

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
Programa de Pós-graduação em Odontologia

Thiago Fiuza Campos

**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO TÓPICA DO RANELATO DE
ESTRÔNCIO NO REPARO ÓSSEO PERIIMPLANTAR NA
OSTEOPOROSE INDUZIDA EM RATOS**

Belo Horizonte
2015

Thiago Fiuza Campos

**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO TÓPICA DO RANELATO DE
ESTRÔNCIO NO REPARO ÓSSEO PERIIMPLANTAR NA
OSTEOPOROSE INDUZIDA EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração: Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Peterson Antônio Dutra de Oliveira

Belo Horizonte

2015

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

C198a Campos, Thiago Fiuza
Avaliação da aplicação tópica do ranelato de estrôncio no reparo ósseo periimplantar na osteoporose induzida em ratos / Thiago Fiuza Campos. Belo Horizonte, 2016.
57 f. : il.

Orientador: Peterson Antônio Dutra de Oliveira
Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

1. Regeneração óssea. 2. Osteoporose. 3. Farmacologia. 4. Ossos. 5. Fraturas I. Oliveira, Peterson Antônio Dutra de. II. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

SIB PUC MINAS

CDU: 616.314-089

Thiago Fiuza Campos

**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO TÓPICA DO RANELATO DE ESTRÔNCIO NO
REPARO ÓSSEO PERIIMPLANTAR NA OSTEOPOROSE INDUZIDA EM
RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de Concentração: Implantodontia.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA:

- 1- Prof. Dr. Fernando de Oliveira Costa – UFMG
- 2- Prof. Dr. Alcione Maria Soares Dutra Oliveira – PUC Minas
- 3- Prof. Dr. Peterson Antônio Dutra de Oliveira – PUC Minas

DATA DA APRESENTAÇÃO E DEFESA: 20 de janeiro de 2016

A dissertação, nesta identificada, foi aprovada pela Banca Examinadora

Belo Horizonte, 22 de janeiro de 2016

Prof. Dr. Peterson Antônio Dutra de Oliveira

Orientador

Prof. Dr. Martinho Campolina Rebello Horta

**Coordenador do Programa de Pós-graduação
em Odontologia**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me dado saúde e por me iluminar sempre.

Agradeço ao meu pai pelo exemplo de dedicação, de companheirismo, de amizade e valores fundamentais para a criação de um homem.

Agradeço à minha maravilhosa mãe. Pelo seu exemplo de luta, personalidade, lealdade, amizade e sinceridade. Obrigado pelo belo exemplo de mulher que é.

Agradeço a Josiane, minha namorada, que também me ajudou na caminhada acadêmica, profissional e pessoal. Obrigado pela companhia, dedicação, paciência, carinho e amor dispensados a mim.

Agradeço a todos os pacientes pela confiança e por serem parte integrante desse aprendizado.

Agradeço a meu orientador, Peterson, pelo coleguismo e ajuda durante todo o processo de formação acadêmica. Por tentar tornar o objetivo um caminho menos árduo.

Agradeço a Silvania e Angélica por toda a compreensão e dedicação durante o curso.

RESUMO

A osteoporose é uma doença metabólica que leva a perda mineral e mudanças estruturais do tecido ósseo com efeitos adversos em sua resistência podendo provocar a ocorrência de fraturas e/ou alteração na capacidade reparadora do osso. O Ranelato de Estrôncio (REs) é um medicamento utilizado no tratamento da osteoporose devido a suas características duais de diminuição da reabsorção óssea, e aumento da diferenciação osteoblástica. Sua administração sistêmica aumenta a resistência óssea e diminuí a ocorrência de fraturas e, nos ossos maxilares, melhora a condição óssea para as técnicas de instalação de implantes endósseos. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da aplicação tópica do REs na osseointegração de implantes instalados na tíbia de ratas com e sem osteoporose induzida. Para tanto, 42 ratas adultas foram divididas em 6 grupos experimentais com sete animais em cada grupo: Grupos controle: G1 - ratas saudáveis (S), G2 ratas saudáveis com aplicação de membrana de colágeno com gel Carbopol (SMCC), G3 ratas saudáveis com aplicação de membrana de colágeno com gel de REs a 1% (SMCR). Grupos Teste, G4 ratas com osteoporose induzida (O), G5 ratas com osteoporose induzida e aplicação de membrana de colágeno com gel Carbopol (OMCC), G6 ratas com osteoporose induzida com aplicação de membrana de colágeno e gel REs a 1% (OMCR). Todos os animais receberam a instalação de um parafuso de Titânio na tibia esquerda. Após 28 dias os animais foram sacrificados, as tíbias recuperadas e a força de contra-torque (FCT) necessário para remoção dos implantes do tecido ósseo imediatamente mensurada.. Pode-se demonstrar que a aplicação tópica do Ranelato de Estrôncio aumentou de forma significativa ($P < 0,001$) a força de contra torque necessária para o rompimento da interface osso/implante tanto nos grupos de animais saudáveis quanto naqueles com osteoporose induzida.

Palavras-chave: Ranelato de estrôncio. Reparo ósseo. Osteoporose quimicamente induzida. Defeito ósseo.

ABSTRACT

Osteoporosis is a metabolic disorder that leads to mineral loss and structural changes of bone tissue with adverse effects on their resistance may cause the occurrence of fractures and / or change in the restorative capacity of the bone. The Strontium ranelate (REs) is a medicine used to treat osteoporosis because of its dual characteristics of decreased bone resorption, and increased osteoblastic differentiation. Its systemic administration increases bone strength and decrease the occurrence of fractures and jaw bones, improves bone condition for the endosseous implant placement techniques. The aim of this study was to evaluate the effect of topical application of REs in osseointegration of implants installed in the tibia of rats with induced osteoporosis. For this purpose, 42 adult female rats were divided into 6 groups: control groups: G1 - healthy rats (S), G2 healthy rats with collagen membrane application with Carbopol gel (SMCC), G3 healthy rats with collagen membrane application gel REs 1% (SMCR). Groups Test, G4 rats with induced osteoporosis (O), G5 rats with induced osteoporosis and application of collagen membrane with Carbopol gel (OMCC), G6 rats with osteoporosis induced with collagen membrane application and gel REs 1% (OMCR). All animals received the installation of a titanium screw in the left tibia. After 28 days the animals were sacrificed, tibia recovered, and measures to counter-torque (FCT) necessary for removal of bone tissue implant measured immediately. It can be shown that topical application of Strontium ranelate increased significantly ($P < 0.001$) against the force of torque necessary to break the bone / implant interface in both healthy animals in groups as with induced osteoporosis.

Keywords: Strontium ranelate. Bone repair. Chemically induced osteoporosis. Bone defect.

LISTA DE ABREVIATURAS

S – Saudáveis

SMCC – Saudáveis com aplicação de membrana de colágeno com gel de carbopol

SMCR – Saudáveis com aplicação de membrana de colágeno com gel de Ranelato de estrôncio a 1%

O – Osteoporose

OMCC – Osteoporose com aplicação de membrana de colágeno com gel de Carbopol

OMCR – Osteoporose com aplicação de membrana de colágeno com gel de Ranelato de estrôncio a 1%

FCT – Força de contra torque

PTH – Hormônio paratireoideano

REs – Ranelato de estrôncio

CaRs – Receptores sensíveis ao cálcio extracelular

OVX – Ovariectomizadas

DMO – Densidade mineral ossea

LISTA DE FIGURAS

Figure 1: Ensaio experimental em modelo animal	25
Figure 2: Preparo do leito receptor.....	28
Figure 3: Instalação do implante.....	29
Figure 4: Colocação membrana.....	29
Figure 5: Sutura.....	29
Figure 6: Imobilização da peça	29
Figure 7: Contra torque	30

SUMARIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS.....	23
2.1 Objetivo geral	23
2.2 Objetivos específicos.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Desenho de estudo	25
3.2 Modelo experimental.....	25
3.3 Amostragem	25
3.4 Indução da osteoporose	26
3.5 Técnica cirúrgica.....	26
3.6 Preparação da membrana.....	28
3.7 Análise estatística	30
4 ARTIGO	31
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
REFERÊNCIAS.....	53
ANEXO A - Certificado de Aprovação da Comissão de Ética no uso de Animais	57

1 INTRODUÇÃO

Os implantes de titânio endósseos vieram ampliar as possibilidades de tratamentos reabilitadores do edentulismo parcial ou total de forma estética e funcional (BRANEMARK, 1983; ZARB, 1990). A osseointegração foi definida como sendo "uma ligação estrutural e funcional direta entre o osso vivo ordenado e a superfície de um implante submetido a carga funcional" (BRANEMARK, 1985). Admite-se que os índices de sucesso com a terapia de implantes são dependentes de vários fatores como a idade, a qualidade óssea e o tempo de implantação (BERGLUNDH; PERSSON; KLINGE, 2002; ROMANOS et al., 2010) além disso características como o desenho do implante, o tipo de superfície e a técnica cirúrgica atraumática (BRANEMARK et al., 1985).

