



Artigo Original

Perfil biométrico, histomorfométrico e bioquímico no tratamento com atorvastatina cálcica de ratas com osteoporose induzida com dexametasona[☆]



Davilson Bragine Ferreira Junior^{a,*}, Virgínia Ramos Pizziole^a, Tânia Toledo de Oliveira^a, Sérgio Luis Pinto da Matta^b, Mayra Soares Píccolo^a e José Humberto de Queiroz^a

^a Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Viçosa, MG, Brasil

^b Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Biologia Geral, Viçosa, MG, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 6 de junho de 2017

Aceito em 27 de junho de 2017

On-line em 6 de dezembro de 2017

Palavras-chave:

Glicocorticóide

Difosfonatos

Alendronato

Fosfatase alcalina

Histomorfometria óssea

R E S U M O

Objetivo: Avaliar os efeitos da atorvastatina cálcica no tratamento da osteoporose induzida com dexametasona.

Métodos: A indução da osteoporose consistiu na administração de dexametasona na dose de 7,5 mg/kg de peso corporal, por via intramuscular, uma vez por semana durante quatro semanas, à exceção dos animais do grupo controle (G1). Os animais foram distribuídos nos seguintes grupos: G1 (grupo controle sem osteoporose), G2 (grupo controle com osteoporose sem tratamento), G3 (grupo controle com osteoporose tratado com alendronato de sódio 0,2 mg/kg) e G4 (grupo com osteoporose tratado com atorvastatina cálcica 1,2 mg/kg). Após 30 e 60 dias do início do tratamento dos animais, foram feitas as dosagens dos níveis séricos de fosfatase alcalina, fosfatase alcalina óssea, avaliação biométrica e histomorfométrica óssea.

Resultados: Em relação às análises biométricas e histomorfométricas, aos 60 dias de tratamento o G4 apresentou densidade óssea (índice Seedor), densidade trabecular óssea e espessura da cortical de $0,222 \pm 0,004$ g/cm, $59,167 \pm 2,401\%$ e $387,501 \pm 8,573$ μ m, respectivamente, com diferença positiva, estatisticamente significativa ($p < 0,05$), em relação ao grupo G2. Aos 30 e 60 dias de tratamento, o G4 apresentou níveis séricos de fosfatase alcalina óssea estatisticamente significativos ($p < 0,05$) e superiores a todos os grupos ($7,451 \pm 0,173$ μ g/L e $7,473 \pm 0,529$ μ g/L, respectivamente).

Conclusão: O tratamento com atorvastatina cálcica demonstrou a capacidade desse fármaco de aumentar a atividade osteoblástica e a atividade reparadora tecidual óssea, atuar de forma diferente do alendronato de sódio, que demonstrou atividade preponderantemente antirreabsortiva.

© 2017 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

[☆] Trabalho desenvolvido no Laboratório de Biofármacos, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mails: davilson.junior@ufv.br, dbragine@yahoo.com.br (D.B. Ferreira Junior).

<https://doi.org/10.1016/j.rbo.2017.06.018>

0102-3616/© 2017 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Biometric, histomorphometric, and biochemical profile in atorvastatin calcium treatment of female rats with dexamethasone-induced osteoporosis

ABSTRACT

Keywords:

Glucocorticoid
Diphosphonates
Alendronate
Alkaline phosphatase
Bone histomorphometry

Objective: To assess the effects of atorvastatin calcium in the treatment of dexamethasone-induced osteoporosis.

Methods: Osteoporosis induction consisted of the administration of an intramuscular dose of 7.5 mg/kg of body weight of dexamethasone, once a week for four weeks, except for the control animals (G1). The animals were divided into the following groups: G1 (control group without osteoporosis), G2 (control group with untreated osteoporosis), G3 (control group with osteoporosis treated with sodium alendronate 0.2 mg/kg) and G4 (group with osteoporosis treated with atorvastatin calcium 1.2 mg/kg). Serum alkaline phosphatase, bone alkaline phosphatase, and biometric and bone histomorphometric assessments were performed after 30 and 60 days of treatment onset.

