

ANÁLISE HISTOLÓGICA DOS EFEITOS DA SUSPENSÃO DO ALENDRONATO NA REPARAÇÃO DO ALVÉOLO DENTAL PÓS EXODONTIA EM RATOS

Claudia Yumi Maeda¹; Paula Sena da Mata²; Rosilene Tobias Audi Rosanova³; Marcelo Marcucci⁴

Estudante do Curso de Odontologia; e-mail: cymj14@hotmail.com¹

Estudante do Curso de Odontologia; e-mail: psmata@outlook.com.br²

Estudante do Curso de Odontologia; e-mail: rosilenetaudi@gmail.com³

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: marcucci21@gmail.com⁴

Área do conhecimento: Ciências da Saúde, Odontologia

Palavras-chave: Alendronato; suspensão; reparação do alvéolo dental

INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional e o aumento da expectativa de vida levam a uma maior prevalência das doenças crônicas degenerativas, entre elas a osteoporose e o câncer. Os bisfosfonatos são análogos sintéticos do pirofosfato e representam uma classe de medicamentos antirreabsortivos utilizados no controle e tratamento de distúrbios do cálcio e do metabolismo ósseo caracterizadas por aumento da reabsorção óssea, como a osteoporose, doença de Paget, osteogênese imperfeita, osteopenia, mieloma múltiplo e hipercalcemia maligna decorrente de metástases ósseas de algumas neoplasias, como a mama, próstata ou pulmões (di NISIO et al., 2015). Atualmente no Brasil, apenas o etidronato não está aprovado para uso pela ANVISA, enquanto que o alendronato, o risedronato e o pamidronato foram incorporados pelo Sistema Único de Saúde (CVS, 2013). O alendronato passou a ter a sua distribuição disponibilizada pelo Programa de Atenção Básica devido a uma parcela significativa da população brasileira se encontrar acometida pela osteoporose, além deste medicamento ser o mais prescrito no início do tratamento desta doença. A prevalência da osteoporose no Brasil varia de 15 a 33% (BACCARO et al., 2015). Apesar da elevada eficácia clínica, a terapia com estes medicamentos tem sido associada a uma importante complicação denominada de osteonecrose dos maxilares relacionada ao uso de bisfosfonatos (OMRB), sendo mais comum acometer a mandíbula (73 %) do que a maxila (22,5 %) ou em ambas estruturas (4,5 %) (RUGGIERO et al., 2014). A exodontia é considerada o principal fator de risco para o desenvolvimento da OMRB. Vários estudos têm demonstrado que de 52 a 61% dos pacientes relataram a exodontia como evento desencadeador (RUGGIERO et al., 2014). Embora não haja estudos experimentais avaliando a relação entre a suspensão da terapia com bisfosfonatos e a diminuição do risco e da evolução da OMRB, a AAOMS indica a interrupção do medicamento antes e depois de uma intervenção cirúrgica odontológica para pacientes que apresentem condições sistêmicas favoráveis para esta conduta (RUGGIERO et al., 2014). Encontram-se na literatura modelos animais em que foram avaliadas as alterações histológicas após uma intervenção cirúrgica odontológica sem modificar o protocolo medicamentoso com bisfosfonatos durante o estudo (MAAHS et al., 2011). Entretanto, não são encontrados trabalhos com a proposta de avaliar os efeitos da suspensão de um bisfosfonato na reparação do alvéolo dental pós exodontia. Considerando que o alendronato é um bisfosfonato amplamente prescrito no tratamento de doenças ósseas, principalmente da osteoporose, distúrbio que tende a aumentar no país

devido ao envelhecimento populacional, torna-se necessário um estudo experimental em animais realizando a interrupção da terapêutica com o alendronato no período pré-cirúrgico (exodontia), para avaliar se esta indicação possui o potencial de diminuir o risco do desenvolvimento da OMRB, e focalizando a análise histológica do seu efeito sobre o osso do processo alveolar após a extração dentária feita na mandíbula.

OBJETIVOS

Avaliar histologicamente e comparar, em ratos medicados com alendronato, a reparação do alvéolo dental dos grupos: que interrompeu a terapêutica antes da intervenção cirúrgica odontológica (exodontia do segundo molar inferior do lado direito) e o que recebeu o bisfosfonato durante todo o período.