O tecido ósseo é constituído por conjuntivo especializado que apresenta uma matriz orgânica mineralizada constituída de fibras colágenas, proteínas proteoglicanas e proteínas não colagenosas. Possui, também, uma abundante matriz extracelular mineralizada constituída principalmente por cristais de hidroxiapatita (YAMOTO; FURUYA; HANADA, 2002). As células responsáveis pela remodelação óssea são os osteoblastos, que realizam síntese de colágeno e outras proteínas e fazem a deposição óssea e os osteoclastos responsáveis pela reabsorção óssea a partir da dissolução da estrutura óssea por ação enzimática (LONG, 2001).

A osteoporose é um distúrbio multifatorial e progressivo do esqueleto caracterizado por redução da massa óssea e deterioração da microarquitetura. É causada, dentre outros fatores, pelo decréscimo na secreção do estrógeno levando a baixa qualidade do osso e aumentando o risco de fraturas (MARTIN; CORREA, 2010). A osteoporose afeta mais de 75 milhões de pessoas na Europa, Japão e os Estados Unidos, com um risco estimado de fraturas ao redor 15%. Dados norte americanos mostram que as fraturas devido à osteoporose são mais graves e letais em 12 a 20% dos casos acarretando despesas médicas ao redor de dez bilhões de dólares/ano. No Brasil, há escassez de dados referentes à população acometida, entretanto, estima-se que aproximadamente 10 milhões de brasileiros sofram da doença (MEINÃO et al., 1998; RENNÓ; DRIUSSO; FERREIRA, 2001).

O estrógeno tem papel fundamental no *turnover* ósseo e sua deficiência afeta os osteoclastos e osteoblastos causando a redução da massa óssea incluindo os

ossos da maxila e mandíbula. Embora a osteoporose não seja uma contra-indicação absoluta para a instalação de implantes diversos estudos demonstram que uma piora na qualidade do osso receptor pode comprometer a estabilidade inicial do implante ou mesmo a manutenção da osseointegração caracterizando a presença da osteoporose como um complicador para as reabilitações bucais com implantes (KRIBBS, 1990; DUARTE et al., 2003). Estudos em animais demonstram que, nos casos de osteoporose induzida por glicocorticóides, o primeiro efeito parece ser o da estimulação dos osteoclastos aumentando a reabsorção óssea e o segundo alterações tanto na formação quanto na reabsorção óssea influenciando assim na velocidade do reparo ósseo (WEINSTEIN et al., 1998, O'BRIEN et al., 2004, JIA et al., 2006).

Na área médica, várias terapias medicamentosa sistêmicas tem sido estudadas visando a melhora na qualidade óssea na presença da osteoporose a partir da aplicação de substâncias que inibem a reabsorção óssea, como no caso dos Alendronatos, ou que aumentam a diferenciação osteoblástica, como no emprego do hormônio paratireoideano (PTH) ou mesmo substâncias que apresentam o efeito dual, ou seja, inibem a reabsorção e favorecem a neoformação óssea sendo este o mecanismo de ação do Ranelato de Estrôncio (REs). Assim, desde 2004, o REs foi aprovado para o tratamento da osteoporose em países europeus (NEUPREZ et al., 2008). Entretanto, seu uso ainda não foi aprovado nos Estados Unidos pela Food and Drugs Administration (FDA) (KYLLÖNEN et al., 2015).

O Ranelato de Estrôncio é constituído por dois átomos de Estrôncio estável e uma molécula de ácido ranélico. Sendo um metal alcalino-terroso, o Estrôncio possui muitas semelhanças com o Cálcio, como absorção intestinal, incorporação óssea e eliminação renal (MEUNIER et al., 2004). O mecanismo de ação do REs ainda não esta completamente compreendida, mas, tem sido sugerido, que a via de sinalização através da qual a droga pode controlar a atividade dos osteoclastos é a ativação de receptores sensíveis ao Cálcio extracelular (CaRs). Assim, o Estrôncio, ao interagir com estes receptores de Cálcio promovam a redução da reabsorção óssea por indução da apoptose dos osteoclastos (KAMEDA et al., 1998; KANATANI et al., 1999). Por outro lado, os mecanismos moleculares no qual o REs promove o aumento da replicação dos osteoblastos é resultado da interação dos íons de Estrôncio com os CaRs também presentes nos osteoblastos. Esta interação tem

como resultado a expressão das proteínas-quinase de mitógenos ativados para células formadoras de osso resultando no aumento da replicação celular. Além disso, uma ação do REs via CaRs também resulta na diminuição da apoptose dos osteoblastos (CHATTOPADHYAY et al., 2007; HURTEL-LEMAIRE et al., 2009).

Diversos estudos em humanos apresentam resultados positivos da terapia com REs por via oral para o tratamento da osteoporose relatando, principalmente, uma redução na prevalência de fraturas ósseas do quadril e das vertebrae (Quadro 1).

Estudos em animais mostraram que houve melhora na osseointegração de implantes associado a administração via oral de REs (LI et al., 2010a; LI et al., 2012).

Além de um efeito positivo na reparo de fratura em ratas ovariectomizadas em relação a qualidade e quantidade óssea do osso neoformado (HABERMANN et al., 2010; LI YF et al., 2010). Mudanças na microarquitetura óssea com um aumento da resistência do tecido, diminuição da reabsorção e aumento da formação óssea também foram relatadas em ratas saudáveis submetidas a terapia oral com REs (AMMAN et al., 2004 ; BOYD; SZABO; AMMANN, 2011).

Por outro lado, uma segunda via de aplicação tem sido descritos com a utilização de sistemas de liberação local através da incorporação do REs ao Titânio (PARK et al., 2010; PARK et al., 2013, ANDERSEN et al., 2013) ou a cobertura de hidroxiapatita que reveste a superfície dos alguns tipos de implantes (LI et al., 2010b; FU et al., 2012) com efeitos positivos na osseointegração.

Quadro 1: Estudos que utilizaram o Ranelato de Estrôncio em humanos e em animais.

(Continuação...)

