam rigidez e força, com certo grau de elasticidade e plasticidade (Turner, 2006; Chappard et al., 2011).

Avaliação da qualidade da microarquitetura óssea trabecular é um desafio. Rollo et al. (2015) avaliaram e caracterizaram a estrutura cristalina da matriz inorgânica de ossos secos trabeculares de vértebras de colunas de cadáveres humanos normais, osteopênicos e osteoporóticos por microscopia ótica, microscopia eletrônica de varredura e espectrometria de energia dispersiva e difratometria de raios-X, utilizando o método de refinamento de Rietveld, balizando os resultados com os valores de microdureza. Os resultados mostraram uma diminuição dos valores de tamanho do cristalito (de 670 para 213 nanômetros), microdureza (de 30,27 para 21,22 knoop), proporção de cálcio e fósforo (de 2,02 para 1,73), número de trabéculas e densidade óssea e um aumento nos valores de microdeformação (de 5,4 para 16,8). Com estes resultados os autores concluíram que uma maior desorganização e fragilidade na estrutura cristalina da hidroxiapatita em ossos osteopênicos, sendo ainda maior ossos osteoporóticos em relação aos normais. A caracterização microestrutural dos cristais de hidroxiapatita em ossos secos trabeculares permitiu diferenciar os três tipos de ossos (normal, osteopênico e osteoporótico) e complementar a avaliação da osteoporose, com ênfase na qualidade óssea.

A biomecânica óssea é afetada pela interação da água com proteínas colágenas e minerais (Wang et al. 2001), ocorrendo no nível nano/microestrutural. A água contribui para menor rigidez, módulo elástico, dureza e maior tensão recuperável do deslizamento (Sedlin, 1966). Num estudo anterior de ressonância magnética nuclear (RMN), verificou-se que a água tinha um efeito plastificante sobre as fibrilas de colágeno, perturbando parcialmente a ordem conformacional e influenciando as propriedades mecânicas dos tecidos mineralizados.

A resistência óssea reflete principalmente, a integração da densidade mineral óssea (DMO) e qualidade óssea da microarquitetura (Bouxsein, Seeman, 2009; Link, 2012; Fonseca et al., 2014). A DMO é expressa em gramas do mineral por área ou volume, determinado pelo pico e/ou quantidade de perda de massa óssea de qualquer indivíduo. No entanto, por si só não explica a variação da resistência óssea, risco a fratura e monitorar a resposta de tratamentos (Genant et al., 2008). A qualidade óssea da microarquitetura (histomorfometria trabecular e cortical) refere-se a geometria (forma e tamanho), remodelamento, mineralização (organização e composição), acúmulo de microdanos (microfraturas), capacidade de reparo e organização das fibras de colágeno (Saito, Marumo, 2010).

Avaliação da “qualidade” da microarquitetura óssea trabecular é um desafio. No entanto, a criação de indicadores baseados em parâmetros histomorfométricos analisados pela técnica da microtomografia de raios-X (Kim, 2014), validados por correlações das propriedades físicas e mecânicas da microarquitetura, determinados pelos ensaios destrutivos de compressão axial (Le Corroller et al., 2013) e nanoindentação (Landaue et al., 2014) possibilitam compreender a qualidade da microarquitetura óssea trabecular (metabolicamente mais ativo) e qual sua influência na resistência, risco da fratura óssea e monitoramento do tratamento da osteoporose na prática clínica (Roux et al., 2013; Chen; Kubo, 2014).

O conhecimento dos mecanismos de falha óssea, particularmente nos níveis ultraestruturais, contribui para análise da qualidade dos tecidos. O carregamento mecânico repetitivo pode gerar danos no nível ultraestrutural, sendo a forma mais prevalente e discreta de micro trincas na matriz extracelulares óssea, facilmente visíveis sob microscopia óptica (Rubin et al., 2003).

Os primeiros estudos das propriedades físicas (elasticidade) e mecânicas (dureza) em regiões pontuais da matriz óssea foram realizados nanoindentação para medir o módulo de Young e a dureza de trabéculas individuais, ósteons individuais, e lamelas intersticiais. A identificação das propriedades dos ossos é importante na avaliação das propriedades física, mecânicas e grau de anisotropia da trabécula, em função do remodelamento ósseo por cargas, bem como impactos artificiais sofridos (Jiroušek, 2012; Landauer et al., 2013).

A nanoindentação é uma técnica experimental precisa, que permite ensaiar amostras utilizando penetradores de geometria conhecida, sob condições controladas de carga, tempo e profundidade de penetração em um ciclo de carregamento e descarregamento, utilizando o método desenvolvido por Oliver e Pharr (1992). Este método determina individualmente as propriedades físicas e mecânicas de trabéculas ósseas (módulo elástico –  $E$  e nanodureza –  $H$ , respectivamente) (Xu et al., 2003; Fratzl-Zelman et al., 2009; Sun et al., 2009). As propriedades mecânicas das amostras são obtidas levando em consideração a interação entre a geometria do penetrador (ponta de diamante) e o material estudado, através do ciclo completo da curva de carga-descarga típica de um material elasto-plástico. A curva típica de nanoindentação é constituída por uma fase em que a ponta do indentador é pressionada para dentro do material até atingir a deformação induzida durante a carga, mantida por um período de detecção do equipamento (Simões et al., 2002). Nessa profundidade ocorre deformação elástica e plástica que não podem ser distinguidas. Faz uma impressão da forma do penetrador na amostra. Quando o penetrador é retirado, à carga é liberada, somente a porção elástica do deslocamento é recuperada. A figura 1, apresenta uma imagem de microscopia ótica assim como um modelo da ponta Berkovich.

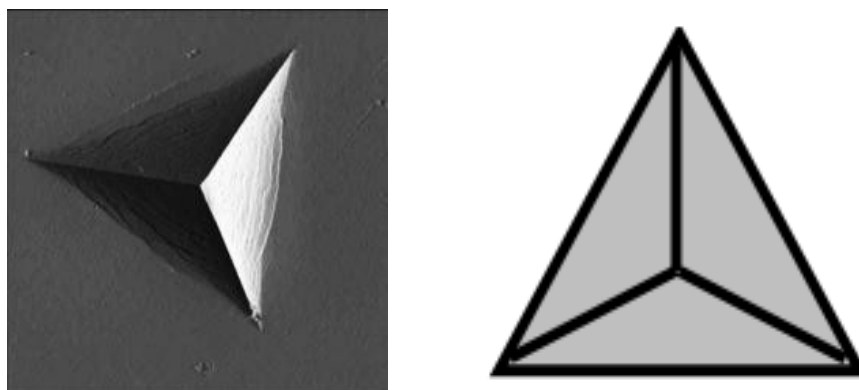


Figura 1. (A) microscopia ótica da endentação, (B) modelo da ponta Berkovich.

Esse tipo de ponta é largamente empregada nas medidas de nanoindentação, difere das convencionais por ter uma geometria piramidal de três lados e ângulo das faces de  $65.35^\circ$ . Devido à configuração geométrica da ponta, a impressão residual deixada na superfície do material assemelha-se a um triângulo equilátero (Bueno, 2002).

A resistência mecânica à penetração do indentador de um determinado material está relacionada com a sua dureza, verificado pela deformação plástica permanente do material penetrado (razão entre a carga máxima aplicada e área de contato). Quanto menor à deformação plástica permanente, maior o valor da dureza (ISO 14577, 2002).

