

Ação Local do Alendronato Sódico na Reparação Óssea de Ratos Espontaneamente Hipertensos (SHR)

Local Action of Sodium Alendronate in Bone Repair of Spontaneously Hypertensive Rat (SHR)

Mônica Dal Pian Nobre¹, Raquel Guedes Fernandes^{1,2}, Chung Man Chin³, Horácio Faig-Leite¹

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP)¹, Faculdade de Pindamonhangaba (FAP)², Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP)³ - São José dos Campos, Pindamonhangaba, Araraquara, SP - Brasil

Resumo

Fundamento: A hipertensão arterial é uma desordem caracterizada por alterações relevantes no tecido ósseo. O alendronato sódico tem indicação no tratamento de doenças ósseas, por causa de sua afinidade pela hidroxiapatita, inibindo as reabsorções ósseas.

Objetivo: Analisar a ação local do alendronato sódico na reparação óssea de ratos espontaneamente hipertensos (SHR).

Métodos: Um defeito ósseo foi criado no fêmur esquerdo de 80 ratos. De acordo com o material utilizado no local, criaram-se quatro grupos: controle (C), amido (Am), alendronato 1 mol (A1) e alendronato 2 mol (A2). Após 7 e 21 dias, os animais foram sacrificados. Foram realizadas análises histológicas e histomorfométricas e os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey (5%).

Resultados: Aos 7 dias, observou-se, na área do defeito, tecido conjuntivo com hemorragia e inflamação em todos os grupos. Alguns apresentavam matriz osteóide. Os grupos A1 e A2 apresentaram, ainda, uma rede de fibrina. Aos 21 dias, as trabéculas ósseas fechavam praticamente a extensão do defeito nos grupos C e Am. No grupo A1 de animais machos, observaram-se trabéculas que se irradiavam do canal medular até a área do defeito. Nos grupos A1 e A2, constatou-se apenas a presença de tecido conjuntivo com mínima deposição de osteóide. Um achado histológico marcante foi a formação de tecido ósseo extracortical subperiosteal nos animais dos grupos A1 e A2.

Conclusão: Concluiu-se que a administração do alendronato sódico não contribuiu para o reparo ósseo nos ratos SHR, mas possivelmente tenha sido responsável pelas formações ósseas extracorticais observadas. (Arq Bras Cardiol 2008; 90(4): 261-268)

Palavras-chave: Alendronato, ratos endogâmicos SHR, hipertensão, regeneração óssea.

Summary

Background: The arterial hypertension is a disorder characterized by relevant alterations in the bone tissue. The sodium alendronate is indicated in the treatment of bone diseases, because of its affinity with the hydroxyapatite, inhibiting the bone reabsorptions.

Objective: To analyze local action of the sodium alendronate in the bone repair of spontaneously hypertensive rat (SHR).

Methods: A bone defect was created in the left femur of 80 rat. In agreement with the material used at the place, four groups were created: control (C), starch (St), alendronate 1 mol (A1) and alendronate 2 mol (A2). After 7 and 21 days, the animals were sacrificed. Histomorphometrical and histological analyses were accomplished and the data were submitted the variance analysis (ANOVA) and test of Tukey (5%).

Results: At 7 days, in the area of the defect, conjunctive tissue with hemorrhage and inflammation in all of the groups was observed. Some presented osteoid matrix. The groups A1 and A2 presented, further, a fibrin net. At 21 days, the bone trabeculae practically closed the extension of the defect in the groups C and St. In the group A1 of male animals, trabeculae were observed that irradiated from the medullary canal to the area of the defect. In the groups A1 and A2, only presence of conjunctive fabric with low osteoid deposit was observed. An outstanding histological discovery was the formation of extracortical subperiosteal bone tissue in animals of the groups A1 and A2.

Conclusion: The administration of sodium alendronate did not contribute to bone repair in SHR rat, but possibly has been responsible for the extracortical bone formation observed. (Arq Bras Cardiol 2008; 90(4): 239-246)

Key words: Alendronate; rats, inbred SHR; hypertension; bone regeneration.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Mônica Dal Pian Nobre •

Avenida Lúcio Costa, 17600/103, Recreio dos Bandeirantes, 22795-006, Rio de Janeiro, RJ - Brasil

E-mail: modalpian@gmail.com

Artigo recebido em 30/07/2007; revisado recebido em 01/10/2007; aceito em 14/11/2007.

Introdução

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) consiste numa desordem de grande prevalência na população mundial, que pode causar alterações metabólicas no tecido ósseo dos indivíduos¹⁻⁴.

Está comprovada a relação existente entre as alterações do metabolismo do cálcio e a tendência à perda óssea e à diminuição da densidade mineral óssea nos indivíduos hipertensos. As principais alterações do metabolismo do cálcio evidenciadas na HAS estão representadas pela elevação dos níveis do paratormônio sérico e do cálcio sérico ionizado, pela diminuição do conteúdo de cálcio ósseo e pela hipercaleiúria¹⁻⁴.

Os ratos espontaneamente hipertensos (SHR) têm sido empregados como modelo de estudo da hipertensão arterial, já que estes animais reproduzem a doença com muita similaridade àquela manifestada nos humanos, por apresentarem as mesmas anormalidades no metabolismo do cálcio^{2,5-6}. Além disso, os SHR são considerados animais osteopênicos, uma vez que apresentam alta taxa de remodelação do esqueleto, com predomínio da reabsorção óssea sobre o processo de neoformação óssea⁷.

Apesar dos estudos demonstrarem que a HAS afeta o metabolismo do tecido ósseo, pouco se conhece a respeito da influência dessa doença especificamente na reparação óssea. Pereira e cols.⁸ constataram que a formação óssea em animais hipertensos foi maior que a observada em normotensos.