Estudos	Objetivo	Método de avaliação	Via Administração Dose Empregada Duração	Animal/ Humanos/ <i>in vitro</i>	Resultado
Meunier et al., 2002	Avaliação o efeito do REs na redução de fraturas vertebrais	DMO avaliada pela dupla absorção de raios-X e marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo.	Oral Os pacientes foram randomizados para receber placebo, 0,5 g, 1 g, 2 g de REs ao dia.	Humanos	> densidade mineral vertebral e redução a incidência de fraturas vertebrais
Reginster et al., 2002	Avaliar o efeito do REs em fraturas não-vertebrais e vertebrais	Método semi- quantitativo descrito por Genant.	Oral REs a 2 g / dia ou placebo . Duração 5 anos	Humanos	>redução significativa da incidência de fraturas osteoporóticas não-vertebrais, incluindo fraturas de quadril e fraturas vertebrais.
Meunier et al., 2004	Avaliar a eficácia do REs na prevenção de fraturas vertebrais	Radiografias vertebrais anualmente, DMO foram realizadas a cada semestrelmente	Oral REs 2g ao dia ou Placebo Duração três anos.	Humanos	Redução significativa no risco de fraturas vertebrais

(Conclusão)

Estudos	Objetivo	Método de avaliação	Via Administração\ Dose Empregada	Animal/ Humanos/ in vitro	Resultado
Li et al., 2012	Avaliar osseointegração de implantes de titânio instalados em ratas osteoporóticas	Histomorfometria, micro-CT e teste biomecânico.	Oral Grupo teste 625\kg\dia	Animais Ratas Wistar	> osseointegração dos animais que receberam o REs.
Li et al., 2010a	Avaliar diferentes posologias do Res na osseointegração de implantes instalados na tibia.	Os blocos ósseos com implantes foram avaliados com testes de push-out biomecânicos e micro –TC .	Oral Grupo OVX sem dose Grupo OVX dose baixa - 500mg\kg\dia Grupo OVX dose alta - 1000mg\kg\dia	Animal Ratas Wistar	O tratamento com REs melhorou a fixação dos implantes revestidos com hidroxiapatita em ratos OVX e > estabilidade do implante no osso osteoporótico.
Er et al., 2008	Avaliar a citotoxicidade do REs nos fibroblastos do ligamento periodontal de humanos.		G1 controle, e os teste G2,G3,G4 e G5 com concentrações de 20,10,5 e 2,5 mg/ml de Res respectivamente.	In vitro Ligamento periodontal	O REs não é citotóxico nas concentrações utilizadas,

REs - Ranelato de Estrôncio, micro TC - microtomografia computadorizada, DMO – densidade mineral óssea

Fonte: Elaborado pelo autor

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da aplicação tópica do gel do Ranelato de estrôncio a 1% incorporado a membrana de colágeno no reparo ósseo periimplantar de ratas com osteoporose induzida.

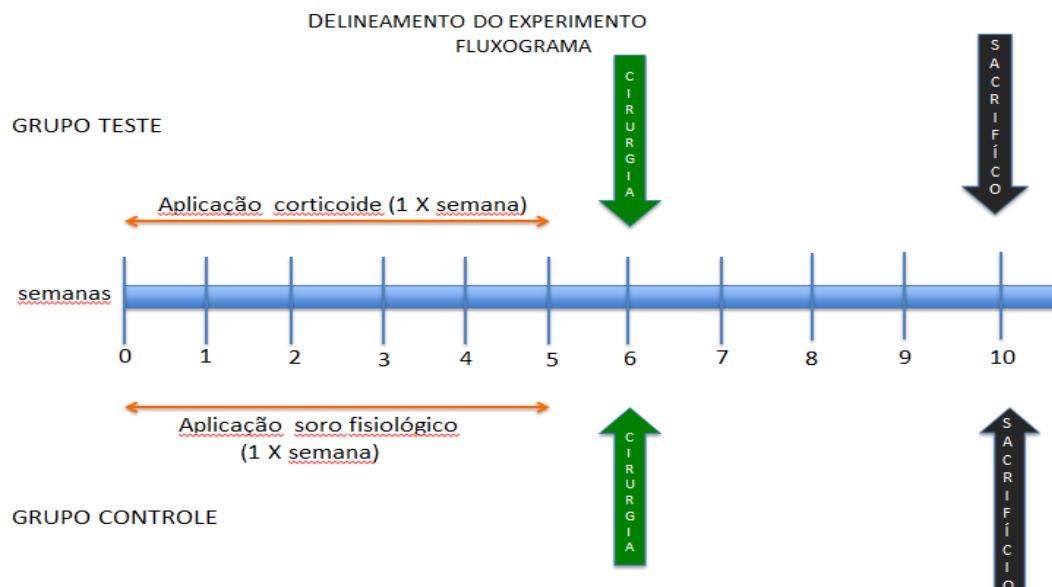
2.2 Objetivos específicos

- a) avaliar o nível de osseointegração dos implantes a partir da medida da força de contra-torque necessária para romper a interface osso/implante em animais saudáveis;
- b) avaliar o nível de osseointegração dos implantes a partir da medida da força de contra-torque necessária para romper a interface osso/implante em animais com osteoporose quimicamente induzida;
- c) avaliar o efeito da osteoporose quimicamente induzida nas variações de peso dos animais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Desenho de estudo

Figure 1: Ensaio experimental em modelo animal



Fonte: Elaborado pelo autor

3.2 Modelo experimental

Foram utilizadas ratas adultas *Rattus norvegicus albinus*: Wistar (n= 42) com vinte semanas de vida, pesando entre 240 e 300g, provenientes do Biotério do Instituto de Ciências Biológicas da PUC Minas.

3.3 Amostragem

A amostra, do tipo de conveniência, foi dividida em grupos com seis animais cada alocados da seguinte maneira:

- a) Grupo G1 (S) - animais saudáveis com instalação de implantes na tíbia esquerda somente;
- b) Grupo G2 (SMCC) - animais saudáveis com instalação de implantes na tíbia esquerda associada amembrana de colágeno + gel de carbopol;

- c) Grupo G3 (SMCR) - animais saudáveis com instalação de implantes na tíbia esquerda associada a membrana de colágeno + gel de carbopol com Ranelato de Estrôncio a 1%;
- d) Grupo G4 (O) - animais osteoporóticos com instalação de implantes na tíbia esquerda somente;
- e) Grupo G5 (OMCC) - animais osteoporóticos com instalação de implantes na tíbia esquerda associada a membrana de colágeno + gel de carbopol;
- f) Grupo G6 (OMCR) - animais osteoporóticos com instalação de implantes na tíbia esquerda associada a membrana de colágeno + gel de carbopol e Ranelato de Estrôncio a 1%.

Os animais foram acondicionados, um por gaiola, no biotério do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais com apropriado controle de temperatura e luminosidade e acesso *ad libitum* à água e ração. De acordo com as normas do Comitê de Ética em experimentação Animal (CEUA), os animais receberam analgésicos, antiinflamatórios profiláticos e antibióticos na fase pré e pós operatória do experimento. O presente trabalho teve a aprovação do Comitê de Ética em estudo com Animais da Universidade Federal de Minas Gerais Protocolo nº 366/2015 (ANEXO A).

3.4 Indução da osteoporose

A osteoporose foi induzida seguindo-se o protocolo de Santos (2004), com injeções via intramuscular, de dexametasona (Azium Solução®-Shering-Plough) na dose de 7mg/Kg peso corporal, uma vez por semana, durante cinco semanas. Após as cinco semanas foi realizada a cirurgia.

Os grupos de animais que não foram submetidos a indução de osteoporose receberam injeções de NaCl à 0,9%, na mesma via de administração e em intervalos de aplicação e volume iguais aos do grupos teste.

3.5 Técnica cirúrgica

Cinco semanas após a indução da osteoporose, houve a pesagem. Para adequação da dose dos medicamentos, os animais foram anestesiados com injeção

intramuscular de uma combinação de sedativo e relaxante muscular, cloridrato de xilazina 2% (10mg/Kg) e a base anestésica, cloridrato de Ketamina 10% (70mg/Kg). No pré operatorio, os animais receberam uma dose de antiinflamatório de uso veterinário, Flunixinina/ meglumina (Banamine injetável pet), 1,1 mg/kg.

A limpeza e assepsia da área operada foi realizada com Digluconato de Clorexidina a 2,0% (MANIFAR®) seguido da tricotomia da região do fêmur esquerdo com lâminas de aço inoxidável e politetrafluoretileno (GILLETTE®).

Foi realizada uma incisão no sentido horizontal utilizando lâmina de bisturi número nº15 (SOLIDOR®) sendo os músculos e demais tecidos afastados por dissecação romba.

Após a exposição óssea foi preparado o leito receptor utilizando-se uma broca (NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil) de 1,1mm de forma bicortical seguida da broca de 1,3mm de diâmetro somente na cortical superior visando a estabilização primária do implante (GUIMARÃES; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2011; AIALA et al., 2013). Foi utilizado um contra-ângulo 1:16 (KAVO®) e um motor de implante (BLM 600 DRILLER®) na rotação de 600 RPM com irrigação constante e abundante com solução de soro fisiológico estéril a rotações de 1000 RPM. Os animais receberam parafusos autoroscantes do tipo usado em fixação de enxertos ósseos, fabricados em titânio grau IV (NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil) medindo 4 mm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro na tíbia esquerda. O implante foi inserido através de chave manual (NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil) até que a cabeça do mesmo tocasse o osso cortical e apresentasse estabilidade mecânica.

