

## EFEITO DA OSTEOPENIA E ALGUNS TRATAMENTOS NA DENSIDADE ÓPTICA DA TÍBIA DE RATAS OVARIECTOMIZADAS

**Gabriela Esteves de Campos<sup>1</sup>, Evelyn Luzia de Souza Santos<sup>2</sup>, Renata Falchete do Prado<sup>3</sup>, Vanessa Ávila Sarmiento Silveira<sup>4</sup>, Yasmin Rodarte Carvalho<sup>5</sup>**

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” / Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Avenida Francisco José Longo, 777, São José dos Campos – SP; CEP : 12245-000, gab.esteves@hotmail.com

**Resumo-** A osteoporose caracteriza-se por perda óssea, resultando em fraturas. Empregou-se o modelo experimental de osteoporose em ratas a fim de analisar a perda óssea nas tíbias, bem como a influência da dieta pobre em cálcio e de tratamentos com estrógeno ou isoflavonas da soja. Utilizaram-se 108 ratas: 90 ovariectomizadas e 18 falso-operadas (Sham). Das ovariectomizadas, 18 receberam ração pobre em cálcio. As demais receberam ração padrão e os tratamentos: 1mg/kg/dia de valerato de 17 $\beta$ -estradiol, 15mg/kg/dia de extrato de isoflavonas a 40%, associação de ambos ou água (grupo OVZ). Os sacrifícios ocorreram 3, 5 e 8 semanas após a ovariectomia. Realizaram-se radiografias digitais e análise de densidade óptica pelo programa *Image J*. A análise de variância não diferiu entre os grupos Sham e OVZ. A associação de isoflavonas e estrógeno causou aumento significativo da densidade óptica (p=0,003). Conclui-se que alterações ósseas causadas pela deficiência hormonal ou sua associação à deficiência em cálcio não são passíveis de observação por radiografias digitais. Já a terapia de reposição estrogênica associada às isoflavonas da soja revela-se tratamento efetivo capaz de aumentar a densidade óptica de tíbias.

**Palavras-chave:** estrógeno; tíbia; remodelação óssea; osteoporose; densidade óptica.

**Área do Conhecimento:** IV Ciências da Saúde - Odontologia

### Introdução

A osteoporose é uma doença caracterizada pelo aumento da porosidade do esqueleto resultando na diminuição da massa óssea. Assim os ossos tornam-se susceptíveis às fraturas (Robling et al. 2006). Apesar de poder ser secundária a várias condições, as formas de osteoporose mais comuns são as que se desenvolvem no envelhecimento e na pós-menopausa (Rosenber, 2005).

Um modelo experimental que simula a deficiência estrogênica pós-menopausa em mulheres é a ovariectomia de ratas, a qual resulta na diminuição dos níveis de estrógeno (Sims et al., 1996). Como resultado, a ovariectomia causa perda óssea em ossos como a tíbia (Sakakura et al. 2001).

Cai et al. (2005) administraram proteína da soja, extrato de isoflavonas e estrógeno para ratas ovariectomizadas. Após a análise histomorfométrica e de densidade mineral óssea do fêmur, os autores verificaram que o estrógeno preveniu a osteopenia, entretanto o extrato de isoflavonas e as proteínas da soja nas doses testadas não tiveram efeito preventivo sobre as conseqüências da deficiência estrogênica. Entretanto, em seu estudo sobre a reparação óssea de defeitos em tíbias de ratas ovariectomizadas e tratadas com associação de

isoflavonas da soja e estrógeno, Silveira (2004) verificou um efeito aditivo desta terapia combinada, quando comparada com a de reposição estrogênica, sobre o volume ósseo da área de reparo.

Hara et al. (2001) estudaram tíbias, mandíbulas e maxilas por meio de análise histomorfométrica e verificaram que a perda óssea de ratas com osteoporose foi agravada com uma dieta deficiente em cálcio.

Tendo em vista a necessidade do esclarecimento da relação entre a osteoporose e a perda óssea nas tíbias, tanto induzida por deficiência estrogênica quanto pela dieta deficiente em cálcio, delineamos um estudo com diversos grupos experimentais, que visa explorar tal perda óssea, bem como possíveis tratamentos.