O módulo elástico efetivo leva em conta o fato que os deslocamentos elásticos ocorrem em ambos materiais, com módulos elásticos e coeficientes de Poisson da amostra e indentador. A precisão dos valores de nanodureza e módulo elásticos são dependentes da exatidão dos parâmetros medidos experimentalmente e da profundidade de penetração residual após o penetrador ser totalmente descarregado (Oliver; Pharr, 2004).

Diversos autores têm estudado as diferenças microestruturais do tecido ósseo utilizando a nanoindentação (Oliver; Pharr, 2004; Rollo et al., 2015). Porém, não existem estudos na literatura, até o presente momento, que estude as diferenças nanoestruturais do osso mandibular em mulheres na fase pós menopausa, com o intuito de se estabelecer seu padrão de resposta às cargas

mastigatórias e suas possíveis implicações em um tratamento utilizando-se próteses implantossuportadas.

### **Osteoporose e osteopenia**

A Osteoporose é uma doença sistêmica que acomete, principalmente, mulheres no período pós menopausa, causada pelo desequilíbrio dos processos de formação e reabsorção óssea devido à perda de função ovariana, levando a uma acelerada perda de massa óssea, culminando em sua deterioração microarquitetural (Consensus Development Conference on Osteoporosis, 1993). A deficiência de estrogênio aumenta o *turnover* ósseo, fazendo com que a reabsorção exceda a formação óssea, provocando a diminuição da absorção de minerais e de cálcio. Sendo assim, a prevalência da osteoporose é cerca de 3x maior em mulheres e a perda óssea gira em torno de 30 a 50% do osso trabecular e 25 a 35% da massa óssea cortical (Morse et al., 1994). Estima-se que a osteoporose e osteopenia seriam uma grande ameaça para a saúde pública, uma vez que estima-se que mais de 200 milhões de pessoas sofrem desta doença em todo o mundo (Khoury, 1998). Nos Estados Unidos a estimativa é de que 44 milhões de mulheres e homens, com idade igual ou superior aos 50 anos apresentam risco de fratura aumentada em 40%, principalmente em vértebras lombares, quadril e pulso, devido à osteoporose (Rachner et al., 2011).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define osteoporose com base na densidade mineral óssea (DMO). A DMO pode ser avaliada pelo exame de absorciometria por duplo feixe de raios-x (DXA) que pode constatar se um paciente apresenta alterações de DMO (Rachner et al., 2011). Sua diminuição da média geral da população é encarada com um fator de risco para o aumento da propensão de fraturas por fragilidade (NIH Consensus Development Panel On Osteoporosis Prevention Diagnosis, and Therapy, 2001). Um escore T de DMO é considerado dentro da normalidade, quando se apresenta até 1 ponto abaixo do desvio padrão médio estipulado para a uma população saudável entre 20 a 40 anos de idade (escore DMO > -1), conforme o termo usado pela OMS. Para o diagnóstico de osteoporose (OP), o paciente deve ter uma pontuação de DMO 2,5 pontos de desvios-padrão abaixo da média (escore de DMO < -2,5). Se o escore DMO estiver entre -2,5 e -1, o diagnóstico é de osteopenia (Goddard et al., 1998; Green et al.,

2004). Portanto, a mensuração da DXA é considerada o método mais adequado para o diagnóstico de alterações ósseas (como osteoporose e osteopenia) devido a sua alta precisão, estabelecendo, conseqüentemente, o risco de fratura óssea, uma vez que mostra o grau de comprometimento estrutural ósseo (Kim, 2014).

As características clínicas que acompanham a perda progressiva de massa óssea, como por exemplo as alterações morfológicas, deterioração da microarquitetura, afinamento de trabéculas, aumento da porosidade e trincas, perda de conectividade, redução do número de trabéculas, degradação das fibras de colágeno, resulta na diminuição da resistência mecânica do tecido ósseo (NOF, 2014). Estes fatores causam maior fragilidade óssea e um risco aumentado de fraturas, principalmente em ossos trabeculares das regiões como colo do fêmur e vértebras (Wong, Mcgirt, 2013; Kanterewicz et al., 2014).

A patogênese da osteoporose tem sido ligada as reações teciduais, em níveis moleculares e celulares. As atividades realizadas pelos osteoclastos e osteoblastos são orquestradas pelos osteócitos, que as células mais abundantes do tecido ósseo e que são responsáveis pela formação da rede de matriz mineralizada (Bonewald, 2011), Além disto, existe um consenso de que os osteócitos desempenham um papel importante na tradução de estímulos mecânicos em sinais bioquímicos (Knothe Tate et al., 2004). Por isto, os osteócitos são considerados células mecanossensitivas, sendo responsáveis por ativar outras células ósseas para iniciar a atividade de remodelação em resposta a estímulos mecânicos (Cowin et al., 1991; Lanyon, 1993; Aarden et al., 1996; Knothe Tate et al., 2004), desempenhando assim, um papel chave na regulação da remodelação óssea (Mullender et al., 1995; Bakker et al., 2004).

### **Tratamentos para osteoporose**

Existem diferentes tratamentos para a osteoporose, todos destinados a aumentar a densidade mineral óssea e com isso, reduzir o risco a fraturas. O estrógeno é utilizado como tratamento para reposição hormonal em mulheres na fase pós-menopausa. Além disso, outras substâncias também são amplamente utilizadas na prática clínica, na busca da prevenção e tratamento da perda de massa óssea. Entre eles podemos citar os moduladores seletivos dos receptores de estrogênio (especialmente raloxifeno), calcitonina, uma forma recombinante de



paratormônio (teripeptídeo), ranelato de estrôncio e, especialmente, os bifosfonato (Laroche, 2008).

Fleisch et al. (1968) foram um dos primeiros autores a citar o bifosfonato como uma alternativa às terapias de substituição de hormônios para o tratamento da osteoporose. Eles são análogos não metabolizados de pirofosfato, um grupo de fármacos que inibe a reabsorção óssea (Lieberman et al., 1995; Dillon et al., 2008). Os bifosfonatos agem sobre os osteoclastos, por meio da inibição de sua atividade e proliferação e indução da apoptose (Dillon et al., 2008) e com isso, este fármaco tem a capacidade de reduzir significativamente o risco de fratura (Lieberman et al., 1995; Dhillon et al., 2008).

Os bifosfonatos podem apresentar-se ligados a molécula de nitrogênio (bifosfonato nitrogenados), aumentando assim a sua potência anti-reabsortiva. Sua via de administração pode ser via oral (alendronato), utilizados para o tratamento da osteoporose, doença de Paget e da osteogênese imperfeita (Wang et al., 2007); ou intravenosa, utilizados para reduzir a dor óssea, hipercalemia maligna, complicações ósseas sofridas por pacientes com doença de Paget ou mieloma e para o tratamento de metástase óssea derivada a partir de várias neoplasias.