Uma vez que se reconhecem as alterações ósseas presentes em indivíduos com hipertensão arterial, utilizou-se neste estudo o alendronato sódico como medicamento no local do defeito ósseo, a fim de observar seus efeitos na reparação óssea nos SHR.

O alendronato sódico é um medicamento do grupo dos bisfosfonatos, amplamente utilizado no tratamento de doenças caracterizadas pela reabsorção óssea⁹⁻¹⁰. Entretanto, poucas são as pesquisas referentes ao seu uso, local ou sistêmico, estimulando a formação óssea¹¹⁻¹⁴. A forma de administração e a dosagem são fatores importantes a serem elucidados, já que existem controvérsias a respeito do real mecanismo de ação deste medicamento e da sua ação sobre o tecido ósseo dos indivíduos hipertensos.

Métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - São José dos Campos (Protocolo n° 013/2006-PA/CEP).

Um defeito ósseo monocortical de 2,5 mm de diâmetro foi criado na região proximal da diáfise do fêmur esquerdo de oitenta ratos espontaneamente hipertensos (quarenta machos e quarenta fêmeas). Os animais apresentavam seis meses de idade e pesavam aproximadamente 300g.

Foram criados quatro grupos experimentais de vinte animais: C (controle), Am (amido), A1 (alendronato 1mol) e A2 (alendronato 2mol). No grupo controle (C) os ratos foram submetidos apenas à cirurgia, não recebendo preenchimento do defeito. Os animais do grupo amido (Am), após o ato cirúrgico, receberam apenas o amido, excipiente utilizado

no experimento. Os animais do grupo (A1) receberam 1mol de alendronato sódico, associado ao amido, para o completo preenchimento do defeito ósseo. Finalmente, o grupo (A2) teve o defeito cirúrgico totalmente preenchido por 2mol de alendronato sódico, também associado ao amido.

Seguindo o protocolo desenvolvido por Fernandes¹², foi realizada a administração local de alendronato sódico na quantidade de 1mol (A1) e 2mol (A2) para o preenchimento dos defeitos ósseos. As proporções dos materiais foram calculadas de acordo com o peso molecular (PM) do alendronato sódico, que equivale a 325g/mol. O cálculo das quantidades em peso foi realizada utilizando-se 0,01mol para mensurarmos quantias volumétricas apropriadas ao tamanho do defeito ósseo, isto é, utilizamos 3,25g no grupo experimental A1 e 6,5g no grupo experimental A2. Com esta quantidade de material, preenchemos 26% do defeito com alendronato sódico no grupo A1 e 52% no grupo A2, sendo o restante dos defeitos ósseos preenchidos com 74% e 48% de amido, respectivamente.

O sacrifício dos animais foi executado por meio de anestesia e decapitação em guilhotina, decorridos sete e 21 dias da data da cirurgia. Os fêmures foram removidos, fixados em solução de formaldeído a 10% e descalcificados em solução de ácido fórmico a 20%, durante aproximadamente dez dias. Após o processamento histológico, as lâminas coradas com hematoxilina e eosina (HE), foram então examinadas sob microscopia de luz e os aspectos histológicos do osso neoformado foram avaliados em toda extensão do defeito. Foram observadas as características das trabéculas ósseas, dos espaços medulares e da remodelação do tecido. A morfologia das células ósseas e do periosteó também foi analisada e descrita.

Para a análise histomorfométrica, foram selecionados seis cortes de cada espécime e as lâminas foram fotografadas no centro do defeito com um aumento original de cem vezes. As imagens digitalizadas foram transferidas para um microcomputador e submetidas à análise histométrica da neoformação óssea, através do programa de análise de imagens Image-J (Versão 1,32 para Windows; National Institutes of Health, Bethesda, USA). Um retículo com cem pontos de intersecção equidistantes (área total de 3000 μm^2) foi posicionado sobre a imagem e os pontos que se sobrepunham ao tecido ósseo neoformado foram contados. Os valores encontrados foram transformados em médias percentuais de neoformação óssea e submetidos à análise estatística descritiva e à análise de variância a três fatores (ANOVA), utilizando como nível de significância a margem de erro de 5%. Os três fatores analisados foram: o tratamento realizado em cada grupo experimental (C, Am, A1 e A2), o sexo dos animais (macho e fêmea) e o período de observação (sete e 21 dias). Quando encontrada diferença estatisticamente significativa, foi aplicado o teste de comparação múltipla de Tukey (5%). Para a realização da análise estatística e a confecção do gráfico, utilizou-se o software Statística 6.0 e Excel 2003.

Resultados

Análise histológica

Aos sete dias, encontrava-se em todos os grupos experimentais um tecido conjuntivo frouxo, com focos de

hemorragia e infiltrado inflamatório ocupando a área do defeito ósseo. Nesse mesmo período, alguns espécimes dos grupos controle (C) e amido (Am), apresentavam focos de tecido osteóide em meio ao tecido conjuntivo (fig. 1a). Todos os espécimes referentes aos grupos alendronato 1mol (A1) e alendronato 2mol (A2) apresentavam uma rede de fibrina no tecido conjuntivo do defeito ósseo (fig. 1b). Alguns espécimes dos grupos tratados com alendronato sódico também apresentavam degeneração hidrópica no tecido conjuntivo (fig. 1b). Nesta fase, não se observava o periósteo organizado recobrindo a área do defeito ósseo.

