



CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS
CURSO DE ODONTOLOGIA

RAVY JUCÁ FARIAS

**INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO CRÔNICO COM ANASTROZOL
NAREMODELAÇÃO ÓSSEA EM RATAS SUBMETIDAS A
EXODONTIA**

FORTALEZA

2023

Ravy Jucá Farias

INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO CRÔNICO COM ANASTROZOL NA
REMODELAÇÃO ÓSSEA EM RATAS SUBMETIDAS A EXODONTIA

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao curso de odontologia do Centro
Universitário Christus, como requisito parcial
para obtenção do título de bacharel em
odontologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Rafael Linard Avelar

FORTALEZA
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Centro Universitário Christus - Unichristus
Gerada automaticamente pelo Sistema de Elaboração de Ficha Catalográfica do
Centro Universitário Christus - Unichristus, com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F224i Farias, Ravy Jucá.
Influencia do tratamento crônico com anastrozol na remodelação
óssea em ratas submetidas a exodontia. / Ravy Jucá Farias. - 2023.
24 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Centro
Universitário Christus - Unichristus, Curso de Odontologia,
Fortaleza, 2023.
Orientação: Prof. Dr. Rafael Linard Avelar.
Coorientação: Prof. Dr. Paulo Goberlanio De Barros Silva.

1. Anastrozol. 2. Remodelação Óssea. 3. Câncer de Mama. 4.
Inflamação. 5. Terapia Hormonal. I. Título.

CDD 617.6

RAVY JUCÁ FARIAS

INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO CRÔNICO COM ANASTROZOL NA
REMODELAÇÃO ÓSSEA EM RATAS SUBMETIDAS A EXODONTIA

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao curso de odontologia do
Centro Universitário Christus, como
requisito parcial para obtenção do título de
bacharel em odontologia.

Orientador(a): Prof. Dr.
Prof. Dr. Rafael Linard Avelar

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Prof. Dr. Rafael Linard Avelar
(Orientador) Centro Universitário Christus
(UNICHRISTUS)

Prof. Dr. Paulo Goberlanio De Barros Silva
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Prof. Dr. Edson Luiz Certira Filho
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a **Deus**, que em sua infinita misericórdia nunca me deixou desacreditar dos sonhos que ele tem para mim. Sou grato por sua mão que me sustentou e me levou além em todos os momentos dessa trajetória. Obrigado, meu senhor, por me trazer até aqui e ser tão fiel a mim, e em momentos de fraqueza, fez-se forte em meu caminho. Quem te tem, tem tudo. Ao meu pai **José Kleber Farias Cardoso** e mãe **Lucilene Fernandes Jucá**, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e ajudando em tudo que está ao seu alcance para a realização desse sonho. Obrigado por tanto. Agradeço a Deus por serem meus pais, essa vitória é nossa.

Ao meus orientadores durante a graduação **Dr. Rafel Linard Avelar**, **Dr Paulo Goberlani De Barros Silva** e **Dr Edson Luiz Cetira Filho**, que me guiaram em toda caminhada, me ensinando e apoiando, sempre com calma e profissionalismo, empenharam-se em fazer de mim um bom um aluno, podendo explorar sempre meus limites e sempre superando-os. Obrigado professores pelos puxões de orelha, as correções durante o andamento das minhas pesquisa, e por acreditar no meu potencial e me apoiar desde o início, se dispo de forma tão completa e dedicada sempre. Foi e sempre será uma honra trabalhar com os senhores!

Aos meus queridos amigos **Antonio Asriel Dos Santos Almeida** e **Giselly Santos**, por toda torcida e apoio durante o fial dessa jornada. Obrigado por acreditarem sempre em mim. Com certeza vocês foram forças impulsionadoras nesse processo. Em especial ao **Antonio Asriel Dos Santos Almeida**, que em meio ao caos da graduação e das minhas dúvidas sobre, abriu meus olhos me encorajando e acreditando em mim, mesmo em meio a tantas dificuldades. Obrigado meu irmão, por apostar em mim, no profissional que serei e na nossa amizade. Sua amizade é um presente de Deus.

Ao meu amigo **Matheus de Oliveira e Silva**, realmente um presente que a Odontologia me deu. Agradeço por sua amizade e companheirismo durante a graduação e toda ajuda durante a construção desse trabalho. Você é um amigo incrível, posso chamalo de irmão.

A minha dupla **Alycinara Rodrigues**, que chegou no final, porem em pouco tempo, posso afirmar que crescemos e aprendemos juntos, sempre um apoiando o outro e você sempre me encorajando durante os atendimentos e em momentos difíceis compartilhados durantes nossas conversas. Ao final, os elogios e críticas dos professores durante os atendimentos clínicos sempre nos fortaleceram a sermos melhores a cada atendimento.