### **Osteoporose e implantes dentários**

O papel da osteoporose no sucesso dos implantes dentários ainda continua bastante controverso. Sob a prerrogativa de que a terapia de implante dentário tem sido um procedimento de rotina para a reabilitação de pacientes edêntulos nos últimos 10 anos, milhões de mulheres com mais de 45 anos irão apresentar implantes em função durante o desenvolvimento da osteoporose. Dadas as mudanças na microarquitetura óssea que acompanham a perda de DMO, alguns autores sugeriram a osteoporose como um indicador de risco para o sucesso da terapia com implantes dentários (Yamaguchi et al., 2003), afetando, assim, as taxas de previsibilidade esperadas para as reabilitações implanto suportadas (Van Steenberghe et al., 2003).

Apesar de estudos em animais mostrarem que a privação de estrogênio exerce uma influência negativa sobre o tecido ósseo ao redor dos implantes (Duarte et al., 2003; Giro et al., 2007), o diagnóstico de osteoporose ou osteopenia não tem se mostrado uma contraindicação para a terapia com implante dentário. Alguns

autores mostraram em estudos retrospectivos em pacientes e em uma revisão sistemática que mulheres apresentando o diagnóstico de osteoporose e osteopenia não apresentaram maior índice de insucesso dos implantes (Holahan et al., 2008; Giro et al., 2015). Porém, avaliações da densidade de osteócito em pacientes com osteopenia e em pacientes com osteoporose tratados com bifosfonatos, mostraram histologicamente que a densidade de osteócitos por  $\mu\text{m}^2$  no tecido ósseo, nos pacientes com osteopenia apresentaram valores estatisticamente mais elevados de densidade de osteócito que os pacientes com osteoporose ( $P < 0,05$ ), foram detectadas diferenças significativas entre osteopenia e osteoporose vs. pacientes saudáveis. (Oliveira et al., 2015).

A grande questão quanto a instalação de implantes em mulheres na fase pós menopausa está nas medicações utilizadas na tentativa de prevenção da perda de massa óssea ou restabelecimento da estrutura perdida. Como vimos anteriormente, uma das medicações mais utilizadas nesses casos é o alendronato, um bifosfonato de uso contínuo usada via oral.

Há relato onde se encontra taxa de sucesso em usuários de bifosfonatos, semelhante àquela observada em pacientes que não utilizam tais medicamentos, com resultados positivos em 95% dos casos com inserção de implantes (Bell et al., 2008). Em estudo retrospectivo com mulheres submetidas a instalação de implantes dentários, usuárias e não usuárias de bifosfonatos pós menopausa, as taxas de sobrevivência dos implantes encontradas foram semelhantes, enfatizando a não influência dos medicamentos nos resultados verificados nestes grupos (Koka et al., 2010). Porém, um estudo realizado por Estilo et al. (2008) demonstrou que a duração da terapia com bifosfonatos é um fator significativo que aumenta a probabilidade do aparecimento da osteonecrose dos maxilares, podendo contribuir para um maior índice de falha dos implantes dentais. Além disso, não há relatos na literatura que avaliem as condições biomecânicas do tecido ósseo de maxilares humanos, que mostrem a verdadeira influência dessa classe de medicamentos em ossos maxilares.

## **2 PROPOSIÇÃO**

O objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades mecânicas de biópsias de tecido ósseo mandibular de mulheres na fase pós-menopausa em tratamento com alendronato.

### 3 ARTIGO CIENTÍFICO

#### **Propriedades mecânicas da mandíbula de mulheres na fase pós menopausa.**

**Cabrales RJ, Shibli JA, Piatelli A, Carneiro PM, Turbino ML, Rodrigues JA, Giro G.**

#### **Autor de correspondência**

Gabriela Giro

Praça Tereza Cristina 229 – 07030-070 – Guarulhos, SP, Brazil

#### **Resumo**

O objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades mecânicas de fragmentos de tecido ósseo mandibular de mulheres na fase pós-menopausa em tratamento com alendronato. Trinta pacientes foram selecionados para este estudo e divididos em 3 grupos: G1- 10 pacientes saudáveis (controle), G2 - 10 pacientes com osteopenia, G3 - 10 pacientes com osteoporose tratados com alendronato. As amostras de osso foram removidas no momento da cirurgia de instalação de implantes na mandíbula com ajuda de uma trefina e fixadas em formol a 4%. Após o processamento histológico com ajuda de um microscópio ótico foram identificadas e selecionados os 6 pontos de indentação determinados na superfície óssea. A nanodureza e módulo de elasticidade foram avaliadas utilizando-se um penetrador com geometria Berkovich, com raio de aproximadamente 50 nm, módulo elástico de  $1.016 \times 10^6$  Mpa e coeficiente de Poisson de 0.3, com carga de 100mN. Cada ciclo com um intervalo de tempo de 18s para carga e 18s para a descarga e 5s de estática na indentação (profundidade de 10  $\mu$ m), com velocidade de 1mN/s. Os dados foram avaliados por meio do teste de Kruskal-Wallis. Os maiores valores de nanodureza e de módulo de elasticidade foram observados em pacientes dos grupos controle e osteopenia (sem diferença estatística entre eles). Porém, o grupo osteoporose apresentou menores valores para ambas avaliações, com diferença estatística com relação aos demais grupos do estudo ( $p > 0,05$ ). Apesar das limitações desse estudo, podemos concluir que o tratamento com alendronato influencia negativamente na nanodureza e no módulo de elasticidade do tecido ósseo mandibular em mulheres na fase pós menopausa.

**Palavras-chave:** Implante dental. Alendronato. Osteoporose. Osteopenia. Menopausa. Nanodureza. Teste mecânico. Módulo de elasticidade.

## **Introdução**

A osteoporose é uma condição de fragilidade da microarquitetura óssea, resultante de um desequilíbrio de remodelação óssea causado pelo comprometimento da função ovariana em mulheres no período pós menopausa (Rachner et al., 2011). Nas duas últimas décadas, desenvolveram-se diversas opções de tratamento com a finalidade de redução do risco de fraturas em pacientes com osteoporose. Dentre os tratamentos específicos para a doença incluem-se agentes anti-reabsortivos (cálcio, vitamina D, estrógenos, calcitonina, bifosfonatos, entre outros), que levam a inibição do processo de reabsorção óssea.

A influência da osteopenia/ osteoporose no sucesso de implantes osseointegrados ainda se encontra bastante controverso na literatura. Enquanto alguns trabalhos mostram que não existe influencia na sobrevivência de implantes em mulheres na fase pós menopausa, outros estudos apresentam dados contrários de maior perda de implantes nesses pacientes.

Outra questão com relação às pacientes na fase pós menopausa é a utilização do alendronato, um bifosfonato nitrogenado, que apesar de apresentar resultados bastante satisfatórios no processo de reversão e prevenção da perda de massa óssea no período de pós menopausa (Licata, 2005), a literatura com relação a inserção de implantes nos pacientes submetidos a este tratamento é bastante controversa. Enquanto estudos em animais mostram que a utilização do alendronato melhora o contato osso/implante, aumenta a porcentagem de osso formado entre as roscas dos implantes e o torque de remoção dos implantes (Chacon et al., 2006, Frenkel et al., 2001, Narai, Nagata, 2003), diversos relatos em humanos tem mostrado uma relação direta da indução de osteonecrose dos maxilares, com a sua utilização.