Uma característica histológica observada aos sete dias nos grupos A1 e A2, em particular neste último, foi a presença de pequenas formações ósseas extracorticais subperiosteais na região oposta ao defeito ósseo (figs. 2a-b). O tecido ósseo extracortical subperiosteal neoformado apresentava características de tecido ósseo imaturo, com trabéculas ósseas delgadas, que se anastomosavam e limitavam amplos espaços medulares contendo tecido conjuntivo frouxo. Essa formação se mostrava mais evidente nas fêmeas quando comparada aos animais machos. O tecido neoformado continha osteócitos volumosos em grande quantidade, que se encontravam abrigados em amplas lacunas. O periósteo e o tecido muscular recobriam o tecido ósseo neoformado.

Aos 21 dias, constatava-se o fechamento do defeito em

toda a sua extensão, com a presença de um tecido ósseo neoformado que se continuava com o tecido cortical adjacente ao defeito nos grupos C e Am (fig. 3a). O tecido se mostrava formado por osso lamelar com lacunas contendo osteócitos menos volumosos e achatados (fig. 4a). Os osteoblastos de formato achatado margeavam as trabéculas ósseas. Em alguns casos, já se evidenciava a presença de linhas reversas basofílicas, sugerindo a ocorrência de remodelação óssea.

O periósteo se mostrava bem organizado nos animais dos grupos C e Am. Este se constituía por uma camada superficial de tecido conjuntivo fibroso e uma camada profunda formada por osteoblastos achatados (fig. 4a).

Nos animais machos do grupo A1, aos 21 dias, observava-se a presença de trabéculas ósseas imaturas, interpostas por tecido conjuntivo frouxo, que se irradiavam do interior do canal medular até a área do defeito, porém sem fechá-lo por completo (figs. 3b e 4b). Este achado não foi observado nas fêmeas, que apresentavam na área do defeito apenas tecido conjuntivo denso, com deposição de feixes de fibras colágenas e, em alguns casos, a deposição de matriz osteóide. Nos animais dos grupos A2, não se observava neoformação óssea com o fechamento do defeito ósseo no período de 21 dias.

As formações ósseas extracorticais subperiosteais observadas

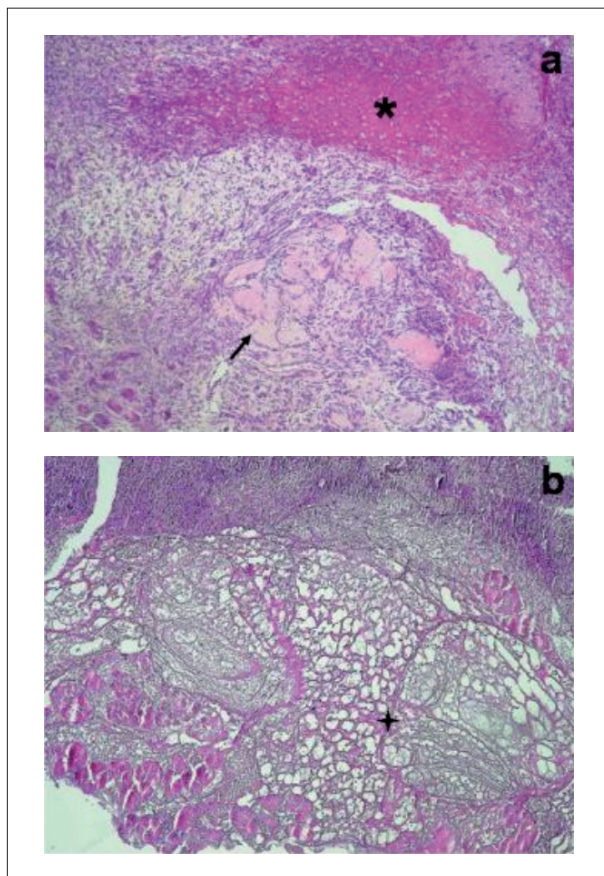


Fig. 1 - Defeito aos 7 dias: (a) Grupo Am: hemorragia (*) e focos de matriz osteóide (→). Aumento 200x. HE. (b) Grupo A1: rede de fibrina (+) e degeneração hidrópica. Aumento 200x. HE.

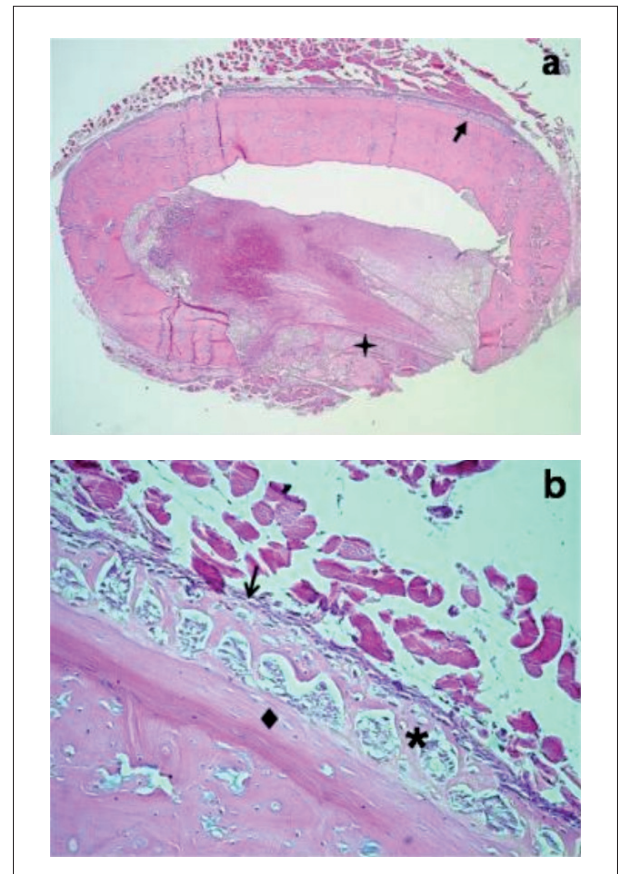


Fig. 2 - Grupo A2 aos 7 dias: (a) Vista panorâmica do defeito aos 7 dias (+) e da formação óssea extracortical subperiosteal (→). Aumento original 100x. HE. (b) Detalhe da formação óssea extracortical subperiosteal: tecido ósseo neoformado (*) recoberto pelo periósteo (→) e a cortical óssea externa (◆). Aumento original 200x. HE.