### Metodologia

Foram utilizadas 108 ratas adultas (*Rattus norvegicus*, variação *albinus*, Wistar) com 90 dias de idade, peso aproximado de 300g. Estes animais foram aleatoriamente divididos em:

a) ovariectomizados - constituído por 90 animais, os quais foram submetidos à ovariectomia;

b) Sham - constituído por 18 animais, os quais foram falsamente operados.

De acordo com o tratamento recebido os animais ovariectomizados foram ainda

a) Grupo Isoflavonas (ISO) – constituído por 18 ratas, as quais receberam 15mg/kg/dia, de extrato de isoflavonas a 40% via oral;

b) Grupo Estrógeno (EST) - constituído por 18 ratas, as quais receberam 1mg/kg/dia de valerato de 17 $\beta$ -estradiol via oral;

c) Grupo Associação (ASS) - constituído por 18 ratas, as quais receberam 1mg/kg/dia de valerato de 17 $\beta$ -estradiol associado a 15mg/kg/dia de extrato de isoflavonas a 40% via oral;

d) Grupo Ovariectomizado placebo (OVZ) - constituído por 18 ratas, as quais receberam placebo (água), via oral.

e) Grupo Ração Especial (ESP) - constituído por 18 ratas, as quais receberam placebo (água), via oral e foram alimentadas com ração (dieta AIN-93M 0,1% de cálcio e 0,5% de fósforo).

Os 18 animais do grupo Sham também receberam placebo (água) via oral, diariamente. Foi realizada a eutanásia dos animais 3, 5 e 8 semanas após a ovariectomia. As tíbias direitas foram removidas e fixadas em solução de formol a 10% e em seguida submetidas à análise radiográfica digital. Cada tíbia foi posicionada sobre o sensor, com face média voltada para o aparelho de RX. As radiografias foram feitas com distância foco-objeto de 40 cm e tempo de exposição de 0,02s. Foi analisada a região central da tíbia, logo abaixo do joelho, com utilização do programa Image J (domínio público), determinando a densidade óssea em tons de cinza.

## Resultados

Os dados foram comparados estatisticamente segundo três abordagens. Na primeira, foram considerados os efeitos dos fatores: ovariectomia e do tempo de sacrifício na remodelação óssea, e efetuado o teste de análise de variância (ANOVA, dois fatores). Na segunda abordagem, foram considerados os efeitos do tratamento e do tempo de sacrifício na remodelação óssea nas ratas ovariectomizadas. Para esses dados foi efetuado também o teste ANOVA, dois fatores e o teste de Tukey (5%). Na terceira abordagem, os grupos ovariectomizados que receberam ração comercial padrão ou ração deficiente em cálcio foram comparados pelo teste ANOVA, dois fatores (tempo de sacrifício e dieta).

subdivididos em grupos:

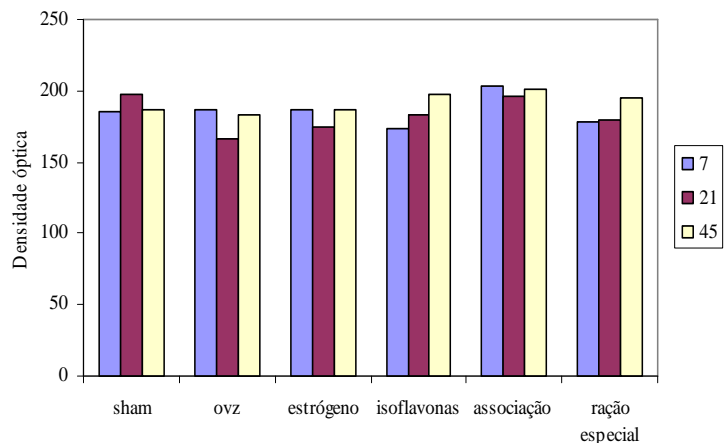


Figura 1 – Gráfico correspondente às médias das densidades radiográficas dos grupos conforme o tempo de sacrifício

A densidade do grupo OVZ verificada aos 21 dias foi menor que as demais. Também se observou que o maior valor de densidade foi obtido aos sete dias no grupo que recebeu valerato de 17 $\beta$ -estradiol associado ao extrato de isoflavonas a 40% (Figura 1).