Os animais dos grupos G1 e G4 receberam apenas os implantes. Já nos animais dos grupos G2 e G5 os implantes foram associados a membrana de colágeno (*Surgy Dry*™) + gel de carbopol (Farmaquímica S.A., Rio Grande do Sul Brasil) e nos grupos G3 e G6 os implantes foram associados a membrana de colágeno + gel de carbopol + Ranelato de Estrôncio a 1% (BioX Corporation, Ontario, Canada).

A sutura foi realizada com fio de nylon 4-0 (Biosut Ltda., Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) utilizando-se pontos simples removidos após sete dias.

Todos os animais receberam dose única de antibiótico OXITETRACICLINA (Terramicina – Pfizer) 25 mg/Kg por meio de injeção intramuscular e antiinflamatório de uso veterinário, Flunixinina/ meglumina (Banamine injetável pet) 1,1 mg/kg logo

após a cirurgia. Todo o procedimento cirúrgico foi realizado respeitando as normas de biossegurança.

3.6 Preparação da membrana

A membrana de colágeno (*SurgyDry®*) é uma matriz orgânica de colágeno tipo I polimerizado e purificado na sua forma Fibrilar (esponja ou filme) com característica hemostática e de reabsorção rápida. A membrana utilizada foi do tipo esponja devido a sua maior capacidade de absorção. Esta foi recortada nas medidas de 1X1cm e colocada em contato com 1mL do gel de Carbopol carregado ou não com o Ranelato de Estrôncio por 2 minutos antes da inserção no sítio cirúrgico.

Após o procedimento cirúrgico, os animais foram monitorados até o final do efeito anestésico, garantindo o bem estar dos mesmos no pós operatório imediato. Após as cirurgias, a fim de minimizar os possíveis traumas sobre as áreas operadas, os animais foram isolados, ficando um em cada gaiola. A água foi renovada e as gaiolas limpas, com detergente, álcool e hipoclorito de sódio diariamente, a fim de garantir um ambiente limpo e seco durante toda a fase de cicatrização, até a data de sacrifício dos ratos.

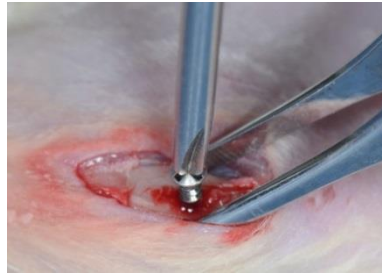
Após 28 dias da cirurgia os animais foram sacrificados com uma overdose da associação de Ketamina (240mg/Kg) e Xilazina (45mg/Kg) e as tíbias recuperadas e limpas. As peças foram imobilizadas em um torno de bancada de maneira que permitisse a inserção da chave perpendicular à cabeça do parafuso. Medidas de contra-torque necessário para remoção dos implantes no tecido ósseo para avaliação do nível de osseointegração foram imediatamente auferidos com um torquímetro (Model NS-1200ATG, Tohnichi, Japão).

Figure 2: Preparo do leito receptor



Fonte: Elaborado pelo autor

Figure 3: Instalação do implante



Fonte: Elaborado pelo autor

Figure 4: Colocação membrana



Fonte: Elaborado pelo autor

Figure 5: Sutura



Fonte: Elaborado pelo autor

Figure 6: Imobilização da peça



Fonte: Elaborado pelo autor

Figure 7: Contra torque

Fonte: Elaborado pelo autor

3.7 Análise estatística

Os resultados foram testados em sua normalidade e homogeneidade da sua variância respectivamente pelos testes de Liliefors e Bartlett. As diferenças de contra-torque e peso entre os grupos foram comparadas pelos teste T de Student, Qui-quadrado e Mann-Whitney quando adequado. A unidade de análise foi individualmente por animal, sendo as diferenças consideradas significativas para $p < 0.05$. Todas as análises foram realizadas usando o software estatístico SPSS, Version 14.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA.

4 ARTIGO

Assessment of the topical application of strontium ranelate for the repair of peri-implant bone in osteoporosis-induced rats

Artigo preparado dentro das normas do periódico The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants (Qualis A2).

Normas para submissão de artigos podem ser visualizadas no endereço eletrônico: <http://www.manuscriptmanager.com\jomi>

Assessment of the topical application of strontium ranelate for the repair of peri-implant bone in osteoporosis-induced rats

Thiago Fiuza Campos¹ / Fernando Oliveira Costa, PhD² / Alcione Maria Soares Dutra Oliveira, PhD³ / Peterson Antônio Dutra Oliveira, PhD⁴

¹ Master's degree student in Implant Dentistry. Graduate student in Dentistry at the Pontifical Catholic University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

² PhD in Health Sciences-Epidemiology at the Federal University of Minas Gerais. Associate Professor at the School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

³ PhD in Periodontics. Adjunct Professor at the School of Dentistry, Pontifical Catholic University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

⁴ PhD in Implant Dentistry. Adjunct Professor at the School of Dentistry, Pontifical Catholic University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

Corresponding author: Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Departamento de Odontologia, Av. Dom José Gaspar, 500 – Coração Eucarístico, Belo Horizonte, MG, Brazil, CEP: 30535-610, Tel.: +55 31 3319-4414
petersonperio@gmail.com

ABSTRACT

Purpose: This study aimed to assess the effect of topical application of strontium ranelate (SR) on the osseointegration of implants inserted into the tibia of osteoporosis-induced female rats. **Materials and methods:** Forty-two adult female rats were divided into 6 groups of seven animals each: G1 – healthy rats subjected to implant installation only (H); G2 – healthy rats subjected to implant installation associated with the application of a collagen membrane with Carbopol gel (HCMC); G3 – healthy rats subjected to implant installation associated with a collagen membrane with Carbopol gel and SR 1% (HCMSR); G4 – osteoporosis-induced rats subjected to implant installation only (O); G5 – osteoporosis-induced rats subjected to implant installation associated with a collagen membrane with Carbopol gel (OCMC); and G6 – osteoporosis-induced rats subjected to implant installation associated with a collagen membrane with Carbopol gel and SR 1% (OCMSR). A titanium screw was tightened in the left tibia of all animals. The animals were euthanized after 28 days, the tibias were recovered, and the counter-torque force (CTF) was measured immediately. **Results:** The average CTF of all healthy rats was higher than that of any osteoporosis-induced rats ($HCMSR > H = HCMC > OCMSR > O = OCMC$; $p < 0.001$). When comparing animals in the healthy groups to those in the osteoporosis-induced groups, we found that animals receiving SR (HCMSR and OCMSR) showed an average CTF that was significantly higher ($p < 0.001$) than that of other groups ($HCMSR > H = HCMC$) and ($HCMSR > H = HCMC$). **Conclusion:** The topical application of SR associated with a collagen membrane significantly increased the CTF required to break the bone/implant contact of both healthy and osteoporosis-induced rats.

Keywords: Strontium ranelate. Bone repair. Osteoporosis. Counter-torque.