Results: In relation to the biometric and histomorphometric analyses, at 60 days of treatment, G4 presented bone density (Seedor index), bone trabecular density, and cortical thickness of 0.222 ± 0.004 g/cm, $59.167 \pm 2.401\%$, and $387,501 \pm 8,573$ μ m, respectively, with a positive and statistically significant difference ($p < 0.05$), in relation to G2. At 30 and 60 days of treatment, G4 presented statistically significant serum levels of alkaline phosphatase alkaline phosphatase ($p < 0.05$) that were higher than all groups (7.451 ± 0.173 μ g/L and 7.473 ± 0.529 μ g/L, respectively).

Conclusion: Treatment with atorvastatin calcium demonstrated the ability of this drug to increase osteoblastic activity and bone tissue repair activity, acting differently from alendronate sodium, which demonstrated predominantly antireabsorptive activity.

© 2017 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

A osteoporose induzida por glicocorticoides é uma complicação grave e comum nos tratamentos prolongados com esses fármacos. Normalmente é verificada nesses casos diminuição da formação óssea, assim como incremento na sua reabsorção.¹

Esse quadro caracteriza uma doença progressiva que envolve deterioração estrutural do tecido ósseo e leva a fragilidade e aumento da suscetibilidade a fraturas causadas pela redução da massa óssea e pelo aumento do turnover ósseo.²

O objetivo do tratamento da osteoporose induzida com glicocorticoides é evitar a ocorrência de futuras fraturas, o que acarreta diminuição da qualidade de vida. Atualmente usam-se, nas terapias farmacológicas contra a osteoporose, os bisfosfonatos, dentre eles o alendronato de sódio, que atuam preponderantemente ao inibir a reabsorção do tecido ósseo.^{2,3}

Segundo Drake et al.,⁴ o alendronato de sódio é aprovado para uso clínico na prevenção e no tratamento da osteoporose induzida por glicocorticoides, demonstra maior eficácia quando os níveis de vitamina D e cálcio são adequados.

Tem sido descrito que o alendronato de sódio reduz a perda óssea em pacientes tratados com moderada e altas doses de prednisona para doenças heterogêneas.^{3,5}

No entanto, o alendronato de sódio, apesar de reduzir a incidência de fraturas, não apresenta ganho em formação óssea. Além disso, o seu uso prolongado demonstra vários

efeitos colaterais, como fraturas subtrocantéricas do fêmur, osteonecrose de mandíbula, irritação esofágica, dentre outros, causa impacto negativo à adesão ao tratamento pelo paciente.^{4,6}

Lin et al.,⁷ em modelo de estudos de dislipidemias com ratas ovariectomizadas, verificaram que a atorvastatina, clinicamente usada no tratamento de dislipidemias, não somente diminuiu os níveis séricos de lipídios, mas também promoveu melhoria biomecânica óssea, assim como aumento de colágeno no tecido ósseo.

Alguns estudos recentes relataram a ação das estatinas na formação óssea pela estimulação da expressão da proteína morfogenética óssea (BMP)-2, a qual conduz a diferenciação osteoblástica e consequente formação óssea. Ocorre aumento da transcrição do gene da BMP-2, esse é o provável responsável pelos seus efeitos.⁸

Visto isso, passou-se a acreditar que as estatinas, se seletivamente direcionadas ao osso, poderiam apresentar efeitos benéficos no tratamento da osteoporose e de fraturas. Tais observações suscitaram grande interesse na comunidade científica e vários estudos foram feitos, demonstraram a ação das estatinas na melhoria da densidade óssea e na redução do número de fraturas.⁹

O presente trabalho tem como objetivo verificar, através da avaliação biométrica e histomorfométrica óssea, além dos marcadores bioquímicos, os efeitos da atorvastatina cálcica em ratas com osteoporose induzida com dexametasona.

Material e métodos

Procedimento experimental

No desenvolvimento deste trabalho, foram usadas 48 ratas (*Rattus norvegicus*) da raça Wistar, adultas, com em média 200 g, procedentes do biotério do central da nossa universidade, alimentados com ração comercial e água *ad libitum* durante todo o experimento.

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (protocolo 36/2016).