Bell et al. (2008) mostraram que a taxa de sucesso encontrada em usuários de bifosfonato, semelhante àquela observada em pacientes que não utilizam tais medicamentos, com resultados positivos em 95% dos casos dos implantes instalados. Corroborando com esses resultados, Koka et al. (2010) mostraram em

seu estudo retrospectivo com mulheres na fase pós menopausa submetidas a implantes dentários, usuárias ou não de bifosfonatos, que as taxas de sobrevivência dos implantes foram semelhantes, enfatizando a não influência dos medicamentos em longo prazo.

Por outro lado, frequência aumentada de pacientes osteoporóticos fazendo uso de bifosfonatos com necessidades de reabilitação oral com implantes dentais requer uma compreensão maior pela comunidade odontológica de como esta droga, em específico, os bifosfonatos, afetam a osseointegração dos implantes dentais (Lam et al., 2007). A grande preocupação no que tange estas pacientes diz respeito à alta prevalência de osteonecrose dos maxilares em pacientes que fazem uso prolongado com bifosfonatos e são submetidas à procedimentos cirúrgicos nos maxilares. Sabe-se que procedimentos não-invasivos poderiam ajudar a diminuir a sua incidência, apesar da sua etiologia não ser completamente elucidada, e com isso faz-se necessário a realização de estudos que desvendem as características do tecido ósseo que recebera o implante dental sejam realizados com a finalidade de se conhecer o tipo de resposta que se pode esperar daquele tecido, e assim, poder prevenir a incidência e complicações ligadas as usuárias dessa classe de medicamentos.

Tendo visto o exposto acima, faz-se necessária novas investigações a respeito do tecido ósseo formado ao redor de implantes em pacientes que fazem uso especificamente desta classe de medicamento, com o intuito de se esclarecer a real influencia do alendronato, sobre o tecido ósseo que recebeu ou que vá receber os implantes dentais. Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar as características mecânicas do tecido ósseo mandibular de pacientes na fase pós menopausa, que serão submetidas à colocação de implantes dentais e fazem uso/ou não de alendronato, com a finalidade de entender as características e limitações que este tecido apresenta.

## **Materiais e métodos**

### Desenho do estudo

Neste estudo, foram incluídas mulheres na fase pós menopausa que procuraram por reabilitação implantossuportadas no Centro de Estudos Clínicos da UNG Universidade, Guarulhos, SP, Brasil.

Os critérios de inclusão da amostra foram: ser do sexo feminino, estar no período de pós-menopausa há pelo menos um ano; edentulismo na mandíbula; pelo menos 10 mm de altura óssea residual e 5 mm de espessura óssea para a instalação do implante; fazer acompanhamento médico de rotina; ter realizado o exame de densitometria nos últimos 6 meses para avaliar sua densidade mineral óssea como função do índice T-score (Organização Mundial de Saúde, Suíça, 1994). Os pacientes com osteoporose deveriam estar em tratamento oral com alendronato 70 mg/semana (Fosamax, Merck Sharp & Dohme Pharmaceuticals Ltd. Campinas, SP). Os critérios de exclusão foram: doenças vasculares; doenças crônicas tais como artrite reumatóide e diabetes; fumar; alcoolismo crônico; doença periodontal crônica moderada ou avançada; doenças da mucosa oral; uso de glicocorticosteróides ou outros medicamentos imunossupressores; história de radioterapia na região da cabeça e pescoço; disponibilidade insuficiente de tecido ósseo para permitir a inserção de implantes dentários, sem terapias regenerativas prévias.

As participantes foram submetidas à anamnese (história médica e odontológica), exame clínico intraoral e testes laboratoriais pré-operatórios, incluindo hemograma completo, perfil de coagulação, glicemia, cálcio sérico e creatinina.

As participantes foram divididas de acordo com os resultados do teste DXA em 3 grupos: **(A) grupo controle**, incluindo os pacientes saudáveis (T-score  $\geq -1$ ); **(B) grupo osteopenia**, incluindo pacientes com osteopenia sob supervisão médica e sem terapia para prevenção da perda de massa óssea (T-score -1 a -2,5); **(C) grupo osteoporose**, incluindo pacientes com osteoporose em tratamento com alendronato há pelo menos 1 ano (T-score  $\leq -2,5$ ). O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNG Universidade, Guarulhos, SP, Brasil (protocolo nº 39392914.0.0000.5506), e todos as participantes foram instruídas e concordaram em assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.

### Fase cirúrgica

A coleta da amostra de tecido ósseo foi realizada durante a cirurgia para instalação dos implantes na região de mandíbula. Resumidamente, após a anestesia local, foi realizado uma incisão e descolamento total do retalho. Ao preparar o leito receptor do implante, ao invés de utilizar a fresagem padrão do tecido ósseo, uma

amostra foi coletada utilizando-se uma fresa trefina (largura interna 2,0 mm) sob irrigação abundante com solução salina estéril. O preparo do leito receptor do implante após a retirada da amostra foi terminado com as demais brocas padronizadas para o determinado tamanho do implante.

#### Processamento histológico

Todos os espécimes foram lavados em solução salina e imediatamente fixados em solução tamponada de formol a 4%, durante 24 horas, e depois transferidos para álcool 70%. Os espécimes foram processados para a obtenção de secções de tecido não descalcificados utilizando-se o sistema automatizado (Precise 1, Assing, Roma, Itália). Para isso, os espécimes foram desidratados numa série ascendente de álcool e infiltrados em resina de glicolmetacrilato (Technovit 7200 VLC, Kulzer, Wehrheim, Alemanha). Após infiltração e polimerização, os blocos foram seccionados, obtendo-se um corte de 150 µm de espessura, no seu eixo longitudinal, com um disco de diamante de alta precisão e lixados até que atingissem uma espessura de aproximadamente 30 µm (Isomet, Buehler). Foi obtido apenas 1 corte para cada espécime.

#### Teste de nanodureza

Todas as lâminas foram fotografadas, em microscópio óptico com aumento de 50x para a realização de um mapeamento nas imagens e identificação das regiões a serem medidas no nanodurômetro.

A dureza e módulo de elasticidade na região do osso foram avaliadas utilizando-se um penetrador com geometria Berkovich, um equipamento dinamicamente controlado (DUH-W211S, Shimadzu Co., Tokyo, Japan), com raio de aproximadamente 50 nm, módulo elástico de  $1.016 \times 10^6$  Mpa e coeficiente de Poisson de 0.3 (Zysset et al., 1999; Hengsberger et al., 2002; Norman et al., 2008), com carga de 100mN. Cada ciclo será configurado com um intervalo de tempo de 18s para carga e 18s para a descarga e 5s de estática na endentação (profundidade de 10 µm), com velocidade de 1mN/s. Nas imagens foram selecionados os 6 pontos de endentação determinados na superfície óssea com intuito captar de maneira geral a dureza e o módulo de elasticidade do tecido ósseo, na área em que foi colocado um implante dentário. Os dados gerados pelo nanoindentador foram



analisados pelo programa TestWorks4 (MTS Systems Corporation - <http://www.mts.com>).

Os dados obtidos foram avaliados por meio do teste de Kruskal-Wallis e teste post-hoc de Dunn. A significância estatística foi ajustada em 5%.

## **Resultados**

Neste estudo, foram incluídas 30 pacientes divididas em 3 grupos, como mostrado na tabela 1.