Artigo Original

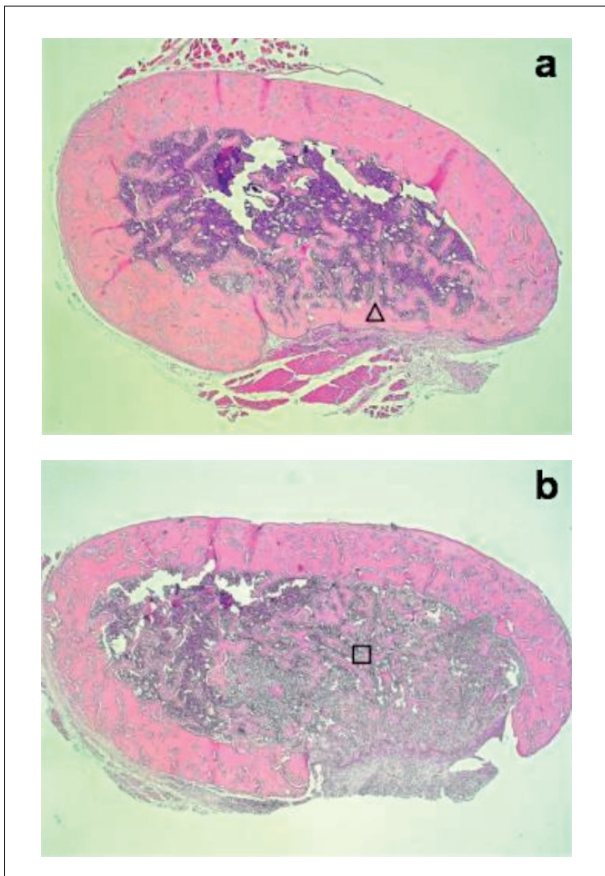


Fig. 3 - Defeito aos 21 dias: (a) Grupo C: total fechamento do defeito com tecido ósseo neoformado (Δ). Aumento original 100x. HE. (b) Grupo A1 de animais machos: trabéculas ósseas (\square) partindo da medula óssea para a área do defeito.

na região oposta ao defeito ósseo estavam presentes em todos os grupos tratados com A1 e A2 aos 21 dias e mostravam-se mais expressivas nas fêmeas quando comparado aos animais machos. O tecido encontrava-se recoberto pelo periosteio e tecido muscular. Continha osteócitos em grande quantidade, que se encontravam abrigados em lacunas de menores proporções quando comparado aos grupos de sete dias. Os espaços medulares contendo tecido conjuntivo frouxo e vasos sanguíneos também se mostravam reduzidos. O osso apresentava maior maturação (figs. 5a-b), com características evidentes de remodelação óssea, devido à presença das linhas reversas basofílicas.

Análises histomorfométrica e estatística

O resultado da análise estatística descritiva está representado por um gráfico de colunas na figura 6. O gráfico refere-se às médias percentuais e desvio-padrão dos dados da neoformação óssea nos diferentes grupos experimentais (C, Am, A1 e A2), aos sete e 21 dias, nos SHR machos e fêmeas.

A análise de variância ANOVA demonstrou que o efeito interação entre os sexos dos animais ($p=0,34$) e entre sexo e período de observação ($p=0,06$) não foi significativo. O teste de Tukey (5%) foi realizado e a formação dos grupos

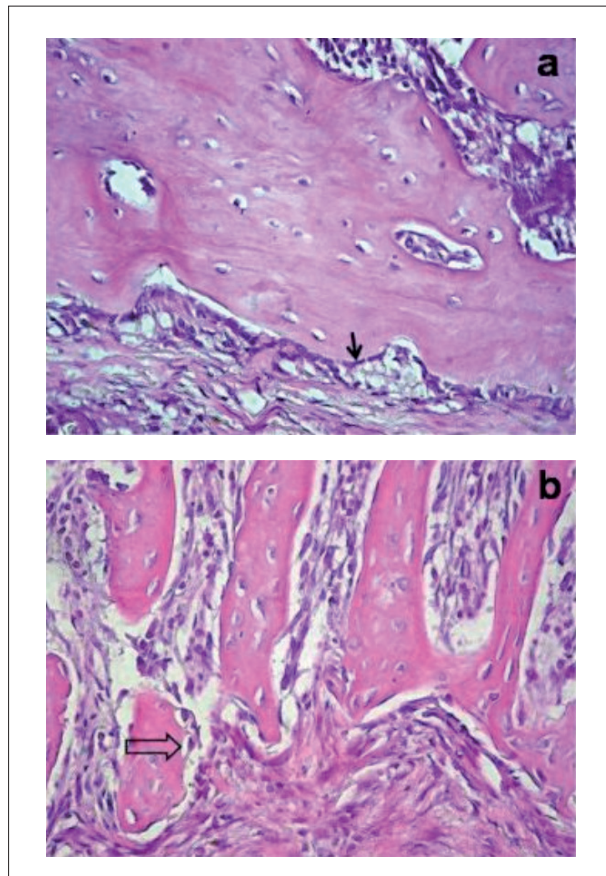


Fig. 4 - Defeito aos 21 dias: (a) Grupo C: osso maduro com organização lamelar, osteoblastos achatados formando o periosteio (\rightarrow). Aumento original 400x. HE. (b) Grupo A1 machos: trabéculas delgadas delimitando espaços com tecido conjuntivo, osteócitos volumosos em amplas lacunas (\Rightarrow). Aumento original 400x. HE.

homogêneos está representada na tabela 1.