Durante todo o período experimental, os animais permaneceram em gaiolas de polietileno opaco fechadas com tampa de aço inoxidável em forma de grade, cada uma com um animal. Os animais foram mantidos em ambiente climatizado com período de luz de 12 horas e as gaiolas foram higienizadas a cada dois dias.

Após uma semana de adaptação teve início o processo de indução da osteoporose com a administração do glicocorticoide dexametasona, por via intramuscular, na dose semanal de 7,5 mg/kg de peso corporal, durante quatro semanas, nos animais de todos os grupos, à exceção de 12 animais do grupo 1 (G1 – controle sem osteoporose).

Os animais submetidos à indução da osteoporose foram então distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais de 12 animais cada, receberam os seguintes tratamentos e denominações: G2 (controle com osteoporose sem tratamento), G3 (com osteoporose tratado com alendronato de sódio 0,2 mg/kg)¹⁰ e G4 (com osteoporose tratado com atorvastatina cálcica 1,2 mg/kg).¹⁰ As medicações foram administradas diariamente por via oral (método de gavagem), foram usadas cânulas apropriadas.

Avaliação dos marcadores bioquímicos

Aos 30 dias e 60 dias após o início dos tratamentos seis animais de cada grupo foram anestesiados e através de laparotomia abdominal e posterior punção da veia cava caudal foram coletados 5 ml de amostra de sangue para a dosagem dos níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL) e fosfatase alcalina isoenzima óssea (FAO).

Para o procedimento de laparotomia cada animal recebeu como medicação anestésica dissociativa a solução, via intramuscular, de 0,05 ml de cloridrato de ketamina (1 g/ml) com 0,05 ml de cloridrato de xilazina (23 mg/ml).

A dosagem sorológica de fosfatase alcalina (FAL) foi feita por espectrofotometria, com o Aparelho Multiparamétrico de Bioquímica (Alizé), bem como kit específico de uso em automação da marca Bioclin®.

Para a dosagem sorológica da fosfatase alcalina isoenzima óssea (FAO) foi usado o equipamento de quimioluminescência Access Immunoassay System II da Beckman Coulter®, assim como kit específico para dosagem, também da mesma indústria.

Exame histomorfométrico

Após a coleta de sangue, aos 30 dias e 60 dias após o início dos tratamentos, seis animais de cada grupo foram submetidos

à eutanásia com sobredosagem anestésica (tiopental sódico 30 mg/kg).

Através de dissecação, os fêmures esquerdos foram coletados e colocados em formol 10% neutrotamponado, durante 72 horas para fixação, e, posteriormente, foram descalcificados e processados rotineiramente para estudo histológico e corados com coloração tricrômico de Masson.

Para cálculo da densidade ocupada por osso trabecular e espessura cortical óssea, foi obtida uma imagem amostral de osso contida na região subcondral, de cada corte histológico, em microscópio óptico Olympus BX 41® (Tóquio, Japão) equipado com câmara digital (TCL-984 P®) acoplada. As imagens foram obtidas com objetiva de 10X. Essas imagens foram analisadas no *software* de análise de imagem de domínio público Image J (desenvolvido por Wayne Rasband do Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland).¹¹

Nas imagens obtidas foram feitas as medidas em μm da espessura da cortical óssea. A área composta por osso trabecular foi calculada através da proporção entre área ocupada por matriz orgânica óssea e área total da imagem.

Análise biométrica

Foram feitas medidas do comprimento de cada fêmur com paquímetro digital 150 mm e resolução 0,01 mm/0,0005 Metrotools®. Além disso, foi feita a pesagem de cada fêmur dissecado em balança analítica digital da marca A.Científica/EduTec® EEQ9003F-B com capacidade de 220 g e precisão de leitura de 0,1 mg. Foi calculado o índice Seedor pela divisão do peso de cada fêmur pelo seu respectivo comprimento e o resultado expresso em g/cm.¹²

Análise estatística

O ensaio biológico foi feito segundo delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e seis repetições. A princípio foi verificada a normalidade com o teste de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$). Os grupos foram comparados entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os resultados, então, expressos em média e \pm desvio-padrão.