Os resultados de nanodureza dos grupos avaliados estão expressos na tabela 2. Como podemos observar, os maiores valores de dureza foram observados para as participantes dos grupos controle e osteopenia (sem diferença estatística entre eles). O grupo osteoporose apresentou os menores valores de nanodureza do tecido ósseo, com diferença estatística em relação aos demais grupos do estudo ( $p > 0,05$ ).

O gráfico representado na figura 1 mostra os resultados relativos ao módulo de elasticidade dos grupos avaliados. Os maiores valores de elasticidade foram observados em pacientes dos grupos controle e osteopenia (sem diferença estatística entre eles). Assim como os resultados de nanodureza, o grupo osteoporose apresentou menores valores de módulo de elasticidade, com diferença estatisticamente significativa em relação aos demais grupos do estudo ( $p > 0,05$ ).

## **Discussão**

O presente estudo teve como objetivo avaliar as características biomecânicas do tecido ósseo mandibular de mulheres na fase de pós menopausa, por meio de teste de nanodureza e avaliação do módulo de elasticidade do tecido ósseo. Os resultados deste estudo evidenciaram uma influencia negativa do tratamento com alendronato, um bifosfonato nitrogenado que tem sido associado a diversos casos de falha de implantes e ocorrência da osteonecrose dos maxilares. A alteração nanoestrutural da dureza nos pacientes osteoporóticos provavelmente esta relacionado à a diminuição da absorção de minerais e de cálcio devido às alterações metabólicas pela deficiência estrogênica (SOGC, 2014). Referindo-nos a estrutura óssea sabemos que deformação é inversamente proporcional a fragilidade do osso. Para o caso osteoporótico, o osso tende a ser mais duro e conseqüentemente mais

frágil, enquanto o de uma criança ou indivíduo saudável apresentam grande deformação e menor ruptura. A densidade mineral óssea é altamente correlacionada com a resistência e rigidez. Mas a rigidez é inverso do módulo elástico (Turner 2006; Fratzi-Zelman et al. 2009). Os achados na literatura corroboram com os resultados do presente estudo, uma vez que nos processos pós menopáusicos, além da perda mineral, a redução na rigidez e dureza do material ósseo, encontramos que existe um processo de endurecimento no componente da matriz orgânica que contribui na fragilidade óssea independente do teor mineral (Fratzi-Zelman et al., 2009). Por outro lado, sabe-se que as fibras de colágeno são responsáveis pela propriedade elástica e contribui para a resistência a tração. Os cristais de hidroxiapatita constituem a parte mineral, que confere rigidez e resistência à compressão. A parte orgânica (colágeno) preservada permite maior deformação e resistência a fratura, atuando como uma componente viscoelástico. Sendo assim, Cherkaev & Bonifasi (2011) demonstraram que os resultados dos ensaios de nanoindentação não tiveram diferença significativa na comparação de ossos saudáveis, osteopênicos e osteoporóticos; contrariando os achados deste estudo. Assim como o estudo citado acima, Fratzi-Zelman et al. (2009) também mostraram em seu trabalho que apesar da osteoporose estar associada a um teor mineral reduzido, que não houve a redução na rigidez e dureza do material ósseo.

Em níveis celulares sabemos que os bifosfonatos provocam uma inativação dos osteoclastos, atuando na inibição da reabsorção óssea, gerenciando assim, as unidades osteorremodeladoras (Rodan; Fleisch 1996), e, com isso, diminuindo a taxa de renovação do tecido ósseo, contribuindo para o enrijecimento das fibras de colágeno, e conseqüente para o envelhecimento do tecido ósseo. Estes dados são suportados por Rollo e colaboradores (2012) que demonstraram em seu estudo que o uso prolongado do alendronato diminui as propriedades micromecânicas do tecido ósseo, devido à diminuição da cristalinidade mineral. Com isso, os autores sugerem que apesar do tratamento com alendronato preservar a densidade mineral óssea em nível estrutural, sua utilização prejudica a organização lamelar do tecido ósseo, podendo gerar fraturas atípicas associadas ao tratamento prolongado com bifosfonatos.

Independentemente dos resultados microestruturais, estudos em humanos mostraram clinicamente não há diferença na sobrevivência de implantes em pacientes em tratamento com bifosfonatos (Koka et al., 2010; Bell et al., 2008).

Em base a estes resultados podemos sugerir que a qualidade de um osso osteoporótico apresenta um deterioro estrutural orgânico e inorgânico que reflete na sua fragilidade o que poderia afetar a longevidade dos implantes dentários. Com finalidade de evitar traumas mastigatórios excessivos na estrutura óssea se recomenda que as próteses de implantes osseointegrados em ossos osteoporóticos sejam ajustadas oclusalmente de tal forma que reduzam forças oclusais sem perder sua função mastigatórias, desta maneira elevando sua sobrevida.

Finalmente, os dados obtidos a partir de secções de tecido ósseo obtidos a partir de mandíbulas humanas representar informações mais autênticas e únicas da mandíbula do que as obtidas noutros locais (Mullender et al., 2005). Assim, os presentes resultados são clinicamente úteis no diagnóstico e tratamento de perdas dentais na região mandibular em pacientes pós-menopausa que fazem uso contínuo de alendronato e, ainda, no planejamento das reabilitações implanto-próteses nesta classe de pacientes.

### **Agradecimentos**

Dr. Giro agradece a FAPESP pelo apoio financeiro (processo # 2014/25228-7).

### **Referências**

Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future. *Lancet*. 2011; 377(9773):1276-87.

Licata, AA. Discovery, clinical development, and therapeutic uses of BPs. *Ann Pharmacother* 2005; 39(4):668-77.

Chacon GE, Stine EA, Larsen PE, Beck FM, McGlumphy EA. Effect of alendronate on endosseous implant integration: an in vivo study in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg*. 2006; 64(7):1005-9.

Frenkel SR, Jaffe WL, Valle CD, Jazrawi L, Maurer S, Baitner A, Wright K, Sala D, Hawkins M, Di Cesare PE. The effect of alendronate (Fosamax) and implant surface

on bone integration and remodeling in a canine model. *J Biomed Mater Res.* 2001;58(6):645-50.

Narai S, Nagahata. Effects of alendronate on the removal torque of implants in rats with induced osteoporosis. *J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18:218-223.

Bell BM, Bell RE. Oral bisphosphonates and dental implants: a retrospective study. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2008; 66:1022-24.

Koka S, Babu NMS, Norell A. Survival of dental implants in post-menopausal bisphosphonate users. *J. Prosthodont Res.* 2010; 54(3):108-11.

Lam DK, Sándor GK, Holmes HI, Evans AW, Clokie CM. A review of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws and its management. *J Can Dent Assoc.* 2007; 73(5):417-22.

SOGC. Osteoporosis in Menopause. Clinical practice guideline, *J Obstet Gynaecol Can.* 2014; 36(9 e Suppl C):S1– S15.

Turner AS. Seasonal changes in bone metabolism in sheep: further characterization of an animal model for human osteoporosis. *Vet J.* 2007; 174(3):460-1.

Turner CH. Bone strength: current concepts. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1068:429-46.

Fratzl-Zelman N, Roschger P, Gourrier A, Weber M, Misof BM, Loveridge N, Reeve J, Klaushofer K, Fratzl P. Combination of nanoindentation and quantitative backscattered electron imaging revealed altered bone material properties associated with femoral neck fragility. *Calcif Tissue Int.* 2009;85(4):335-43.