A minha querida e amada namorada **Nathalia de Aguiar Freitas**, que foi meu porto seguro quando eu mais precisei. Obrigado pelo companheirismo, apoio, puxões de orelha e todos os conselhos. Antes de tudo sempre foi minha amiga, a melhor que eu poderia ter. Hoje posso dizer que sou feliz e realizado ao seu lado, nossa caminhada está apenas começando.

Aos meus queridos professores do curso de graduação em Odontologia da Unichristus, que sempre se esforçaram em ser luz e guias no processo de aprendizado pelo qual passei. Sou muito grato a cada um. A todos as pessoas que puderam contribuir para o meu crescimento e desenvolvimento academico. Obrigado.

RESUMO

O câncer de mama é a neoplasia que mais causa morte em mulheres no Brasil. Existem inúmeros inibidores hormonais utilizados no tratamento adjuvante do câncer de mama positivo para receptores hormonais, dentre os quais o anastrozol apresenta o melhor benefício clínico. Apesar disso, inúmeros trabalhos têm demonstrado que o uso contínuo de anastrozol reduz significativamente a massa óssea devido ao bloqueio do efeito protetor do estrogênio. Com isso, o objetivo do estudo é avaliar a influência da terapia com anastrozol na cicatrização óssea em alvéolos pós exodontia em ratas Wistar. Foi realizado a remoção cirúrgica ou pseudo-remoção (grupo Sham operado) dos ovários das ratas uma semana antes da administração do anastrozol. Foram utilizadas 96 ratas Wistar divididas em quatro grupos experimentais, sendo administrada solução salina estéril (0,1ml/kg) ou anastrozol (0,5mg/kg em solução equivolúmica por gavagem) diariamente por 20 semanas, posteriormente foram submetidos ao protocolo de extração do primeiro molar inferior e eutanasiados após 7 e 14 (n=32/grupo/dia) dias depois do procedimento cirúrgico. A ocorrência de fraturas radiculares, o tempo cirúrgico e o peso dos dentes extraídos foram anotados. Os maxilares removidos e fixados em formol 10% tamponado e submetidos à avaliação radiográfica (mensuração de área de alvéolo dentário), histomorfométrica (dimensão da deposição de tecido conjuntivo cicatricial, percentual da área representada por tecido ósseo e número de polimorfonucleares (neutrófilos, mononucleares e osteoclastos). A análise estatística foi realizada através do software SPSS 20.0®, utilizando os testes ANOVA/Bonferroni ou Kruskal-Wallis/Dunn. De acordo com os resultados foram observados maior predominância de células inflamatórias no grupo Anastrozol comparado ao grupo Salina ou controle durante os períodos de 7 e 14 dias. Foram observados maior predominância de osteoclastos no grupo Anastrozol comparado ao grupo Salina ou controle (figura 2) durante os períodos de 7, o grupo Anastrozol no sétimo dia (D7) ($p < 0,05$) em comparação ao grupo Salina. Os resultados foram expressos em porcentagem do peso da rata dividido em números de semanas, foi observado uma curva crescente entre ambos os grupos até a 16 semana, o grupo Anastrozol demonstrou uma leve curva superior comparado ao grupo Salina (figura 3) com médias de 120 gramas e 110 gramas, respectivamente entre os grupos. Após 16 semana em diante houve regressão em ambos os grupos com grupo Anastrozol 100 gramas à 90 gramas e Salina com média de 110 gramas.

Palavras-chave: Anastrozol. Remodelação Óssea. Câncer de Mama. Inflamação. Terapia Hormonal.