Resultados

Os resultados das avaliações biométricas [medidas relação do peso ao tamanho do fêmur (índice Seedor) (fig. 1)] e histomorfométricas [densidade trabecular óssea (fig. 2) e espessura da cortical óssea (fig. 3)] demonstraram que durante todo o período experimental ocorreu uma progressiva perda de estrutura óssea que caracterizou o processo de indução da osteoporose nos grupos que receberam a dose de 7,5 mg/kg de dexametasona e não receberam tratamento (G2).

Os animais dos grupos tratados com o alendronato de sódio (G3) apresentaram índice Seedor (fig. 1), densidade trabecular óssea (fig. 2) e espessura da cortical óssea (fig. 3), tanto em 30 como 60 dias de tratamento, com diferenças significativas em relação ao grupo com osteoporose sem tratamento (G2), e com valores estatisticamente equiparáveis ao grupo normal (G1), demonstraram assim capacidade de prevenir a

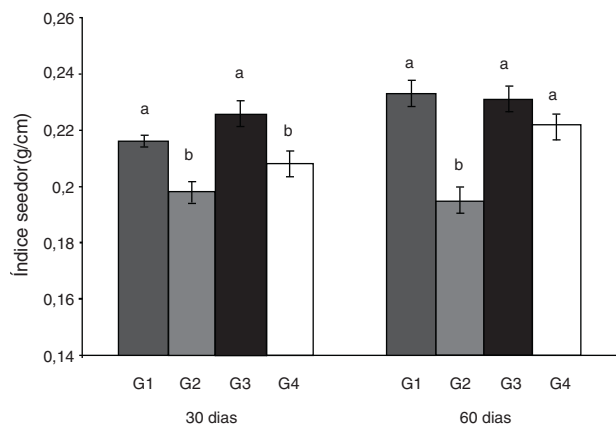


Figura 1 – Avaliação biométrica. Relação peso e tamanho (índice Seedor) dos fêmures após 30 e 60 dias de tratamento. Resultados são expressos como média \pm desvio-padrão. Em cada período, médias seguidas de letra minúscula diferente diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). G1 grupo controle sem indução da osteoporose, G2 grupo controle com osteoporose sem tratamento, G3 grupo controle com osteoporose tratado com alendronato de sódio e G4 grupo com osteoporose tratado com atorvastatina cálcica.

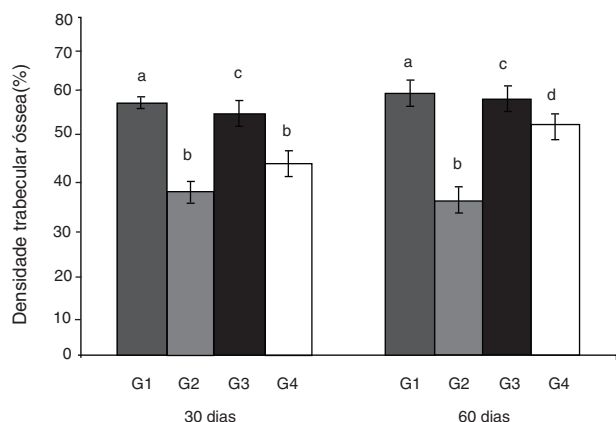


Figura 2 – Avaliação histomorfométrica. Densidade trabecular óssea dos fêmures após 30 e 60 dias de tratamento. Resultados são expressos como média \pm desvio-padrão. Em cada período, médias seguidas de letra minúscula diferente diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). G1 grupo controle sem indução da osteoporose, G2 grupo controle com osteoporose sem tratamento, G3 grupo controle com osteoporose tratado com alendronato de sódio e G4 grupo com osteoporose tratado com atorvastatina cálcica.

indução da osteoporose com a atuação da dexametasona na fase rápida, na qual há predominância de aumento de atividade osteoblástica.