INTRODUCTION

The high success rates with implant therapy in oral rehabilitation depend on several factors such as age of the individual, bone quality, implant time,^{1,2} characteristics related to implant design, type of surface, and surgical technique.³

Osteoporosis is a multifactorial and progressive skeletal disorder characterized by bone mass reduction and subsequent microarchitecture deterioration. It is caused, among other factors, by a decrease in estrogen secretion, which leads to poor bone quality and increases the risk for fracture.⁴

Previous experiments in animals showed that when osteoporosis is induced by glucocorticoids, the first effect produced seems to be the stimulation of osteoclasts, which increase bone resorption. Osteoporosis follows changes in both bone formation and resorption, which influence the speed of bone repair.⁵⁻⁷ Although osteoporosis is not an absolute contraindication for the installation of dental implants, some results demonstrate that the poor quality of the recipient bone can compromise the initial stability of the implant or even the maintenance of osseointegration.^{8,9}

Strontium ranelate (SR), a drug used in the treatment of osteoporosis, presents many similarities with Calcium, such as intestinal absorption, bone incorporation, and renal clearance.¹⁰ The mechanism of action of SR is still not totally understood. However, it has been suggested that the signaling pathway through which SR exerts control of osteoclasts' activity is mediated by the activation of extracellular calcium-sensing receptors (Ca-sRs). Therefore, when it interacts with Ca-sRs, strontium exhibits a dual effect as it promotes a reduction in bone resorption by inducing apoptosis of osteoclasts^{11,12} and promotes the proliferation of osteoblasts, which favors the formation of bone tissue.^{13,14}

The results obtained from studies in humans showed a reduction in the prevalence of hip and spinal fractures after the oral administration of SR in the treatment of osteoporosis.^{15,16} The oral administration of SR was shown to improve the osseointegration of the implants in animals^{17,18} and to have a positive effect on fracture healing in ovariectomized rats in relation to the quality and quantity of newly formed bone tissue.^{19,20} Favorable changes in bone microarchitecture were also reported in healthy female rats subjected to oral therapy with SR: increased tissue resistance, decreased resorption, and increases in bone formation.^{21,22}

Another route of administration has been described with the incorporation of SR into Titanium²³⁻²⁵ or as a substitute of the hydroxyapatite-coated surface of implants,^{26,27} showing positive effects on osseointegration.

This study aimed to assess the effects of topical application of SR 1% gel on the peri-implant bone repair of rats with induced osteoporosis.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

The animal models used for this study were 42 adult *Wistar* female rat, *Rattus norvegicus albinus*, 20 weeks old, weighing between 240 and 300 g, obtained from the Institute of Biological Sciences of the Pontifical Catholic University of Minas Gerais. This study was approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation of the Federal University of Minas Gerais (Protocol No. 366/2015).

The sample was divided into 6 groups of 7 animals each: G1 (H) – healthy animals subjected to implant installation only; G2 (HCMC) – healthy animals subjected to implant installation associated with collagen membrane + Carbopol gel; G3 (HCMSR) – healthy animals subjected to implant installation associated with collagen membrane + Carbopol gel and SR 1%; G4 (O) – osteoporotic animals subjected to implant installation only; G5 (OCMC) – osteoporotic animals subjected to implant installation associated with collagen membrane + Carbopol gel; and G6 (OCMSR) – osteoporotic animals subjected to implant installation associated with collagen membrane + Carbopol gel and SR 1%;

The animals were housed individually, one per cage, with a proper temperature and light control, and *ad libitum* water and feed.

Induction of osteoporosis

Osteoporosis was induced by the intramuscular administration of dexamethasone 7 mg/kg body weight (Azium Solução® Schering-Plough – São Paulo, Brazil), once a week for 5 weeks.²⁸ Control groups received 0.9% NaCl, via the same route of administration. The time of application and volume administered were the same in all the test groups. (Fig.1)

Membrane preparation and loading

We used a collagen membrane (*SurgiDry*®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil), formed by an organic matrix of type I collagen polymerized and purified in its fibrillar form (sponge), with hemostatic characteristic and rapid resorption. The membrane, of 1 cm x 1 cm size, was soaked in 2 mL of Carbopol gel (Farmaquímica S.A., Rio Grande do Sul, Brazil), with or without SR 1% (BioX Corporation, Ontario, Canada).

Surgical technique

After weighing to determine the appropriate dose of the drug, the animals were anesthetized by the intramuscular administration of a combination of sedative and muscle relaxant, i.e., xylazine 2% (10 mg/kg – Ronpum®; Bayer, São Paulo, Brazil) and an anesthetic base, i.e., ketamine hydrochloride 10% (70 mg/kg – Dopalen®; Vetbrands, São Paulo, Brazil).

Cleaning and sterilization of the surgical site was performed using 2.0% chlorhexidine digluconate (MANIFAR® – Belo Horizonte, Brazil), followed by trichotomy of the left tibia region with stainless steel and polytetrafluoroethylene blades (Gillette®).

Using a No. 15 scalpel blade (Solidor®), an incision was carried out horizontally to separate the muscles from other tissues through blunt dissection. After bone exposure, the recipient bed was prepared using a 1.1 mm diameter drill (NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brazil), transfixing the tibia (bicortical). Then, a 1.3 mm diameter drill was used only in the upper cortical region in order to primarily stabilize the implant.^{29,30} A 1:16 contra-angle (KaVo®) and implant motor (BLM 600 DRILLER®) were used at 500 rpm. The surgical site was irrigated constantly and

abundantly using sterile saline solution. A 4 mm long implant, with 1.5 mm diameter (made of Titanium grade 4 (NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brazil), was inserted using a handpiece (NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brazil), until its head touched the cortical bone and presented mechanical stability. The membrane was immediately inserted into the surgical site prior to closure. The wound was closed with single sutures using a 5-0 nylon thread (Biosut, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil). Sutures were removed after 7 days.

Postsurgical monitoring

All animals were monitored postoperatively until the end of the anesthetic effect and received an intramuscular injection of a single dose of OXYTETRACYCLINE antibiotic, 25 mg/kg body weight (Terramicina – Pfizer, São Paulo, Brazil) and of flunixin/meglumine anti-inflammatory compound 1.1 mg/kg body weight (Banamine injectable solution – PET, Cruzeiro, Brazil). The animals were orally administered 10 mg/kg body weight acetaminophen diluted in water for 2 days, to reduce pain.

Animal euthanasia and CTF measurement

Twenty-eight days after implant installation, the animals were euthanized using an overdose of ketamine (240 mg/kg) and xylazine (45 mg/kg). The tibias were harvested and cleansed. The pieces were immobilized on a bench vise in order to allow the insertion of the key perpendicularly to the screw head. The CTF required for the removal of the implants from the bone tissue was measured immediately using a torque wrench (Model NS-1200ATG, Tohnichi, Japan).

Statistical analysis

The data were tested for normality and homogeneity of variance, using the Lilliefors and Bartlett's tests, respectively. The differences of the CTF and in animal weight were compared using the Student's t-test, Pearson's chi-square test, and Mann-Whitney U test, when necessary. The analysis unit was per animal, and differences were considered significant when $p < 0.05$. All analyses were performed using SPSS statistical software, Version 14.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA.

RESULTS

The weight of the animals in the healthy and osteoporosis-induced groups was homogeneous (average $277.5\text{g} \pm 65.0$), without any significant differences between initial evaluation ($p=0.92$) and the post-treatment ($p=0.89$).

Table 1 shows a comparison between the different groups in relation to CTF. The HCMSR group had a significantly higher average CTF than other groups ($p < 0.001$), showing that the use of collagen membrane + Carbopol gel associated with SR 1% increased the force necessary to break the bone/implant interface in relation to other groups. Notably, among the healthy animal groups, no significant differences were found between animals subjected only to the implant and those treated with the implant associated with collagen membrane and Carbopol gel ($H = \text{HCMC}$).

All healthy groups showed an average CTF significantly higher than that showed by groups with osteoporosis ($\text{HCMSR} > H = \text{HCMC} > \text{OCMSR} > O = \text{OCMC}$; $p < 0.001$). In addition, the osteoporosis-induced animals that received adjunctive therapy of 1% SR showed better outcomes than those that received only implant or

those with collagen membrane associated with Carbopol gel (OCMSR>O=OCMC). The collagen membrane with Carbopol gel did not influence the CTF in either the healthy group or the osteoporosis-induced group.

Table 2 shows the results of the comparison between healthy and osteoporosis-induced animal groups with respect to CTF. We observed a significant difference ($p<0.001$) in the CTF required to break bone/implant interface; healthy animals required higher average CTF when compared to osteoporosis-induced animals.

DISCUSSION

This study offers the first description of the effect of local application of 1% SR gel incorporated to a collagen membrane on peri-implant bone repair in osteoporosis-induced adult female rats.

We hypothesized that a collagen membrane soaked with Carbopol gel 1% could act as slow-release SR device at the surgical site, contributing to osseointegration.