METODOLOGIA

Foram utilizados 45 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) com 7 semanas de vida pesando em média 200g, obtidos através do Biotério da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC), após aprovação do projeto pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UMC (Protocolo: 008/2015). Os animais foram mantidos no Biotério da UMC. A ração e a água dos animais foram retiradas 30 minutos antes e após a administração por via oral do alendronato. Após este período, possuíam acesso à ração padrão e água *ad libitum*. Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos, e em seguida, em 9 subgrupos:

a) Grupo Alendronato 1 (AL1) – 15 animais aos quais foram administrados o alendronato somente nas primeiras 4 semanas do estudo e que foram submetidos às exodontias na 12ª semana

- AL1-7: 5 animais foram eutanasiados 7 dias após as exodontias;
- AL1-14: 5 animais foram eutanasiados 14 dias após as exodontias;
- AL1-28: 5 animais foram eutanasiados 28 dias após as exodontias.

b) Grupo Alendronato 2 (AL2) – 15 animais aos quais foram administrados o alendronato até a data da cirurgia, realizada na 12ª semana:

- AL2-7: 5 animais foram eutanasiados 7 dias após as exodontias;
- AL2-14: 5 animais foram eutanasiados 14 dias após as exodontias;
- AL2-28: 5 animais foram eutanasiados 28 dias após as exodontias.

c) Grupo Controle (CT) – 15 animais aos quais foram submetidos às exodontias na 12ª semana sem fazerem uso de alendronato:

- CT-7: 5 animais foram eutanasiados 7 dias após as exodontias;
- CT-14: 5 animais foram eutanasiados 14 dias após as exodontias;
- CT-28: 5 animais foram eutanasiados 28 dias após as exodontias.

Foram administradas duas doses semanais de 1mg/kg de alendronato (Alendronato dissódico, Galena Química, Nature's Farmácia) quimicamente puro diluído em água destilada, via gavagem com auxílio de uma sonda acoplada a uma seringa de insulina de 1ml, para que a solução fosse injetada diretamente no trato gastrointestinal. Para a realização das exodontias, foi injetada por via intraperitoneal uma solução com cloridrato de cetamina (Dopalen®, CEVA), 60mg/kg, associado ao cloridrato de xilazina (Anasedan®, CEVA), 5mg/kg. Após a instalação da anestesia, a abertura da boca foi mantida com elásticos ancorados nos incisivos superiores e inferiores, distendidos e fixados à mesa operatória. Antes das intervenções cirúrgicas na mandíbula, as regiões extra e intra-bucal dos animais foram submetidas a assepsia com clorexidina a 0,12%. O segundo molar inferior do lado direito foi extraído realizando-se sindesmotomia com hollemback 3ss adaptado, movimentos de alavanca com hollemback 3ss e, luxados e removidos com auxílio de uma pinça de sutura adaptada. Durante o procedimento, a bochecha do lado direito foi afastada com uma espátula suprafill nº 2 e a língua, com uma espátula 24F. Para analgesia dos animais, foi administrado 200mg/kg de paracetamol por meio de gavagem a cada 12 horas durante 2 dias. Nas respectivas datas, os animais foram

eutanasiados com sobredose de CO₂ para dissecação da hemi-mandíbula do lado direito. As amostras foram previamente tratadas com solução de formol a 10% (v/v) e desidratadas em banhos de álcool em ordem crescente até o último banho em álcool 100%, com trocas após 24, 36 e 56 horas, para a descalcificação as peças foram colocadas em ácido sulfúrico por 3 semanas e incluídas em parafina, passando por todas as etapas do processo histológico. Para a análise, a região correspondente a cada alvéolo dentário foi submetida a 5 cortes longitudinais semiseriados com espessura de 4µm e corada pelo método hematoxilina-eosina. As imagens serão capturadas por câmera digital acoplada ao microscópio e transferidas para computador onde foram analisadas com auxílio do programa Image Pro Plus 6.0. O programa permite a captura da imagem digital com possibilidade de inserção de grade de correção, marcação e contagem das seguintes variáveis: osso vital, infiltrado inflamatório, tecido epitelial e tecido conjuntivo fibroso.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A constatação de que os animais dos grupos AL1 e AL2 não exibiram lesões na mucosa oral durante a oroscopia realizada previamente às exodontias sustenta a ideia de que as lesões detectadas futuramente estavam associadas com o procedimento cirúrgico e com a utilização de bisfosfonatos. Ao exame macroscópico, após a eutanásia, todos os animais exibiram perda da integridade da mucosa na região onde foi realizada a exodontia. Maahs et al. (2011) realizaram um estudo com um grupo de 11 ratos medicados semanalmente com 0,05mg/kg de alendronato por meio de gavagem, por 23 semanas e os molares superiores do lado direito foram extraídos após 45 dias decorridos do início do estudo. A eutanásia foi realizada depois de 150 dias do início do experimento, e, 8 animais apresentaram solução de continuidade da mucosa no exame macroscópico, porém nenhum animal exibiu osteonecrose por microscopia. No presente estudo, as duas doses semanais de 1mg/kg de alendronato de sódio por via oral provocou áreas de manifestação leve de osso necrótico nos alvéolos da mandíbula de ratos após exodontia do segundo molar, a qual foi mais detectada no período de pós-operatório de 14 dias do grupo que não suspendeu o tratamento com alendronato (AL2). Na avaliação histológica deste trabalho, foi possível observar um atraso na formação do tecido epitelial dos animais do grupo AL2 em comparação com o grupo AL1. A formação do tecido epitelial do grupo AL1 aumentou entre o pós-operatório de 7 a 14 dias, enquanto que no grupo AL2, entre o pós-operatório de 14 a 28 dias. Segundo Lee et al. (2015), o alendronato inibe a expressão de IL-8, VEGF e colágeno tipo I, alterando, desse modo, os eventos de cura e migração celular dos queratinócitos, promovendo apoptose destas células. Tal efeito inibidor poderia desempenhar um papel importante no atraso da reparação alveolar ou na iniciação da OMRB. Um outro aspecto a ser considerado é a dose de alendronato utilizado. As diferenças metodológicas entre os modelos animais impossibilitam o esclarecimento definitivo deste efeito colateral. No presente estudo, foi utilizada como referência a dose semanal de 70mg de alendronato para uma pessoa de peso médio de 70kg. Assim, ao considerar que o rato possui um metabolismo dobrado quando comparado ao do homem, a dose escolhida foi de 1mg/kg duas vezes por semana. A ampla utilização dos bisfosfonatos tem configurado uma contradição na área biomédica. Do mesmo modo em que representaria a resolução no controle e tratamento de desordens do cálcio caracterizadas por aumento da reabsorção óssea, esse grupo de medicamentos representaria também o risco para o desenvolvimento da OMRB.