Os resultados demonstraram que, aos sete dias, o grupo C de animais machos apresentou maior formação óssea. Aos 21 dias, os animais dos grupos C e Am exibiram maior formação óssea. O grupo A1, de animais machos, foi o único que demonstrou formação óssea na área do defeito aos 21 dias, com resultado mais próximo aos grupos C e Am. O restante dos animais tratados com alendronato aos 21 dias mostrou menor neoformação óssea na área do defeito.

Discussão

A hipertensão arterial sistêmica consiste em uma doença relacionada a alterações ósseas importantes, que pode originar principalmente a diminuição da densidade mineral óssea^{1,4,15-17}. Alguns autores sugerem que existe uma relação positiva entre as alterações dos fatores de regulação do cálcio e a tendência à perda óssea nos indivíduos hipertensos^{18,19}.

No presente estudo, avaliou-se a ação local do alendronato sódico na reparação de defeitos ósseos no fêmur de SHR, de ambos os sexos e aos sete e 21 dias. Observou-se que os SHR mostraram reparação óssea mais retardada quando comparada ao estudo de Pereira e cols.⁸

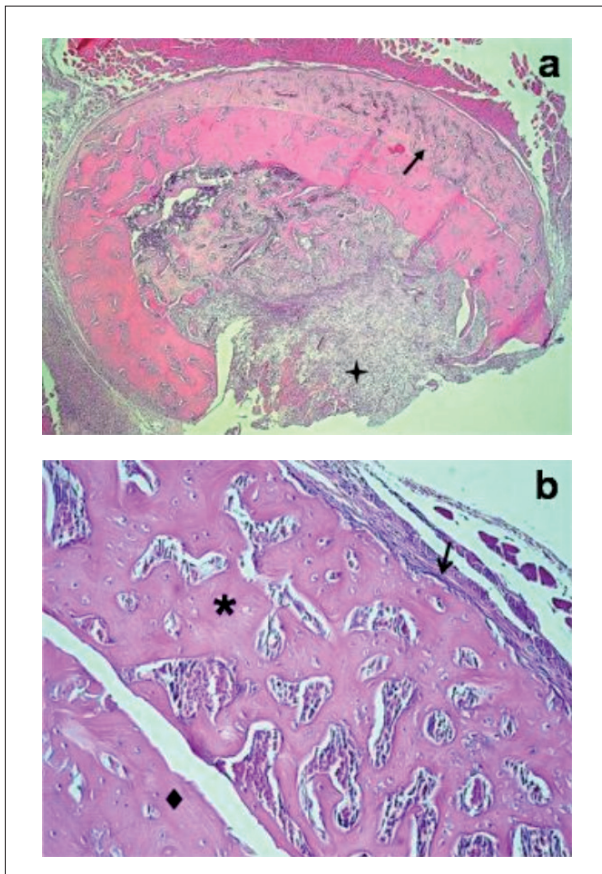


Fig. 5 - Grupo A2 aos 21 dias: (a) Vista panorâmica do defeito aos 21 dias (✦) e da formação óssea extracortical subperiosteal (→). Aumento original 100x. HE. (b) Detalhe da formação óssea extracortical subperiosteal: tecido ósseo neoformado (✱) recoberto pelo periósteo (→) e a cortical óssea externa (◊). Aumento original 200x. HE.

realizado em ratos SHR e ao estudo de Fernandes¹² em ratos normotensos WKY. Os resultados deste trabalho confirmam dados da literatura sobre a presença de alterações ósseas nos animais hipertensos.

Estudos realizados em ratos tipo SHR demonstram que, com o passar do tempo, a hipercalcúria e a ativação secundária das glândulas paratireóides levam a um menor crescimento do tecido ósseo e a uma diminuição da massa mineral óssea total^{1,5}, culminando em desordens ósseas. Na HAS, os baixos níveis de íons cálcio no soro, principalmente devido à presença de hipercalcúria, podem estimular um aumento compensatório na produção do PTH. Este é o principal hormônio relacionado com o controle do nível plasmático de cálcio no organismo, desta forma, níveis elevados de PTH tendem a contribuir para o processo de remodelação óssea, pois estimulam a atividade osteoclástica e mobilizam o cálcio presente no esqueleto, podendo levar a uma diminuição da densidade mineral óssea²⁰.

A análise histológica deste estudo mostrou resultados que diferiram daquele encontrado por Pereira e cols.⁸. O autor observou que aos sete dias, os SHR apresentavam a formação de trabéculas ósseas na maioria dos espécimes estudados. Neste estudo, no período de sete dias, a maioria dos grupos ainda apresentava um tecido conjuntivo frouxo com focos de hemorragia na área do defeito ósseo, sugerindo que a fase de substituição do coágulo por tecido de granulação não havia se completado. Alguns espécimes dos grupos C e Am apresentavam focos de tecido osteóide em meio ao tecido conjuntivo, caracterizando uma formação óssea imatura na primeira semana do experimento.