Cherkaev E, Bonifasi-Lista C. Characterization of structure and properties of bone by spectral measure method. *J Biomech.* 2011; 44(2):345-51.

Rodan GA, Martin TJ. Therapeutic approaches to bone diseases. *Science.* 2000; 289(5484):1508-14.

Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest.* 1996; 97(12):2692-6.

Rollo JM, Boffab, R. Cesar, D.C. Schwabd, T. P. Leivase. Assessment of Trabecular Bones Microarchitectures and Crystal Structure of Hydroxyapatite in Bone Osteoporosis with Application of the Rietveld Method. *Procedia Engineering*. 2015; 110: 8 – 14

Mullender MG, Huiskes R. Proposal for the regulatory mechanism of Wolff's law. *J Orthop Res*. 1995; 13(4):503-12.

**Tabela 1.** Dados demográficos das participantes alocadas em cada grupo do estudo.

<b>Grupos</b>	<b>Controle</b>	<b>Osteopenia</b>	<b>Osteoporose</b>
<b>Idade</b>	68.1 ± 6.4 <sup>a</sup>	65 ± 4.5 <sup>a</sup>	69.2 ± 7.9 <sup>a</sup>
<b>DMO fêmur</b>	1.082 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.803 ± 0.075 <sup>b</sup>	0.688 ± 0.172 <sup>c</sup>
<b>DMO vértebras lombares</b>	1.144 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.934 ± 0.151 <sup>b</sup>	0.807 ± 0.079 <sup>c</sup>

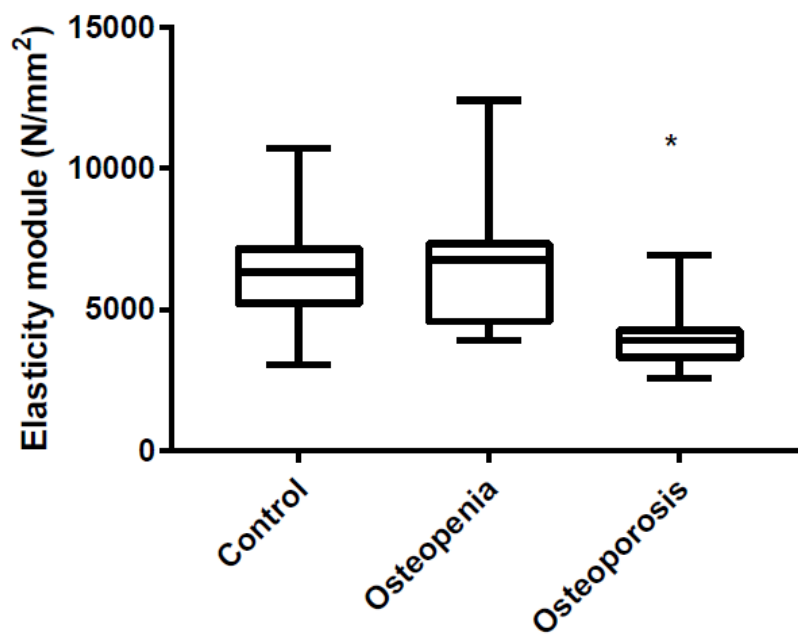
\*Letras diferentes indicam significância estatística distintas entre os diferentes grupos do estudo.

**Tabela 2.** Comparação da nanodureza do tecido ósseo entre os grupos do estudo – teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste *post hoc* de Dunn ( $p < 0.05$ ).

<b>Grupos</b>	<b>Controle (n=10)</b>	<b>Osteopenia (n=10)</b>	<b>Osteoporose (n=10)</b>
<b>Média</b>	26.5 <sup>A</sup>	25.7 <sup>A</sup>	17.9 <sup>B</sup>
<b>DP</b>	± 6.61	± 6.67	± 4.36
<b>Amplitude</b>	16.6 - 36.7	15.1 - 36.2	12.2 - 27.9

\*Letras diferentes indicam significância estatística distintas entre os diferentes grupos do estudo.

**Figura 1.** Módulo de elasticidade do tecido ósseo para os 3 diferentes grupos do estudo. \*  $p < 0.05$  utilizando-se o teste de Kruskal Wallis.



#### **4. CONCLUSÃO**

Apesar das limitações desse estudo, podemos concluir que o tratamento com alendronato influencia negativamente as propriedades biomecânicas do tecido ósseo mandibular em mulheres na fase pós menopausa.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aarden EM, Nijweide PJ, van der Plas A, Alblas MJ, Mackie EJ, Horton MA, Helfrich MH. Adhesive properties of isolated chick osteocytes in vitro. *Bone*. 1996; 18(4):305-13.
2. Bakker A, Klein-Nulend J, Burger E. Shear stress inhibits while disuse promotes osteocyte apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 320(4):1163-8.
3. Bell BM, Bell RE. Oral bisphosphonates and dental implants: a retrospective study. *J. Oral Maxillofac. Surg*. 2008; 66:1022-24.
4. Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res*. 2011; 26(2):229-38.
5. Bouxsein ML, Seeman E. Quantifying the material and structural determinants of bone strength. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2009;23(6):741-53.
6. Bueno JC. Estudo das propriedades mecânicas em ligas inoxidáveis com efeito de memória de forma utilizando a técnica de nanoindentação, III Encontro de Jovens Pesquisadores no IFGW, UNICAMP, 4 a 6 de setembro de 2002, Campinas-SP, 2002.
7. Cauley JA, Blackwell T, Zmuda JM, Fullman RL, Ensrud KE, Stone KL, Barrett-Connor E, Orwoll ES; Osteoporotic Fractures in Men Study.. Correlates of trabecular and cortical volumetric bone mineral density at the femoral neck and lumbar spine: the osteoporotic fractures in men study (MrOS). *J Bone Miner Res*. 2010;25(9):1958-71.
8. Chacon GE, Stine EA, Larsen PE, Beck FM, McGlumphy EA. Effect of alendronate on endosseous implant integration: an in vivo study in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg*. 2006; 64(7):1005-9.
9. Chappard D, Baslé MF, Legrand E, Audran M. New laboratory tools in the assessment of bone quality. *Osteoporos Int*. 2011;22(8):2225-40.
10. Chen H, Kubo KY. Bone three-dimensional microstructural features of the common osteoporotic fracture sites. *World J Orthop*. 2014 Sep 18;5(4):486-95.

11. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med.* 1993; 94(6):646-50.
12. Cowin SC. Bone poroelasticity. *Bone Mechanics Handbook.* CRC Press LLC, Boca Raton, CA, 2001.
13. Dhillon S, Lyseng-Williamson KA. Zoledronic acid: a review of its use in the management of bone metastases of malignancy. *Drugs.* 2008; 68(4):507-34.
14. Duarte PM, César Neto JB, Gonçalves PF, Sallum EA, Nociti Jr.. FH. Estrogen deficiency affects bone healing around titanium implants. A histometric study in rats. *Implant Dent.* 2003; 12(4): 340-6.
15. Estilo CL, Van Poznak CH, Williams T, Bohle GC, Lwin PT, Zhou Q, Riedel ER, Carlson DL, Schoder H, Farooki A, Fornier M, Halpern JL, Tunick SJ, Huryn JM. Osteonecrosis of the maxilla and mandible in patients with advanced cancer treated with bisphosphonate therapy. *Oncologist.* 2008;13(8):911-20.
16. Fleisch H, Russell RG, Bisaz S, Casey PA, Mühlbauer RC. The influence of pyrophosphate analogues (diphosphonates) on the precipitation and dissolution. *Calcif Tissue Res.* 1968: Suppl:10-10a.
17. Fonseca H, Moreira-Gonçalves D, Coriolano HJ, Duarte JA. Bone quality: the determinants of bone strength and fragility. *Sports Med.* 2014;44(1):37-53.
18. Fratzi-Zelman N, Roschger P, Gourrier A, Weber M, Misof BM, Loveridge N, Reeve J, Klaushofer K, Fratzi P. Combination of nanoindentation and quantitative backscattered electron imaging revealed altered bone material properties associated with femoral neck fragility. *Calcif Tissue Int.* 2009 Oct;85(4):335-43.
19. Frenkel SR, Jaffe WL, Valle CD, Jazrawi L, Maurer S, Baitner A, Wright K, Sala D, Hawkins M, Di Cesare PE. The effect of alendronate (Fosamax) and implant surface on bone integration and remodeling in a canine model. *J Biomed Mater Res.* 2001;58(6):645-50.
20. Genant HK, Engelke K, Prevrhal S. Advanced CT bone imaging in osteoporosis. *Rheumatology (Oxford).* 2008;47 Suppl 4:iv9-16.
21. Giro G, Chambrone L, Goldstein A, Rodrigues JA, Zenóbio E, Feres M, Figueiredo LC, Cassoni A, Shibli JA. Impact of osteoporosis in dental implants: A systematic review. *World J Orthop.* 2015; 18;6(2):311-5.

22. Goddard D, Kleerekoper M. The epidemiology of osteoporosis. Practical implications for patient care. *Postgrad Med* 1998; 104:54–56,65,69–72.
23. Green AD, Colon-Emeric CS, Bastian L, Drake MT, Lyles KW. Does this woman have osteoporosis? *J Am Med Assoc* 2004; 292:2890–2900.
24. Hayashi T, Chen H, Miyamoto K, Zhou X, Hara T, Yokoyama R, Kanematsu M, Hoshi H, Fujita H. Analysis of bone mineral density distribution at trabecular bones in thoracic and lumbar vertebrae using X-ray CT images. *J Bone Miner Metab.* 2011;29(2):174-85.
25. Hengsberger S, Kulik A, Zysset P. Nanoindentation discriminates the elastic properties of individual human bone lamellae under dry and physiological conditions. *Bone.* 2002;30(1):178-84.
26. Hesse B, Langer M, Varga P, Pacureanu A, Dong P, Schrof S, Männicke N, Suhonen H, Olivier C, Maurer P, Kazakia GJ, Raum K, Peyrin F. Alterations of mass density and 3D osteocyte lacunar properties in bisphosphonate-related osteonecrotic human jaw bone, a synchrotron  $\mu$ CT study. *PLoS One.* 2014; 9(2):e88481.
27. Holahan CM, Koka S, Kennel KA, Weaver AL, Assad DA, Regennitter FJ, Kademani D. Effect of osteoporotic status on the survival of titanium dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008; 23(5):905-10.
28. Hulme PA, Boyd SK, Ferguson SJ. Regional variation in vertebral bone morphology and its contribution to vertebral fracture strength. *Bone.* 2007;41(6):946-57.
29. ISO 14577. Metallic materials. Instrumented indentation tests for hardness and materials parameters, ISO Central Secretariat, Geneva, Suíça, 2002.
30. Jiroušek O. Nanoindentation of human trabecular bone – Tissue mechanical properties compared to standard engineering test methods. *Nanoindentation in Materials Science.* Intech. Chapter 11. 2012.
31. Kanterewicz E, Puigoriol E, García-Barrionuevo J, del Rio L, Casellas M, Peris P; FRODOS Research Group. Prevalence of vertebral fractures and minor vertebral deformities evaluated by DXA-assisted vertebral fracture assessment (VFA) in a population-based study of postmenopausal women: the FRODOS study. *Osteoporos Int.* 2014;25(5):1455-64.

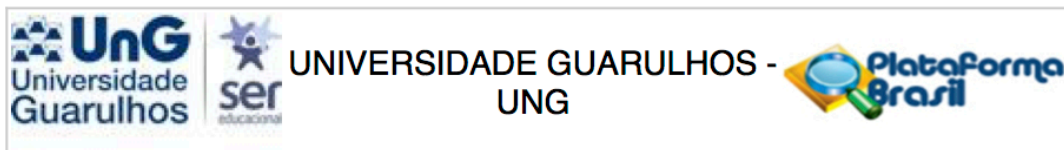
32. Khoury MJ. Genetic and epidemiologic approaches to the search for gene-environment interaction: the case of osteoporosis. *Am J Epidemiol.* 1998;147(1):1-2.
33. Kim HS, Yang SO. Quality Control of DXA System and Precision Test of Radio- technologists. *J Bone Metab.* 2014; 21(1):2-7.
34. Knothe Tate ML, Adamson JR, Tami AE, Bauer TW. The osteocyte. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004; 36(1):1-8.
35. Koka S, Babu NMS, Norell A. Survival of dental implants in post-menopausal bisphosphonate users. *J. Prosthodont Res.* 2010; 54(3):108-11.
36. Lam DK, Sándor GK, Holmes HI, Evans AW, Clokie CM. A review of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws and its management. *J Can Dent Assoc.* 2007; 73(5):417-22.
37. Lanyon LE. Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodeling. *Calcif Tissue Int.* 1993; 53 Suppl 1:S102-6; discussion S106-7.
38. Le Corroller T, Pithioux M, Chaari F, Rosa B, Parratte S, Maurel B, Argenson JN, Champsaur P, Chabrand P. Bone texture analysis is correlated with three-dimensional microarchitecture and mechanical properties of trabecular bone in osteoporotic femurs. *J Bone Miner Metab.* 2013;31(1):82-8.
39. Liberman UA, Weiss SR, Bröll J, Minne HW, Quan H, Bell NH, Rodriguez-Portales J, Downs RW Jr, Dequeker J, Favus M. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *N Engl J Med.* 1995; 333(22):1437-43.
40. Licata, AA. Discovery, clinical development, and therapeutic uses of BPs. *Ann Pharmacother* 2005; 39(4):668-77.
41. Link TM. Osteoporosis imaging: state of the art and advanced imaging. *Radiology.* 2012;263(1):3-17.
42. Liu XS, Sajda P, Saha PK, Wehrli FW, Bevil G, Keaveny TM, Guo XE. Complete volumetric decomposition of individual trabecular plates and rods and its morphological correlations with anisotropic elastic moduli in human trabecular bone. *J Bone Miner Res.* 2008 Feb;23(2):223-35.