The CTF required to break the implant/bone interface was significantly higher in healthy animals that received the collagen membrane loaded with SR gel 1% (HCMSR) than in the other groups (H–HCMC). These findings corroborate the study published by Ammann *et al.*²¹, who found changes in bone microarchitecture with an increase in tissue resistance, decrease in bone resorption, and increase in bone formation in healthy rats subjected to oral therapy with SR. In addition, Wohl *et al.*³¹ suggested that the anabolic effect of SR both in healthy and osteoporotic bones is associated with increased osteoblastic differentiation of bone marrow cells and not to levels of strontium present in the animals' bone.

The results showed a significant increase in CTF in the osteoporotic group that received SR 1% gel (OCMSR) than in groups without any application (O) or with application of the membrane with Carbopol only (OCMC). The O and OCMC groups showed no difference in CTF, suggesting that the use of collagen membrane and Carbopol gel did not significantly influence CTF. Our findings corroborate those of other researchers^{17,18} who found a positive effect of SR (orally administered) on the CTF in osteoporosis-induced animals.

Our findings showed that healthy animals had an average CTF significantly higher than those belonging to the osteoporosis-induced groups did (HCMSR>H=HCMC>OCMSR>O=OCMC; $p<0.001$), thus demonstrating the effectiveness of the chemically-induced osteoporosis method and highlighting its deleterious effect in osseointegration. These results are in agreement with a study by Li *et al.*¹⁸, in which the authors showed that even using SR systemically, it was possible to observe an increase of 117% in CTF and 103% in shear strength in animals that were treated with SR when compared to animals receiving only the placebo. Duarte *et al.*⁹, using a histometric evaluation method in ovariectomized rats subjected to tibia implants, showed lower percentage of contact between bone/implant and bone density in the tested group, reinforcing the deleterious effect of estrogen deficiency on osseointegration. In osteoporosis, there is a reduction of bone mineral density associated with a decrease in the number of osteoblast precursor cells and osteoblasts in the bone marrow. A significant reduction in the cancellous bone area occurs with decreases in the average thickness of the trabecular wall, osteoid area, and mineral deposition rates, as well as an increase of apoptosis in both osteoblasts and osteoclasts.³²

The complete mechanism of the SR effect in bone tissue is still not fully established in the literature. According to Hurtel *et al.*¹⁴, the extracellular calcium-sensing receptors (Ca-sRs) can control the activity of the osteoclasts, since the strontium molecule is an agonist of these receptors. Hence, it is suggested that strontium promotes the reduction of bone resorption by inducing apoptosis of osteoclasts when interacting with Ca-sR. On the other hand, when strontium interacts with osteoblasts Ca-sR, it increases their replication and decreases their apoptosis.

We wish to acknowledge the limitations to this study. First, method used in this study to evaluate the level of bone/implant contact, i.e., the CTF. Second, there are relatively few studies using the same animal model to compare results. However, we note that previous results were similar to the results of this study.

Systemic administration of strontium ranelate has been shown to promote osseointegration of implants. Likewise, topical administration of SR by incorporating it to either titanium²³⁻²⁵ or the hydroxyapatite-coated surface of the implants^{26,27} has shown encouraging results. We have presented a different means of topical administration of SR that resulted in enhanced contact of bone/implant. Although this route of administration requires further study to understand the mechanism of drug delivery, ideal concentration, and identify potential adverse effects, we believe the findings support the pursuit of human studies.

CONCLUSION

Topical application of SR associated with collagen membrane significantly increased the CTF required to break the bone/implant contact, in the groups of both healthy animals and animals subjected to chemically induced osteoporosis.

REFERENCES

1. Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *J Clin Periodontol* 2002;29:e197-e212.
2. Romanos G, Froum S, Hery C, Cho S-C, Tarnow D. Survival rate of immediately vs delayed loaded implants: analysis of the current literature. *J Oral Implantol* 2010;35:315-324.
3. Branemark PI. Introduction to osseointegration. Chicago, IL: Quintessence Publishing Co.; 1985.
4. Martin RM, Correa PH. Bone quality and osteoporosis therapy. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2010 Mar;54(2):186-199.
5. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids: potential mechanisms of their deleterious effects on bone. *J Clin Invest* 1998;102:274-282.
6. O'Brien CA, Jia D, Plotkin LI, Bellido T, Powers CC, Stewart SA, et al. Glucocorticoids act directly on osteoblasts and osteocytes to induce their apoptosis and reduce bone formation and strength. *Endocrinology* 2004;145:1835-1841.
7. Jia D, O'Brien CA, Stewart SA, Manolagas SC, Weinstein RS. Glucocorticoids act directly on osteoclasts to increase their lifespan and reduce bone density. *Endocrinology* 2006;147:5592-5599.
8. Kribbs PJ. Comparison of mandibular bone in normal and osteoporotic women. *J Prosthet Dent*, 1990 May;63:218-222.

9. Duarte PM, César Neto JB, Gonçalves PF, Sallum EA, Nociti JF. Estrogen deficiency affects bone healing around titanium implants: A histometric study in rats. *Implant Dent*, 2003 May;12(4):340-345.
10. Neuprez A, Hiligsmann M, Scholtissen S, Bruyere O, Reginster JY. Strontium ranelate: the first agent of a new therapeutic class in osteoporosis. *Adv Ther*, 2008 May;25(12):1235-1256.
11. Kameda T, Mano H, Yamada Y, Takai H, Amizuka N, Kobori M, et al. Calcium-sensing receptor in mature osteoclasts. *Biochem Biophys Res commun*; 1998 Apr;245(2):419-422.
12. Kanatani M, Sugimoto T, Kanzawa M, Yano S, Chihara K. High extracellular calcium inhibits osteoclast-like cell formation by directly acting on the calcium-sensing receptor existing in osteoclast precursor cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999 July;261(1):144-148.
13. Chattopadhyay N, Quinn SJ, Kifor O, Ye C, Brown EM. The calcium-sensing receptor (CaR) is involved in strontium ranelate-induced osteoblast proliferation. *Biochem Pharmacol*, 2007 Aug;74(3):438-447.
14. Hurtel-Lemaire AS, Mentaverri R, Caudrillier A, Cournarie F, Wattel A, Kamel S, et al. The calcium-sensing receptor is involved in strontium ranelate-induced osteoclast apoptosis. New insights into the associated signaling pathways. *J Biol Chem*, 2009 Jan;284(1):575-584.
15. Meunier PJ, Slosman DO, Delmas PD, Sebert JL, Brandi ML, Albanese C. et al. Strontium ranelate: dose-dependent effects in established postmenopausal vertebral osteoporosis a 2-year randomized placebo controlled trial. *J Clin Endocrinol Metabol*, 2002 June;87:2060-2066.

16. Reginster JY, Deroisy R, Dougados M, Jupsin I, Colette J, Roux C. Prevention of early postmenopausal bone loss by strontium ranelate: the randomized, two-year, double-masked, dose-ranging, placebo-controlled Prevos trial. *Osteoporos Int*, 2002 Dec;13:925-931.
17. Li Y, Li Q, Zhu S, Luo E, Li J, Feng G, et al. The effect of strontium-substituted hydroxyapatite coating on implant fixation in ovariectomized rats. *Biomater* 2010 Dec;31(34):9006-9014.
18. Li Y, Li X, Song G, Chen K, Yin G, Hu J. Effects of strontium ranelate on osseointegration of titanium implant in osteoporotic rats. *Clin Oral Implant Res*, 2012 Sept;23(9):1038-1044.
19. Habermann B, Kafchitsas K, Olender G, Augat P, Kurth A. Strontium ranelate enhances callus strength more than PTH 1–34 in an osteoporotic rat model of fracture healing. *Calcif Tissue Int* 2010;86:82-89.
20. Li YF, Luo E, Feng G, Zhu SS, Li JH, Hu J. Systemic treatment with strontium ranelate promotes tibial fracture healing in ovariectomized rats. *Osteoporos Int* 2010;21:1889-1897.
21. Amman P, Shen V, Robin B, Mauras Y, Bonjour Jr. P, Rizzoli R. Strontium ranelate improve bone resistance by increasing bone mass and improving architecture in intact female rats. *J Bone Miner Res* 2004;19:2012-2020.
22. Boyd SK, Szabo E, Ammann P. Increased bone strength is associated with improved bone microarchitecture in intact female rats treated with strontium ranelate: A finite element analysis study. *Bone*, 2011 May;48(5):1109-1116
23. Park JW, Kim HK, Kim YJ, Jang JH, Song H, Hanawa T. Osteoblast response and osseointegration of a Ti-6Al-4V alloy implant incorporating strontium. *Acta Biomater* 2010;6:2843-2851.