Alguns autores relatam características ósseas distintas entre os animais tipo SHR machos e fêmeas. Os estudos mostram que os animais fêmeas apresentam peso corpóreo, comprimento e volume ósseos reduzidos¹⁵ e taxas de reabsorções ósseas

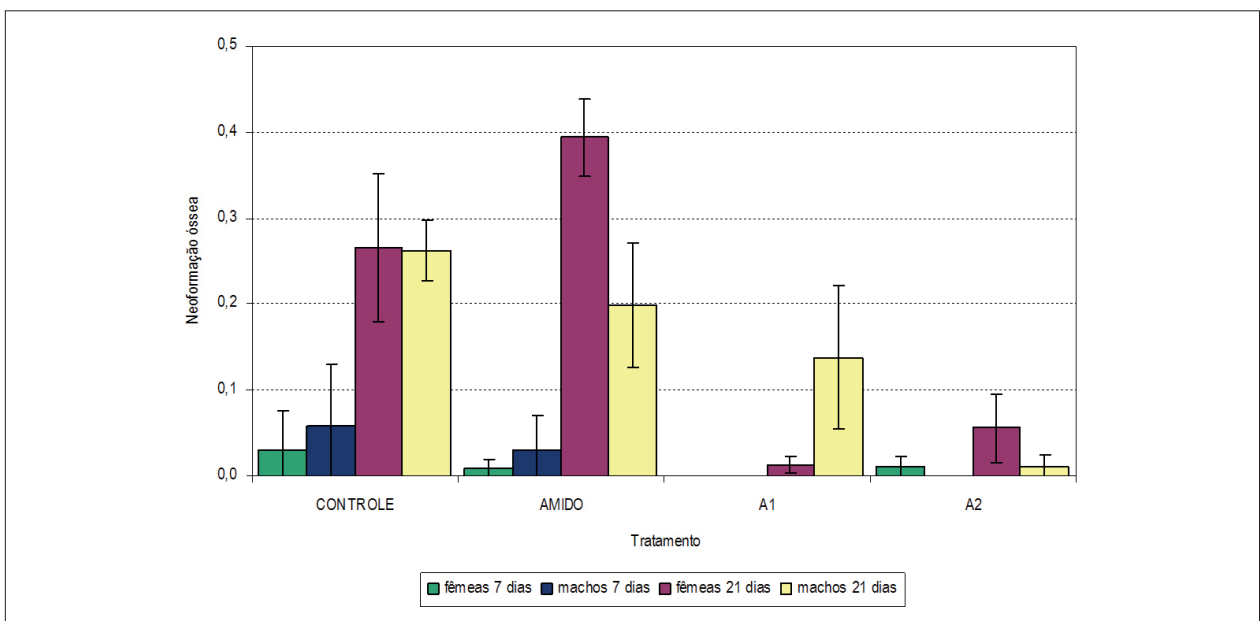


Fig. 6 - Gráfico ilustrativo das médias e desvio-padrão dos dados da neoformação óssea nos diferentes grupos experimentais, aos 7 e 21 dias, nos ratos espontaneamente hipertensos machos e fêmeas.

Tabela 1 - Formação de grupos homogêneos após o teste de Tukey (5%)

Grupo experimental	Período de observação	Sexo	Média	Grupos homogêneos		
A1	7 dias	Machos	0,00	a		
A2	7 dias	Machos	0,00	a		
A1	7 dias	Fêmeas	0,00	a		
Am	7 dias	Fêmeas	0,0086	a		
A2	7 dias	Fêmeas	0,0108	a		
A2	21 dias	Machos	0,011	a		
A1	21 dias	Fêmeas	0,0129	a		
C	7 dias	Fêmeas	0,03	a		
Am	7 dias	Machos	0,0303	a		
A2	21 dias	Fêmeas	0,056	a	b	
C	7 dias	Machos	0,0582	a	b	
A1	21 dias	Machos	0,138	b		c
Am	21 dias	Machos	0,1992	c		
C	21 dias	Machos	0,262	d		
C	21 dias	Fêmeas	0,2654	d		
Am	21 dias	Fêmeas	0,3936	e		

Grupos com letras iguais não diferem estatisticamente a 5%.

mais elevadas⁷. No entanto, Pereira e cols.⁸ observaram que o processo de reparo ósseo nos ratos normotensos e hipertensos não apresentou diferenças entre os sexos. Neste estudo não se observou diferença estatística na reparação óssea entre os sexos dos animais, somente quando se avaliou a interação do sexo com todos os outros fatores estudados.

O alendronato sódico foi utilizado como medicamento no defeito ósseo, com o objetivo de biodisponibilizar a molécula no local e observar seus efeitos na reparação óssea dos SHR.

O mecanismo molecular pelos quais os bisfosfonatos inibem a reabsorção óssea não é completamente entendido. Sabe-se que está relacionado com a inibição dos osteoclastos nas lacunas de reabsorção, afetando o metabolismo intracelular e induzindo à apoptose dessas células. Através de uma ação indireta, os bisfosfonatos também atuam estimulando os osteoblastos a produzirem mediadores químicos que inibem o recrutamento dos osteoclastos. Tudo isso contribui para um aumento da densidade mineral óssea²¹⁻²².

Nos últimos dez anos, tem-se estudado o uso do alendronato sódico com o objetivo de inibir a reabsorção óssea decorrente de procedimentos cirúrgicos e melhorar a reparação tecidual²³⁻²⁶, com destaque para a reparação do tecido ósseo¹¹⁻¹⁴. No contexto da hipertensão arterial sistêmica, não existem relatos alusivos aos efeitos do alendronato sódico sobre o tecido ósseo e poucos são os estudos que empregam localmente o medicamento para avaliar os processos de reparação óssea.