43. Marx RE, Cillo JE Jr, Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65(12):2397-410.
44. Morse CA, Smith A, Dennerstein L, Green A, Hopper J, Burger H. The treatment-seeking woman at menopause. *Maturitas* 1994, 18: 161–173.
45. Mullender MG, Huiskes R. Proposal for the regulatory mechanism of Wolff's law. *J Orthop Res.* 1995; 13(4):503-12.
46. Narai S, Nagahata. Effects of alendronate on the removal torque of implants in rats with induced osteoporosis. *J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18:218-223.
47. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy.. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA.* 2001; 285(6):785-95.
48. NOF - National Osteoporosis Foundation. Clinician's Guide to prevention and treatment of osteoporosis. Issue, Version 1 Release Date: April 1, 2014. Disponível em < <http://nof.org/files/nof/public/content/file/2610/upload/895>>
49. Norman J, Shapter JG, Short K, Smith LJ, Fazzalari NL. Micromechanical properties of human trabecular bone: a hierarchical investigation using nanoindentation. *J Biomed Mater Res A.* 2008;87(1):196-202.
50. Nyman JS, Roy A, Shen X, Acuna RL, Tyler JH, Wang X. The influence of water removal on the strength and toughness of cortical bone. *J Biomech.* 2006;39(5):931-8.
51. Oliver WC, Pharr GM. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *J Mater Res.* 1992; 7: 1564–1583.
52. Oliver WC, Pharr GM. Measurement of hardness and elastic modulus by instrumented indentation: Advances in understanding and refinements to methodology. *J Mater Res.* 2004, 19(1): 3-2-.
53. Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future. *Lancet.* 2011; 377(9773):1276-87.
54. Ritchie RO, Markus JB, Hansma P. Plasticity and toughness in bone. *Phys Today* 2009; 41–47.
55. Rodan GA, Martin TJ. Therapeutic approaches to bone diseases. *Science.* 2000; 289(5484):1508-14.

56. Rollo J. M. D. A., R. S. Boffab, R. Cesarca, D.C. Schwabd, T. P. Leivase. Assessment of Trabecular Bones Microarchitectures and Crystal Structure of Hydroxyapatite in Bone Osteoporosis with Application of the Rietveld Method. *Procedia Engineering*. 2015; 110: 8 – 14.
57. Roux JP, Wegrzyn J, Arlot ME, Guyen O, Delmas PD, Chapurlat R, Bouxsein ML. Contribution of trabecular and cortical components to biomechanical behavior of human vertebrae: an ex vivo study. *J Bone Miner Res*. 2010;25(2):356-61.
58. Roux JP, Wegrzyn J, Boutroy S, Bouxsein ML, Hans D, Chapurlat R. The predictive value of trabecular bone score (TBS) on whole lumbar vertebrae mechanics: an ex vivo study. *Osteoporos Int*. 2013;24(9):2455-60.
59. Rubin MA, Jasiuk I, Taylor J, Rubin J, Ganey T, Apkarian RP. TEM analysis of the nanostructure of normal and osteoporotic human trabecular bone. *Bone*. 2003; 33(3):270-82.
60. Saito M, Marumo K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporos Int*. 2010;21(2):195-214.
61. Sedlin E.D, C. Hirsch, *Acta Orthop. Scand*. 37 (1966) 29–48.
62. SIMÕES, M. I. The influence of experimental parameters on hardness and Young's modulus determination using depth-sensing testing, **Philosophical Magazine A-Physics of Condensed Mater Structure Defects and Mechanical Properties**, v. 82, n. 10, p. 1911-1919, 2002.
63. SOGC. Osteoporosis in Menopause. Clinical practice guideline, *J Obstet Gynaecol Can*. 2014; 36(9 e Suppl C):S1– S15.
64. Sun LW, Fan YB, Li DY, Zhao F, Xie T, Yang X, Gu ZT. Evaluation of the mechanical properties of rat bone under simulated microgravity using nanoindentation. *Acta Biomater*. 2009;5(9):3506-11.
65. Torres-del-Pliego E, Vilaplana L, Güerri-Fernández R, Diez-Pérez A. Measuring bone quality. *Curr Rheumatol Rep*. 2013;15(11):373. TTurner CH. Bone strength: current concepts. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1068:429-46.
66. van Steenberghe D, Quirynen M, Molly L, Jacobs R. Impact of systemic diseases and medication on osseointegration. *Periodontol 2000*. 2003;33:163-71.

67. Wang HL, Weber D, McCauley LK. Effect of long-term oral bisphosphonates on implant wound healing: literature review and a case report. *J Periodontol.* 2007;78(3):584-94.
68. Wang X, Bank RA, TeKoppele JM, Agrawal CM. The role of collagen in determining bone mechanical properties. *J Orthop Res.* 2001;19(6):1021-6.
69. Wong CC, McGirt MJ. Vertebral compression fractures: a review of current management and multimodal therapy. *J Multidiscip Healthc.* 2013;6:205-14.
70. Xu J, Rho JY, Mishra SR, Fan Z. Atomic force microscopy and nanoindentation characterization of human lamellar bone prepared by microtome sectioning and mechanical polishing technique. *J Biomed Mater Res A.* 2003;67(3):719-26.
71. Yamaguchi K, Masuhara K, Yamasaki S, Nakai T, Fuji T. Cyclic therapy with etidronate has a therapeutic effect against local osteoporosis after cementless total hip arthroplasty. *Bone.* 2003;33(1):144-9.
72. Zysset PK, Guo XE, Hoffer CE, Moore KE, Goldstein SA. Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bone lamellae measured by nanoindentation in the human femur. *J Biomech.* 1999;32(10):1005-12.

## ANEXO



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO TECIDO ÓSSEO MANDIBULAR E MAXILAR e DA SOBREVIVÊNCIA DE IMPLANTES EM PACIENTES QUE FAZEM USO CONTÍNUO DE ALENDRONATO. ESTUDO EM HUMANOS.

**Pesquisador:** Gabriela Giro Araujo

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 39392914.0.0000.5506

**Instituição Proponente:** Universidade Guarulhos - UNG

**Patrocinador Principal:** FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO  
Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.018.932

**Data da Relatoria:** 28/04/2015

**Apresentação do Projeto:**

Projeto bem fundamentado, com problema de pesquisa claro e bem justificado e método adequado para alcançar os objetivos

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivos claros e bem definidos.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos e benefícios são apresentados adequadamente, tanto no projeto quanto no TCLE

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Proposta relevante, com método adequado para se atingir os objetivos.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos são apresentados corretamente

**Recomendações:**

Nada a acrescentar.

**Endereço:** Praça Tereza Cristina, 229

**Bairro:** Centro

**CEP:** 07.023-070

**UF:** SP

**Município:** GUARULHOS

**Telefone:** (11)2464-1779

**Fax:** (11)2464-1187

**E-mail:** comite.etica@ung.br



Continuação do Parecer: 1.018.932

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Projeto aprovado.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Esta aprovação é válida pelo período previsto no cronograma postado.

Enviar relatório final até 10/05/2017, via Plataforma Brasil, contemplando as questões relativas aos Critérios Éticos da pesquisa:

- a) Houve ocorrência de fatos relevantes que alteraram o curso normal do estudo?
- b) Foram feitas eventuais modificações ou emendas ao projeto de pesquisa?
- c) A pesquisa foi concluída de acordo com o protocolo aprovado pelo CEP UnG ?

GUARULHOS, 10 de Abril de 2015

---

**Assinado por:**  
**Regina de Oliveira Moraes Arruda**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Praça Tereza Cristina, 229

**Bairro:** Centro

**CEP:** 07.023-070

**UF:** SP

**Município:** GUARULHOS

**Telefone:** (11)2464-1779

**Fax:** (11)2464-1187

**E-mail:** comite.etica@ung.br