CONCLUSÕES

Atualmente o trabalho está em fase de análise estatística dos resultados obtidos. Com base nos resultados histológicos desta pesquisa, observou-se que a suspensão do alendronato

de sódio por via oral pode estar associada à diminuição da manifestação leve de osso necrótico na mandíbula de ratos após a exodontia. O uso contínuo do medicamento pode resultar em um maior atraso da reparação alveolar e da formação de tecido epitelial em comparação ao uso com suspensão previamente à exodontia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACCARO, L. F.; CONDE, D. M.; COSTA-PAIVA, L.; et al. The epidemiology and management of postmenopausal osteoporosis: a viewpoint from Brazil. *Clinical Interventions in Aging*, v. 10, p. 583-591, 2015.

CVS - CENTRO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA DA SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DE SÃO PAULO. Alerta terapêutico em farmacovigilância – 02/2013. Disponível em: <http://www.cvs.saude.sp.gov.br/up/ALERTA%20TERAP%C3%8AUTICO%2011%20Bisfosfonatos.pdf>. Acesso em: 30 dez 2015.

di NISIO, C.; ZIZZARI, V. L.; ZARA, S.; et al. RANK/RANKL/OPG signaling pathways in necrotic jaw bone from bisphosphonate-treated subjects. *European Journal of Histochemistry*, v. 59, n. 2455, p. 45-50, 2015.

LEE, J. Y.; KIM, I. R.; PARK, B. S.; et al. Effect of low-level laser therapy on oral keratinocytes exposed to bisphosphonate. *Lasers in Medical Science*, v. 30, n. 2, p. 635-643, 2015.

MAAHS, M. P.; AZAMBUJA, A. A.; CAMPOS, M. M.; et al. Association between bisphosphonates and jaw osteonecrosis: a study in Wistar rats. *Head and Neck*, v. 33, n. 2, p. 199-207, 2011.

RUGGIERO, S. L.; DODSON, T. B.; FANTASIA, J.; et al. Position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw – 2014 update. *American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, p. 1-26, 2014.

AGRADECIMENTOS

AO PROF. MARCELO MARCUCCI PELA ORIENTAÇÃO PRESTADA E PELA SUA CONTRIBUIÇÃO NA MINHA FORMAÇÃO ACADÊMICA. ÀS MINHAS AMIGAS PAULA SENA E ROSILENE AUDI PELO AUXÍLIO, COMPANHEIRISMO E AMIZADE. AO PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UMC POR OFERECER OPORTUNIDADE DE FORMAÇÃO CIENTÍFICA AOS ALUNOS DE GRADUAÇÃO. AO PROF. FABIANO VASCONCELOS QUE ADAPTOU A PINÇA DE SUTURA. À PROF^a. TATIANA MELLO, GESTORA DO CURSO DE ODONTOLOGIA DA UMC, PELO APOIO. AO PROF. GUILHERME MATSUTANI QUE COLABOROU NA MANIPULAÇÃO DA SOLUÇÃO DE ALENDRONATO. À D. F. VASCONCELOS POR DISPOR O MICROSCÓPIO DE BANCADA BINOCULAR. AOS FUNCIONÁRIOS DO BIOTÉRIO UMC PELO AUXÍLIO NO CUIDADO COM OS ANIMAIS DE LABORATÓRIO. À DR^a KARINE PIÑERA PELO AUXÍLIO NA ANÁLISE DAS IMAGENS HISTOLÓGICAS.