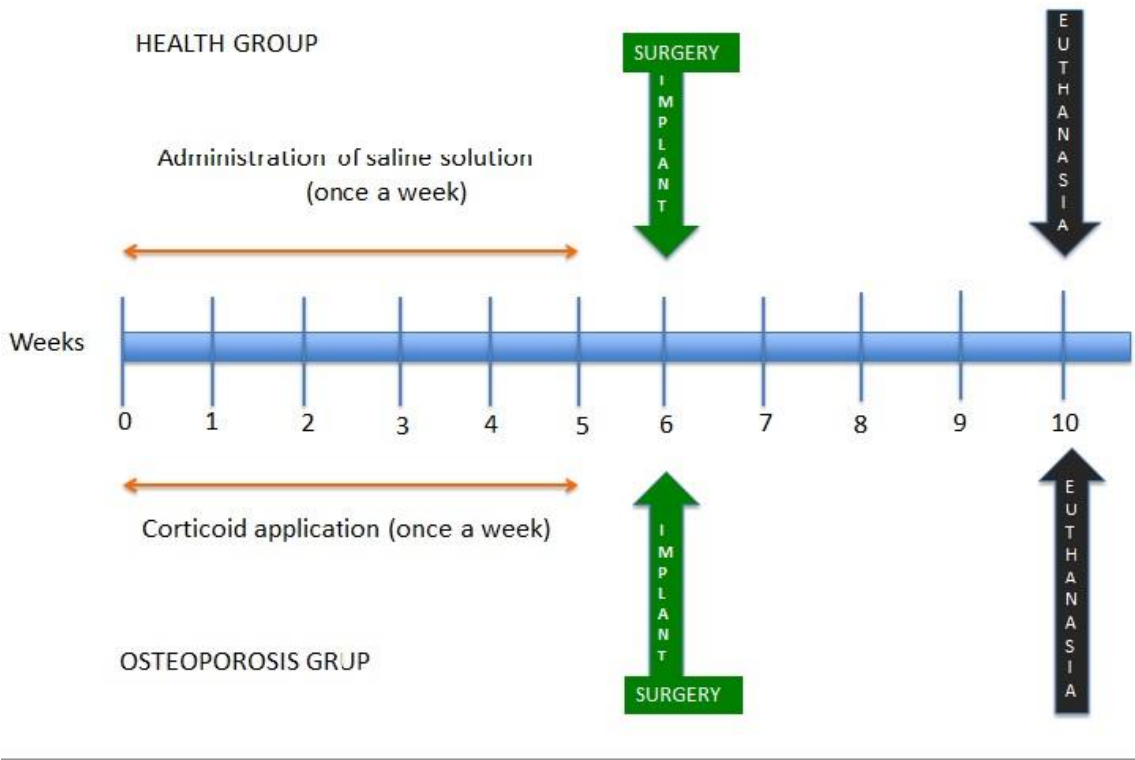
24. Park JW, Kim YJ, Jang JH, Song H. Positive modulation of osteogenesis- and osteoclastogenesis-related gene expression with strontium-containing microstructured Ti implants in rabbit cancellous bone. *J Biomed Mater Res A* 2013;101:298-306.
25. Andersen OZ, Offermanns V, Sillassen MA, Almtøfy KP, Andersen IH, Sørensen S, et al. Accelerated bone ingrowth by local delivery of strontium from surface functionalized titanium implants. *Biomater*, 2013;34:5883-5890.
26. Li Y, Feng G, Gao Y, Luo E, Liu X, Hu J. Strontium ranelate treatment enhances hydroxyapatite-coated titanium screws fixation in osteoporotic rats. *J Orthop Res*, 2010 May;28(5):578-582.
27. Fu DL, Jiang QH, He FM, Yang GL, Liu L. Fluorescence microscopic analysis of bone osseointegration of strontium-substituted hydroxyapatite implants. *J Zhejiang Univ Sci B* 2012;13:364-371.
28. PINTO A. S., OLIVEIRA T. T. , CARLO R. J. D. , FONSECA T. J. N, DE MORAES C. C., G. H. K., FERREIRA J.D. B., CARDOSO C. A.. Effects of combined treatment of alendronate of sodium, calcic atorvastatin and ipriflavone in osteoporosis induced with dexamethasone in female rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* vol. 42, n. 1, jan./mar., 2006
29. Guimarães RP, de Oliveira PAD, Oliveira AMSD. Effects of induced diabetes and the administration of aminoguanidine in the biomechanical retention of implants: A study in rats. *J Periodontal Res* 2011;46(6):691-696.
30. Aiala GF, Alcione MSDO, Fernando OC, Denise LF, Armando Jr SC, Peterson ADO. Effect of local application of aminoguanidine on the biomechanical

retention of implants in rats with induced diabetes. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013;28:1272-1277.

31. Wohl GR, Chettle DR, Pejović-Milić A, Druchok C, Webber CE, Adachi JD, et al. Accumulation of bone strontium measured by in vivo XRF in rats supplemented with strontium citrate and strontium ranelate. *Bone*, 2013 Jan;52(1):63-69.
32. Borba VZC, Castro ML. Osteoporose induzida por glicocorticoide. *Arq Bras Endocrinol Metabolic*, 1999 dez;43(6):452-456.

FIGURE

Figure 1



TABLES

Table 1. Comparison between groups in relation to the counter-torque force (N/cm)

	Average	SD	P
H	2.17	$\pm 0.21^b$	
HCMC	1.98	$\pm 0.11^b$	
HCMSR	2.52	$\pm 0.23^a$	
O	1.24	$\pm 0.22^d$	
OCMC	1.12	$\pm 0.15^d$	
OCMSR	1.62	$\pm 0.24^c$	

p<0.001

Student's t-test for independent samples; different letters represent statistically significant differences;

HCMSR>H=HCMC>OCMSR>O=OCMC

Table 2. Comparison between healthy rats and osteoporosis-induced rats in relation to the counter-torque force (N/cm)

	Average	SD	P
H	2.2	$\pm 0.81^a$	
O	1.3	$\pm 0.63^b$	
			p<0.001

Pearson's chi-square test, different letters represent statistically significant differences; H>O

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação tópica do Ranelato de Estrôncio em uma membrana de colágeno reabsorvível no local de instalação do implante aumentou de forma significativa a força de contra-torque necessário para romper o contato osso/ implante tanto no grupo de animais saudáveis quanto nos com osteoporose quimicamente induzida.

A indução da osteoporose não influenciou no peso dos animais.

A aplicação de glicocorticoides na indução da osteoporose demonstrou ser um método eficaz.