Jaime e cols.¹³ demonstraram que o medicamento não contribuiu para a reparação óssea, quando administrado localmente no defeito ósseo da calvária de ratas ovariectomizadas. Fernandes¹² estudando a ação local do alendronato sódico, da hidroxiapatita e da associação desses medicamentos no reparo ósseo de fêmures de ratos, também

não observou a ação positiva do alendronato sódico.

Os resultados desta pesquisa demonstram que os animais dos grupos A1 e A2 apresentaram menor neoformação óssea quando comparados àqueles dos grupos C e Am, independente do sexo ou período de observação. Dados semelhantes foram obtidos por Fernandes¹², que mostrou a influência do alendronato sódico retardando o processo de reparação óssea na área do defeito ósseo.

Os estudos realizados *in vitro* demonstram a ação anabólica do alendronato estimulando a neoformação óssea²⁷⁻²⁸. Giuliani e cols.²⁷ observaram que o alendronato sódico estimulou a formação de células osteoblásticas da medula óssea de ratos, quando administrado em baixas concentrações e inibiu o processo em concentrações maiores. Im e cols.²⁸ demonstraram que o emprego do alendronato sobre a cultura de células osteoblásticas, estimulou a proliferação celular na concentração de 10^{-8} mol.

As pesquisas têm demonstrado que os bisfosfonatos apresentam uma ação bifásica, estimulando a proliferação celular e a formação de tecido osteóide nas concentrações mais baixas e inibindo esses processos nas maiores concentrações²⁷⁻²⁸. As concentrações mais elevadas do medicamento parecem influenciar a viabilidade das células, prejudicando suas funções metabólicas²⁹ e provocando morte celular.

Possivelmente, a concentração molar empregada neste trabalho possa ter afetado a viabilidade celular, ocasionando degeneração hidrópica do tecido conjuntivo, e, por isso, ter causado uma ação tecidual citotóxica que interferiu na reparação óssea nos grupos A1 e A2. Contudo, a análise histomorfológica apresentou um achado interessante, que foi a formação de tecido ósseo extracortical subperiosteal, em todos os grupos tratados com alendronato 1 mol e 2 mol. Este

fato foi mais evidente nos SHR fêmeas do grupo A2, aos 21 dias do experimento (fig. 5a-b).

Essa característica também foi evidenciada por Fernandes¹² em ratos normotensos, em todos os grupos tratados com alendronato sódico. O autor sugere que este fenômeno possa ter sido desencadeado pela penetração do medicamento sob o periosteio, no momento da inserção do material. A partir deste estudo, acredita-se que o alendronato sódico possa ter sido incorporado ao tecido ósseo, uma vez que houve a inserção do medicamento no interior do canal medular no momento da cirurgia. De tal modo, uma vez depositado no osso, o alendronato pode ter sido liberado aos poucos do tecido ósseo e estimulado as células osteoblásticas quiescentes presentes no periosteio. Essa formação óssea não ocorreu de forma tão evidente na área do defeito ósseo, provavelmente devido à desorganização das células do periosteio no momento do procedimento cirúrgico.

O alendronato sódico é um medicamento rapidamente reabsorvido quando não se deposita no tecido ósseo. No entanto, quando incorporado aos cristais de hidroxiapatita, é liberado lentamente com o passar do tempo⁹⁻¹⁰. Isso poderia estimular as células mesenquimais indiferenciadas e as células do endosteio e periosteio a produzirem tecido ósseo.

Com base nessa teoria, também se pretende justificar o padrão de formação óssea encontrado no grupo A1, de ratos machos ao final dos 21 dias. Nesses animais, a formação das trabéculas ósseas se projetava a partir da medula óssea à região do defeito. Tal neoformação pode ser explicada através do estímulo das células mesenquimais indiferenciadas e das células osteoblásticas do endosteio pela ação do alendronato sódico que foi incorporado ao tecido ósseo. Acredita-se que moléculas de alendronato possam ter sido liberadas lentamente, em concentrações viáveis sem causar danos ao tecido.

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho,

conclui-se que a aplicação local do alendronato sódico não contribuiu para a reparação óssea nos SHR, entretanto o medicamento possivelmente contribuiu para a formação do tecido ósseo extracortical subperiosteal encontrado.

Os resultados demonstraram que a reparação óssea entre os grupos experimentais foi maior no período de 21 dias quando comparada ao período de sete dias. Não houve diferença no processo de reparação óssea entre os animais machos e fêmeas.

Apesar dos resultados estatísticos terem demonstrado que a aplicação local do alendronato sódico não contribuiu para o processo de reparação óssea nos SHR, acredita-se que variações na metodologia, como novas formas de administração e diferentes concentrações molares, podem gerar resultados positivos, principalmente devido ao achado histológico da neoformação extracortical subperiosteal encontrado exclusivamente nos grupos tratados com alendronato. Portanto, acredita-se que há a necessidade de estudos mais aprofundados para elucidar a ação local do alendronato sódico no processo de formação óssea, bem como avaliar sua ação sobre o tecido ósseo na presença da hipertensão arterial.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de mestrado de Mônica Dal Pian Nobre pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP).