A comparação pelo teste ANOVA (Tabela 1) revelou algumas diferenças estatísticas entre os grupos ovariectomizados com relação aos medicamentos administrados, quando comparados com o grupo controle ovariectomizado que recebeu água como placebo ( $p=0,03$ ).

Tabela 1 - Análise de variância para os dados de densidade radiográfica da região proximal da diáfise da tíbia, logo abaixo do joelho tendo como variáveis o tempo de sacrifício e os tratamentos.

	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	p
Tempo de Sacrifício	2	1725,8	862,90	2,82	0,068
Hormônio	3	4681,8	1560,59	5,09	0,003
Interação	6	2137,2	356,20	1,16	0,339
Erro	60	18390,8	306,51		
Total	71	26,935,6			

A comparação pelo teste de Tukey revelou a formação de dois grupos homogêneos conforme o tipo de medicamento, sendo que o grupo com maior média de densidade óssea foi o ASS (Tabela 2).

Tabela 2 – Teste de Tukey para os dados referentes à densidade radiográfica da tíbia. \*médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente

Grupos	Média	Grupos Homogêneos
ASS	199,88	A
ISO	184,79	AB
EST	182,56	B
OVZ	178,59	B

### Discussão

A densidade óptica do grupo OVZ aos 21 dias foi menor que as demais, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. Na osteoporose ocorre uma redução da capacidade de remodelação do tecido ósseo, o que provavelmente também ocorre na reparação. Silveira (2004) verificou menor densidade radiográfica aos 7 dias de reparação de defeitos ósseos, comparando ratas ovariectomizadas e Sham operadas, diferença esta não encontrada no presente trabalho. Possivelmente a alteração óssea decorrente da osteoporose é mais acentuada no processo de reparação, como observado por Silveira (2005).

Observou-se maior densidade óptica no grupo que recebeu o tratamento com associação de estrógeno e isoflavonas. Esta diferença foi significativa com relação aos grupos que receberam estrógeno ou placebo, indicando que parece haver um efeito aditivo quando o hormônio e o extrato de isoflavonas são utilizados conjuntamente.

### Conclusão

As alterações ósseas causadas pela deficiência hormonal ou sua associação à deficiência em cálcio não são passíveis de observação por radiografias digitais. Já a terapia de reposição estrogênica associada às isoflavonas da soja revela-se tratamento efetivo capaz de aumentar a densidade óptica de tíbias.

### Referências

- CAI, D.J. et al. Comparative effect of soy protein, soy isoflavones, and 17beta-estradiol on bone metabolism in adult ovariectomized rats. **J Bone Miner Res.** 20(5): 828-39, 2005 May.

- HARA T.; SATO T.; OKA M.; MORI S.; SHIRAI H. Effects of ovariectomy and/or dietary calcium deficiency on bone dynamics in the rat hard palate, mandible and proximal tibia. **Arch Oral Biol.**; 46(5):443-51, 2001 May.

- ROBLING A.G.; CASTILLO A.B.; TURNER C.H. Biomechanical and Molecular Regulation of Bone Remodeling. **Annu. Rev. Biomed. Eng.** 8:455- 98, 2006.

- ROSENBER A.E. Bone, joints and soft tissue tumors. In: KUMAR,V.; ABBAS A.K.; ROBBINS, F.N. Robbins and COTRAN **Pathologic Basis of disease.** Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.

- SAKAKURA Y.; SHIDE N.; TSURUGA E.; IRIE K.; YAJIMA T. Effects of running exercise on the mandible and tibia of ovariectomized rats. **J Bone Miner Metab.** 2001,19(3):159-67, 2001.

- SILVEIRA V.A.S. Efeito das isoflavonas, da terapia de reposição hormonal estrogênica e da associação de ambos na reparação óssea de ratas ovariectomizadas. 2004. 149f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal, Área de concentração em Biopatologia Bucal) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos, 2004.

- SIMS N.A.; MORRIS H.A.; MOORE R.J.; DURBRIDGE T.C.; Estradiol treatment transiently increases trabecular bone volume in ovariectomized rats. **Bone.** 1996, 19(5):455-61, 1996.