REFERÊNCIAS

- AIALA, G.F. et al. Effect of Local Application of aminoguanidine on the biomechanical retention of implants in rats with induced diabetes. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v.28, p. 1272-1277, 2013.
- AMMAN, P. et al. Strontium ranelate improve bone bone resistance by increasing bone mass and improving architecture in intact female rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.19, p. 2012-2020, 2004.
- ANDERSEN, O.Z. et al. Accelerated bone ingrowth by local delivery of strontium from surface functionalized titanium implants. **Biomaterials**, v.34, p. 5883-5890, 2013.
- BERGLUNDH, T.; PERSSON, L.; KLINGE, B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. **Journal of Clinical Periodontology**, v.29, p. e197-e212, 2002.
- BOYD, S.K.; SZABO, E.; AMMANN, P. Increased bone strength is associated with improved bone microarchitecture in intact female rats treated with strontium ranelate: A finite element analysis study. **Bone**, v.48, p. 1109-1116, 2011.
- BRANEMARK, P.I. Osseointegration and its experimental background. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v.50, p. 390-410, Sept. 1983.
- BRANEMARK, P.I. **Introduction to osseointegration**. Chicago, IL: Quintessence Publishing Co.; 1985.
- CHATTOPADHYAY, N. et al. The calcium-sensing receptor is involved in strontium ranelate-induce osteoblast proliferation. **Biochemical Pharmacology**, v.74, n.3, p. 438-447, Aug. 2007.
- DUARTE, P.M. et al. Estrogen deficiency affects bone healing around titanium implants: A histometric study in rats. **Implant Dentistry**, v.12, p. 340-345, May 2003.
- ER, K. et al. Cytotoxicity analysis of strontium ranelate on cultured human periodontal ligament fibroblasts: a preliminary report. **Journal of the Formosan Medicine Association**, v.107, n.8, p. 609-615, Aug. 2008.
- FU, D.L. et al. Fluorescence microscopic analysis of bone osseointegration of strontium-substituted hydroxyapatite implants. **Journal of Zhejiang University Science B**, v.13, p. 364-371, 2012.
- GUIMARÃES, R.P.; DE OLIVEIRA, P.A.D.; OLIVEIRA, A.M.S.D. Effects of induced diabetes and the administration of amino guanidine in the biomechanical retention of implants: A study in rats. **Journal of Periodontal Research**, v.46, p. 691-696, 2011.

HABERMANN, B. et al. Strontium ranelate enhances callus strength more than PTH 1-34 in an osteoporotic rat model of fracture healing. **Calcified Tissue International**, v.86, p. 82-89, 2010.

HURTEL-LEMAIRE, A.S. et al. The calcium-sensing receptor is involved in strontium ranelate-induced osteoclast apoptosis. New insights into the associated signaling pathways. **Journal Biological Chemequist**, v.284, n.1, p. 575-584, Jan. 2009.

JIA, D. et al. Glucocorticoids act directly on osteoclasts to increase their lifespan and reduce bone density. **Endocrinology**, v.147, p. 5592-5599, 2006.

KAMEDA, T. et al. Calcium-sensing receptor in mature osteoclasts. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.245, n.2, p. 419-422, Apr. 1998.

KANATANI, M. et al. High extracellular calcium inhibits osteoclast-like cell formation by directly acting on the calcium-sensing receptor existing in osteoclast precursor cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.261, n.1, p. 144-148, July 1999.

KYLLÖNEN, L. et al. Local drug delivery for enhancing fracture healing in osteoporotic bone. **Acta Biomaterialia**, v.11, p. 412-434, Jan. 2015.

KRIBBS, P.J. Comparison of mandibular bone in normal and osteoporotic women. **Journal Prosthetic Dentistry**, v.63, p. 218-222, May 1990.

LI, Y.F. et al. Systemic treatment with strontium ranelate promotes tibial fracture healing in ovariectomized rats. **Osteoporosis International**, v.21, n.11, p. 1889-1897, Nov. 2010.

LI, Y. et al. Strontium ranelate treatment enhances hydroxyapatite-coated titanium screws fixation in osteoporotic rats. **Journal of Orthopaedic Research**, v.28, n.5, p. 578-582, May 2010a.

LI, Y. et al. The effect of strontium-substituted hydroxyapatite coating on implant fixation in ovariectomized rats. **Biomaterials**, v.31, p. 9006-9014, 2010b.

LI, Y. et al. Effects of strontium ranelate on osseointegration of titanium implant in osteoporotic rats. **Clinical Oral Implants Research**, v.23, n.9, p. 1038-1044, Sept. 2012.

LONG, M.W. Osteogenesis and bone-marrow-derived cells. **Blood Cells and Molecules and Diseases**, v.27, p. 677-690, May 2001.

MARTIN, R.M.; CORREA, P.H. Bone quality and osteoporosis therapy. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.54, n.2, p. 186-199, Mar. 2010.

MEUNIER, P.J. et al. Strontium ranelate: dose-dependent effects in established postmenopausal vertebral osteoporosis a 2-year randomized placebo controlled trial.

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, v.87, n.5, p. 2060-2066, June 2002.

MEUNIER, P.J. et al. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. **New England Journal of medicine**, v.350, p. 459-468, Jan. 2004.

MEINÃO, I.M. et al. Doenças Osteometabólicas. In: MOREIRA, C.; CARVALHO, M.A.P. **Noções práticas de reumatologia**. Belo Horizonte: Health; 1998. p. 379-404.

NEUPREZ, A. et al. Strontium ranelate: the first agent of a new therapeutic class in osteoporosis. **Advances in Therapy**, v.25, p. 1235-1256, May 2008.

O'BRIEN, C.A. et al. Glucocorticoids act directly on osteoblasts and osteocytes to induce their apoptosis and reduce bone formation and strength. **Endocrinology** v.145, p. 1835-1841, 2004.

PABLOS, A.B. et al. Effect of meloxicam and diclofenac sodium on periimplant bone healing in rats. **Journal of Periodontology**, v.79, p. 300-306, Feb. 2008.

PARK, J.W. et al. Osteoblast response and osseointegration of a Ti–6Al–4V alloy implant incorporating strontium. **Acta Biomaterials**, v.6, p. 2843-2851, 2010.

PARK, J.W. et al. Positive modulation of osteogenesis- and osteoclastogenesis-related gene expression with strontium-containing micro structured Ti implants in rabbit cancellous bone. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v.101, p. 298-306, 2013.

REGINSTER, J.Y. et al. Prevention of early postmenopausal bone loss by strontium ranelate: the randomized, two-year, double-masked, dose-ranging, placebo-controlled Prevos trial. **Osteoporosis International**, v.13, p. 925-931, Dec. 2002.

RENNÓ, A.C.M.; DRIUSSO, P.; FERREIRA, V. Atividade física e osteoporose: uma revisão bibliográfica. **Fisioterapia e Movimento**, v.13, n.2, p. 49-54, maio 2001.

ROMANOS, G. et al. Survival rate of immediately vs delayed loaded implants: analysis of the current literature. **The Journal of Oral Implantology**, v.35, p. 315-324, 2010.

SANTOS, P. S. *Desenvolvimento de um modelo experimental para o estudo da osteoporose*. 2004. 50 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

WEINSTEIN, R.S. et al. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids: potential mechanisms of their deleterious effects on bone. **The Journal of Clinical Investigation**, v.102, p. 274-282, 1998.

YAMOTO, N.; FURUYA, K.; HANADA, K. Progressive development of the osteoblast phenotype during differentiation of osteoprogenitor cells derived from fetal rat calvaria: model in vitro bone formation. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.25, n.4, p. 509-515, Apr. 2002.

ZARB, G.A.; SCHIMITT, A. The longitudinal clinical effectiveness of osseointegrated dental implants: The Toronto study. Part. III: Problems and complications encountered. **The Journal of Prosthetic Dentistry** (Saint Louis), v.64, n.2, p. 85-94, Aug. 1990.

ANEXO A - Certificado de Aprovação da Comissão de Ética no uso de Animais

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº. 366 / 2015, relativo ao projeto intitulado “Avaliação da aplicação tópica do Ranelato de Estrôncio no reparo ósseo periimplantar na osteoporose induzida em ratos”, que tem como responsável FERNANDO DE OLIVEIRA COSTA, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMG), tendo sido aprovado na reunião de 24/11/2015. Este certificado espira-se em 24/11/2020.

CERTIFICATE

We hereby certify that the Protocol nº. 366 / 2015, related to the Project entitled “Evaluation of topical application of Strontium ranelate on bone healing in the peri-implant induced osteoporosis in rats”, under the supervision of FERNANDO DE OLIVEIRA COSTA, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEUA/UFMG), and was approved in 24/11/2015. This certificates expires in 24/11/2020.

Cleuza Maria de Faria Rezende

Coordenador(a) da CEUA/UFMG
Belo Horizonte, 24/11/2015.

Atenciosamente.

Sistema CEUA-UFMG

<https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/>

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br