Somente aos 60 dias de tratamento o grupo tratado com atorvastatina cálcica (G4) apresentou índice Seedor (fig. 1), densidade trabecular óssea (fig. 2) e espessura da cortical óssea (fig. 3) com diferenças significativas em relação ao grupo com

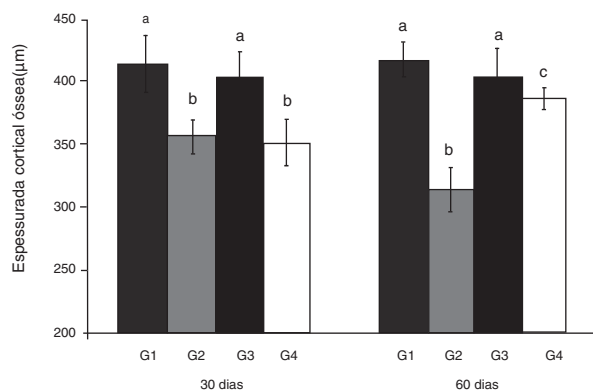


Figura 3 – Avaliação histomorfométrica. Espessura da cortical óssea dos fêmures após 30 e 60 dias de tratamento. Resultados são expressos como média \pm desvio-padrão. Em cada período, médias seguidas de letra minúscula diferente diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). G1 grupo controle sem indução da osteoporose, G2 grupo controle com osteoporose sem tratamento, G3 grupo controle com osteoporose tratado com alendronato de sódio e G4 grupo com osteoporose tratado com atorvastatina cálcica.

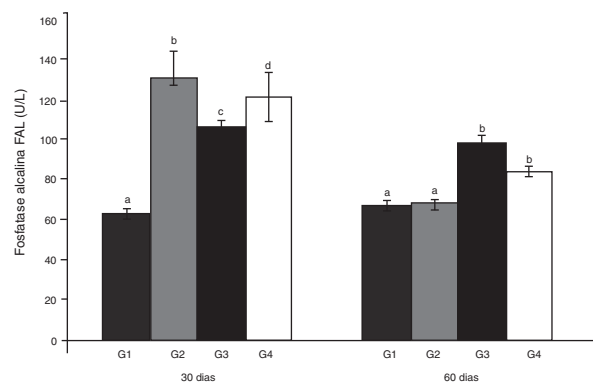


Figura 4 – Níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL) após 30 e 60 dias de tratamento. Resultados são expressos como média \pm desvio-padrão. Em cada período, médias seguidas de letra minúscula diferente diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). G1 grupo controle sem indução da osteoporose, G2 grupo controle com osteoporose sem tratamento, G3 grupo controle com osteoporose tratado com alendronato de sódio e G4 grupo com osteoporose tratado com atorvastatina cálcica.

osteoporose sem tratamento (G2), além de valores mais próximos a grupo normal (G1), demonstraram melhor capacidade desse fármaco de atuação na fase tardia da indução da osteoporose com dexametasona.

Aos 30 dias de tratamento pôde-se verificar um aumento de níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL) em todos os grupos submetidos ao processo de indução da osteoporose (G2, G3 e G4) em relação ao grupo sem osteoporose (G1) (fig. 4).

Aos 60 dias de tratamento verificou-se uma queda significativa dos níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL) em todos os grupos osteoporóticos, apesar de os grupos tratados com

alendronato de sódio (G3) e atorvastatina cálcica (G4) permanecerem com valores acima do parâmetro de normalidade (G1) (fig. 4).

Verifica-se também aos 30 e 60 dias de tratamento a não correspondência dos níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL) e fosfatase alcalina óssea (FAO) (figs. 4 e 5).

Na avaliação do grupo com osteoporose sem tratamento (G2) foi possível verificar aos 30 e 60 dias de tratamento a redução progressiva dos níveis séricos da fosfatase alcalina óssea (FAO) (fig. 5).

Durante todo o período experimental o grupo que recebeu tratamento com alendronato de sódio (G3) apresentou níveis séricos de fosfatase alcalina óssea (FAO) abaixo do parâmetro de normalidade (G1), demonstrou, assim, o baixo potencial de atividade indutora da atividade de osteoblastos desse fármaco (fig. 5).

Tanto em 30 como em 60 dias de tratamento o grupo tratado com atorvastatina cálcica apresentou valores significativamente superiores de fosfatase alcalina óssea (FAO), esses valores foram superiores até ao grupo normal (G1) (fig. 5).