Referências

- Izawa Y, Sagara K, Kadota T, Makita T. Bone disorders in spontaneously hypertensive rat. *Calcif Tissue Int*. 1985; 37 (6): 605-7.
- Barbagallo M, Quaini F, Baroni MC, Barbagallo CM, Boiardi L, Passeri G, et al. Histological evidence of increased turnover in bone from spontaneously hypertensive rats. *Cardioscience*. 1991; 2 (1): 15-7.
- Oshima T, Young EW. Systemic and cellular calcium metabolism and hypertension. *Semin Nephrol*. 1995; 15 (6): 496-503.
- Cappuccio FP, Meilahn E, Zmuda JM, Cauley JA. High blood pressure and bone-mineral loss in elderly white women: a prospective study. *Lancet*. 1999; 354 (9183): 971-5.
- McCarron DA, Yung NN, Ugoretz BA, Krutzik S. Disturbances of calcium metabolism in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*. 1981; 3 (3 Pt 2): 162-7.
- Wang TM, Hsu JF, Jee WS, Matthews JL. Evidence for reduced cancellous bone mass in the spontaneously hypertensive rat. *Bone Miner*. 1993; 20 (3): 251-64.
- Wright GL, DeMoss D. Evidence for dramatically increased bone turnover in spontaneously hypertensive rats. *Metabolism*. 2000; 49 (9): 1130-3.
- Pereira AC, Fernandes RG, Carvalho YR, Balducci I, Faig-Leite H. Reparação de defeitos ósseos em fêmures de ratos machos e fêmeas espontaneamente hipertensos: estudo histológico e histométrico. *Arq Bras Cardiol*. 2007; 88 (1): 104-9.
- Fleisch HA. Bisphosphonates: preclinical aspects and use in osteoporosis. *Ann Med*. 1997; 29 (1): 55-62.
- Castro LF, Silva ATA, Chung MC. Bisfosfonatos (BFs) como transportadores osteotrópicos no planejamento de fármacos dirigidos. *Quim Nova*. 2004; 27 (3): 456-60.
- Fernandes RG. Estudo da reparação óssea na mandíbula de coelhos sob a ação do alendronato sódico e de sua associação com a hidroxiapatita. [dissertação]. São José dos Campos: Universidade Estadual Paulista; 2002.
- Fernandes RG. Estudo da ação local do alendronato sódico, da hidroxiapatita e da associação do alendronato sódico com a hidroxiapatita, no reparo ósseo de fêmures de ratos [tese]. São José dos Campos: Universidade Estadual Paulista; 2005.
- Jaime APC, Anbinder AL, Lima AP, Prado FA, Balducci I, Rocha RF. Influência da administração local de alendronato sódico no reparo ósseo em calvária

Artigo Original

- de ratas ovariectomizadas. *Cienc Odontol Bras*. 2005; 8 (2): 70-9.
14. Matsura E. Análise clínica do efeito do gel de alendronato de sódio na reparação de defeitos infra-ósseos periodontais, em humanos [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2003.
 15. Inoue T, Moriya A, Goto K, Tanaka T, Inazu M. What is the difference of bone growth in SHR and SD rats? *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl*. 1995; 22 (Suppl1): S242-3.
 16. Nichols DL, Feller J, Love AM, Smith J, Duncan J. Is there an association between high blood pressure and bone mineral density. *Med Sci Sports Exerc Suppl*. 2003; 35 (5): S78.
 17. Pérez-Castrillón JL, Justo I, Silva J, Sanz A, Igea R, Escudero P, et al. Bone mass and bone modeling markers in hypertensive postmenopausal women. *J Hum Hypertens*. 2003; 17 (2): 107-10.
 18. Tsuda K, Nishio I, Masuyama Y. Bone mineral density in women with essential hypertension. *Am J Hypertens*. 2001; 14 (7): 704-7.
 19. Mussolino ME, Madans JH, Gillum RF. Bone mineral density and stroke. *Stroke*. 2003; 34 (5): e20-e22.
 20. Jespersen B. Effects of PTH (1-34) on blood pressure, renal function, and hormones in essential hypertension: the altered pattern of reactivity may counteract raised blood pressure. *Am J Hypertens*. 1997; 10 (12): 1356-67.
 21. Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H, Thompson DD, et al. Bisphosphonate action: alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest*. 1991; 88 (6): 2095-105.
 22. Rogers MJ, Frith JC, Luckman SP, Coxon FP, Benford HL, Monkkonen J, et al. Molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Bone*. 1999; 24 (Suppl 5): S73-9.
 23. Meraw EJ, Reeve CM, Wollan, PC. Use of alendronate in peri-implant defect regeneration. *J Periodontol*. 1999; 70 (2): 151-8.
 24. Tenenbaum HC, Shelemay A, Girard B, Zohar R, Fritz PC. Bisphosphonates and periodontics: potential applications for regulation of bone mass in the periodontium and other therapeutic/diagnostic uses. *J Periodontol*. 2002; 73 (7): 813-22.
 25. Shibata T, Komatsu K, Shimada A, Shimoda S, Oida S, Kawasaki K, et al. Effects of alendronate on restoration of biomechanical properties of periodontium in replanted rat molars. *J Periodont Res*. 2004; 39 (6): 405-14.
 26. Reddy GI, Kumar TM, Veena KM. Formulation and evaluation of alendronate sodium gel for the treatment of bone resorptive lesions in periodontitis. *Drug Deliv*. 2005; 12 (4): 217-22.
 27. Giuliani N, Pedrazzoni M, Negri G, Passeri G, Impicciatore M, Girasole G. Bisphosphonates stimulate formation of osteoblast precursors and mineralized nodules in murine and human bone marrow cultures in vitro and promote early osteoblastogenesis in young and aged mice in vivo. *Bone*. 1998; 22 (5): 455-61.
 28. Im GI, Qureshi SA, Kenny J, Rubash HE, Shanbhag AS. Osteoblast proliferation and maturation by bisphosphonates. *Biomaterials*. 2004; 25 (18): 4105-15.
 29. Correia VFP. Avaliação in vitro da citotoxicidade do alendronato de sódio sobre fibroblastos de ligamento periodontal de humanos em cultura celular. [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.