Discussão

Segundo Ferreira Junior et al.,¹⁰ a avaliação óssea histomorfométrica se caracteriza por ser um método de extrema valia para avaliação dinâmica do processo de remodelação óssea, precisa a extensão da perda óssea, das taxas de calcificação e de formação do tecido ósseo, é capaz de identificar alterações osteometabólicas como a osteoporose.

A osteoporose induzida pela dexametasona ocorre em duas fases: uma rápida, fase em que a densidade mineral óssea (DMO) é reduzida, presumivelmente devido à reabsorção óssea excessiva (osteoclastos), e uma tardia, fase progressiva, em que a DMO diminui devido à prejudicada formação óssea (osteoblastos e osteócitos).¹³

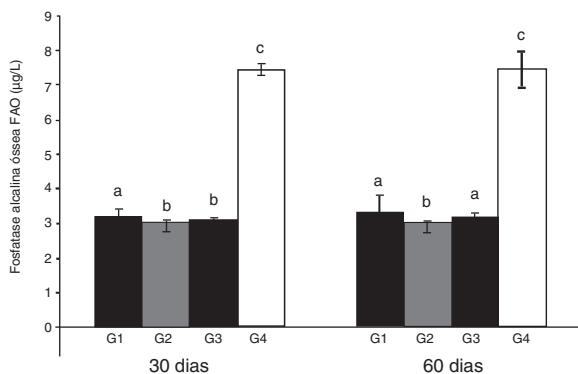


Figura 5 – Níveis séricos de fosfatase alcalina óssea (FAO) após 30 e 60 dias de tratamento. Resultados são expressos como média \pm desvio-padrão. Em cada período, médias seguidas de letra minúscula diferente diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). G1 grupo controle sem indução da osteoporose, G2 grupo controle com osteoporose sem tratamento, G3 grupo controle com osteoporose tratado com alendronato de sódio e G4 grupo com osteoporose tratado com atorvastatina cálcica.

Na fase tardia os glicocorticoides diminuem o número e a função de osteoblastos. Esses efeitos conduzem a uma supressão da formação de osso, uma característica central na patogênese da osteoporose induzida por glicocorticoide. Os glicocorticoides diminuem a reprodução das células da linhagem dos osteoblastos, reduzem o conjunto de células que pode diferenciar-se em osteoblastos maduros. Além disso, os glicocorticoides prejudicam a diferenciação dos osteoblastos, assim como sua maturação.^{13,14}

Segundo Amaral et al.,² a aferição dos níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL) inclui os teores da isoforma da fosfatase alcalina específica do tecido ósseo denominada fosfatase alcalina óssea (FAO), que é secretada pelos osteoblastos e pode apresentar aumento nos casos de remodelação óssea, deve, portanto, acompanhar esse perfil.

Entretanto, segundo Allen,¹⁵ a interpretação da fosfatase alcalina total (FAL) é complicada por poder ser afetada pelas variantes óssea, intestinal, renal e hepática, dificulta seu uso com o marcador da remodelação óssea.

De acordo com Amaral et al.,² a redução progressiva dos níveis séricos da fosfatase alcalina óssea (FAO) se deve à ação direta dos glicocorticoides, causa redução na quantidade e atividade de osteoblastos em além de resultar no impacto na redução de reposição de matriz óssea perdida, acarreta a supressão da produção de osteoprotegerina (OPG), que, em níveis normais, limita a liberação de enzimas pró-osteoclastogênicas.

Os resultados positivos de preservação da estrutura óssea apresentados pelo grupo tratado com alendronato de sódio (G3), apesar de baixa atividade osteoblástica, vista pelos níveis séricos de FAO, demonstra preponderância de atividade inibidora de reabsorção que se contrapõe à fase rápida (aumento de reabsorção óssea) de ação da dexametasona.^{7,13,14}

O principal mecanismo de ação dos bisfosfonatos se deve a uma afinidade muito elevada pelo componente mineral do tecido ósseo que se liga de maneira estável aos cristais de hidroxiapatita, inibe sua quebra e, assim, suprime eficazmente a reabsorção óssea.¹⁶

Além disso, os bisfosfonatos nitrogenados (alendronato, risedronato, ibandronato, pamidronato e ácido zoledrônico), além de apresentar a capacidade antirreabsortiva através da ligação com a hidroxiapatita, atuam predominantemente ao inibir a ativação da farnesil difosfato sintase na via do mevalonato, ocasionam apoptose de osteoclastos, com consequente diminuição da reabsorção óssea.⁷

Segundo Issa et al.,¹⁷ as estatinas têm demonstrado capacidade de diminuição da reabsorção óssea, aumento da densidade mineral óssea (DMO) e aumento da formação óssea.

A capacidade de atuação das estatinas na reabsorção óssea pode ser explicada pelo mecanismo de ação semelhante aos bisfosfonatos nitrogenados, atuam na via do mevalonato e inibindo a ação da 3-hidróxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, o que resulta na redução da atividade osteoclastica e modula, assim, a reabsorção óssea.⁷

O aumento dos níveis séricos de FAO, ocasionado pela atorvastatina cálcica, corresponde à capacidade das estatinas de estimulação da atividade osteoblástica, demonstra seu maior potencial de atuação na fase tardia da indução da osteoporose pela dexametasona.¹⁷

Segundo Alam,⁸ as estatinas estimulam o aumento da transcrição do gene da proteína morfogenética óssea BMP-2, com consequente aumento da expressão da BMP-2, o qual conduz à diferenciação osteoblástica e ao consequente aumento da formação óssea.

Estudos de Lee et al.¹⁸ com a lovastatina também verificaram aumento da atividade de fosfatase alcalina óssea, mineralização de matriz óssea e osteogênese de células ósseas *in vitro*.

Além disso, as estatinas atuam no tecido ósseo ao aumentar a expressão do fator de crescimento endotelial (VEGF), várias variantes de VEGF, bem como os seus receptores, estão expressas em osteoblastos, nos quais a presença dessa citocina tem demonstrado induzir aumento dos níveis de atividade da fosfatase alcalina óssea, assim como melhorar a resposta ao paratormônio (PTH).^{19,20}

Estudos de Kaji et al.²¹ reportaram que a Smad3, uma molécula fundamental na transdução da sinalização do TGF- β para o núcleo, promove aumento na produção do colágeno tipo I (Col1), aumento da atividade da fosfatase alcalina óssea (FAO) e capacidade de mineralização de células osteoblásticas de ratos. Além disso, foi verificado que tanto o paratormônio (PTH) como os glicocorticoides modulam a via Smad3 nas células osteoblásticas independentemente do TGF- β .^{19,21}

As estatinas foram capazes de aumentar, em cultura de células osteoblásticas, o nível da Smad3 independentemente da indução do receptor TGF- β . Além disso, foi suprimida a apoptose de osteoblastos através da via TGF- β -Smad3.^{19,21}

Conclusão

Através das análises biométricas e histomorfométricas, foi possível constatar o processo de indução da osteoporose pela dexametasona, bem como avaliar a evolução positiva tanto do grupo tratado com alendronato de sódio como do grupo tratado com atorvastatina cálcica.

O tratamento com atorvastatina cálcica promoveu alterações positivas significativas nos níveis séricos da fosfatase alcalina óssea (FAO) e demonstrou a capacidade desse fármaco de aumentar a atividade osteoblástica e a atividade reparadora tecidual óssea e de atuar de forma diferente do alendronato de sódio, que demonstrou atuar preponderantemente como agente antirreabsortivo.

Os níveis séricos de fosfatase alcalina (FAL) que não apresentaram correspondência com a fosfatase alcalina óssea FAO podem ser afetados pelas variantes intestinal, renal e hepática e dificultar seu uso como parâmetro de aferição de atividade tecidual óssea.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal

de Nível Superior (Capes) e ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada da UFV pelo apoio à pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Grossman JM, Gordon R, Ranganath VK, Deal C, Caplan L, Chen W, et al. American College of Rheumatology 2010 Recommendations for the Prevention and Treatment of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2010;62(11):1515–26.
- Amaral GG, Del Carlo RJ, Oliveira TT, Louzada MJQ, Valadares RFD, Ribeiro MD, et al. Uso isolado e combinado de bisfosfonatos, estatina e flavonoide em ratas osteoporóticas. *Rev Bras Med Vet*. 2014;36(1):105–10.
- Rodrigues RP, Carvalho JF, Paula PP, Zerbini C, Domiciano DS, Gonçalves H, et al. Guidelines for prevention and treatment of osteoporosis induced by glucocorticoid. *Rev Bras Reumatol*. 2012;52(4):569–93.
- Drake Matthew T, Clarke Bart L, Khosla S. Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. *Mayo Clin Proc*. 2008;83(9):1032–45.
- Lems WF, Lodder MC, Lips P, Bijlsma JW, Geusens P, Schrameijer NC, et al. Positive effect of alendronate on bone mineral density and markers of bone turnover in patients with rheumatoid arthritis on chronic treatment with low-dose prednisone: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Osteoporos Int*. 2006;17(5):716–23.
- Davis S, Sachdeva A, Goeckeritz B, Oliver A. Approved treatments for osteoporosis and what's in the pipeline. *Drug Benefit Trends*. 2010;22:121–4.
- Lin S, Huang J, Fu Z, Liang Y, Wu H, Xu L, et al. The effects of atorvastatin on the prevention of osteoporosis and dyslipidemia in the high-fat-fed ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int*. 2015;96(6):541–51.
- Alam S, Ueki K, Nakagawa K, Marukawa K, Hashiba Y, Yamamoto E, et al. Statin-induced bone morphogenetic protein (BMP) 2 expression during bone regeneration: an immunohistochemical study. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathol Oral Radiol*. 2009;107(1):22–9.
- Anbinder AL, Quirino MRS, Rocha RF. Statins and bone tissue: a literature review. *Rev Odontol, Unesp*. 2006;35(4):239–46.
- Ferreira Junior DB, Pinto AS, Del Carlo RJ, Fonseca CC, Oliveira TT, Cardoso AC, et al. Efeitos de bifosfonatos e estatinas na reparação de fraturas em tíbias de ratas com osteoporose induzida com dexametasona. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 2008;29(2):203–7.
- Dias FC. Uso do software Image J para análise quantitativa de imagens de microestrutura de materiais PL São José dos Campos. Inpe; 2008.
- Seedor JG, Quarraccio HH, Thompson DD. The biophosphonate alendronate (MK 217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. *Bone Miner Res*. 1991;6(4):339–46.
- Canali E, Mazziotti A, Giustina J, Bilezikian P. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int*. 2007;18(10):1319–28.
- Natalie AS, Kong WN. Implications of osteoblast-osteoclast interactions. *Curr Osteoporos Rep*. 2014;12(1):98–106.
- Allen MJ. Biochemical markers of bone metabolism in animals: uses and limitations. *Vet Clin Pathol*. 2003;32(3):101–13.
- Russell RG. Bisphosphonates: from bench to bedside. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1068:367–401.
- Issa JP, de Lucia CI, Kotake BGS, Gonzaga MG, de Figueiredo FAT, Iyomasa DM, et al. The effect of simvastatin treatment on bone repair of femoral fracture in animal model. *Growth Factors*. 2015;33(2):139–48.

18. Lee BS, Lee CC, Wang YP, Chen HJ, Lai CH, Hsieh WL, et al. Controlled-release of tetracycline and lovastatin by poly(d,l-lactide-co-glycolide acid)-chitosan nanoparticles enhances periodontal regeneration in dogs. *Int J Nanomedicine*. 2016;11:285-97.
19. Shah SR, Werlang CA, Kasper FK, Mikos AG. Novel applications of statins for bone regeneration. *Natl Sci Rev*. 2015;2(1):85-99.
20. Maeda T, Kawane T, Horiuchi N. Statins augment vascular endothelial growth factor expression in osteoblastic cells via inhibition of protein prenylation. *Endocrinology*. 2003;144(2):681-92.
21. Kaji H, Naito J, Inoue Y, Sowa H, Sugimoto T, Chichara K. Statin suppresses apoptosis in osteoblastic cells: role of transforming growth factor- β -Smad3 pathway. *Horm Metab Res*. 2008;40(11):746-51.