ABSTRACT

Breast cancer is the neoplasm that causes the most death in women in Brazil. There are numerous hormonal inhibitors used in the adjuvant treatment of hormone receptor-positive breast cancer, among which anastrozole presents the best clinical benefit. Despite this, numerous studies have demonstrated that continuous use of anastrozole significantly reduces bone mass due to blocking the protective effect of estrogen. Therefore, the objective of the study is to evaluate the influence of anastrozole therapy on bone healing in post-extraction alveoli in Wistar rats. Surgical removal or pseudo-removal (Sham operated group) of the rats' ovaries was performed one week before the administration of anastrozole. 96 Wistar rats were used, divided into four experimental groups, with sterile saline solution (0.1ml/kg) or anastrozole (0.5mg/kg in equivolumetric solution by gavage) administered daily for 20 weeks. lower first molar and euthanized after 7 and 14 (n=32/group/day) days after the surgical procedure. The occurrence of root fractures, surgical time and weight of extracted teeth were noted. The jaws were removed and fixed in 10% buffered formaldehyde and subjected to radiographic evaluation (measurement of the dental socket area), histomorphometry (dimension of scar connective tissue deposition, percentage of the area represented by bone tissue and number of polymorphonuclear cells (neutrophils, mononuclear cells and osteoclasts). Statistical analysis was performed using SPSS 20.0® software, using the ANOVA/Bonferroni or Kruskal-Wallis/Dunn tests. According to the results, a greater predominance of inflammatory cells was observed in the Anastrozole group compared to the Saline or control group during periods of 7 and 14 days. a greater predominance of osteoclasts was observed in the Anastrozole group compared to the Saline or control group (figure 2) during periods of 7, the Anastrozole group on the seventh day (D7) ($p < 0.05$) in compared to the Saline group. The results were expressed as a percentage of the rat's weight divided into numbers of weeks, an increasing curve was observed between both groups until the 16th week, the Anastrozole group demonstrated a slight higher curve compared to the Saline group (figure 3) with averages of 120 grams and 110 grams, respectively between the groups. After 16 weeks onwards there was regression in both groups with Anastrozole group 100 grams to 90 grams and Saline group with an average of 110 grams.

Keywords: Anastrozole. Bone Remodeling. Breast cancer. Inflammation. Hormone Therapy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	09
2 OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo Geral	11
2.2 Objetivos Específicos	11
3 REFERENCIAL TEÓRICO	12
4 MATERIAIS E MÉTODOS	13
5 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	16
6 CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS	17
REFERÊNCIAS	20
APÊNDICES	21
ANEXOS.....	24

1 INTRODUÇÃO

1.1. Câncer de Mama

Atualmente o câncer de mama é a neoplasia que mais acomete mulheres no mundo e a principal causa de morte entre elas “INCA, 2003”. No Brasil, estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA) mostram que em 2008 aproximadamente 50 mil casos novos de câncer de mama ocorreram no país. Porém, pouco se conhece sobre as características das pacientes brasileiras com câncer de mama INCA, 2006.

Para escolher o melhor tratamento, levam-se em consideração diversos fatores, como características do tumor, idade da paciente e número de linfonodos axilares comprometidos. No momento do diagnóstico, são identificadas as pacientes com risco mais elevado de apresentar focos microscópicos de células tumorais em algum outro órgão “Freitas et al., 2014”, mas após o tratamento inicial é instituído um tratamento adjuvante com o objetivo de reduzir a taxa de recidiva, uma vez que alto tempo livre de recorrência é diretamente associado à melhor sobrevida global. Em tumores de mama negativos para receptores hormonais, o tratamento adjuvante é mais agressivo e normalmente são empregados esquemas de quimioterapia mais intensos LEBERT et al., 2018

No entanto, a maior parte dos tumores de mama são positivos para receptores hormonais e o bloqueio destes receptores prolonga a sobrevida livre de recorrência. O nome dessa modalidade terapêutica é hormonioterapia “REINERT; BARRIOS, 2017”.

1.2 Inibidores hormonais e metabolismo ósseo

O anastrozol é um inibidor de aromatase de terceira geração utilizando como primeira linha de tratamento adjuvante do câncer de mama inicial em mulheres jovens na pós-menopausa e paliativo em mulheres idosas com tumores metastáticos. Este fármaco é um inibidor altamente seletivo não-hormonal da aromatase, um complexo enzimático que participa da conversão da androstenediona em estrona e posteriormente estradiol, um subtipo de estrogênio que induz progressão tumoral células positivas, para receptores de estrogênio. Apresenta uma meia-vida de 40 a 50 horas, permitindo sua administração apenas uma vez ao dia. Alcança seu estado estacionário dentro de 7 a 10 dias após a administração contínua e possui metabolismo realizado principalmente pelo fígado. Os resíduos são eliminados pelos rins para que ocorra a excreção

através de urina e em menor grau nas fezes. MEHTA et al., 2019.

Apesar do benefício clínico, inúmeros trabalhos têm demonstrado que o uso contínuo de anastrozol reduz significativamente a massa óssea devido ao bloqueio do efeito protetor do estrógeno “EASTELL et al., 2008”. Recentes estudos sugerem efeito ósseo-protetor dos estrógenos que podem evitar perda óssea excessiva pelo mecanismo de induzir apoptose dos osteoclastos. Esse processo é de fundamental importância para a remodelação e cicatrização óssea pós exodontia e pós instalação de implantes dentários ósseos integrados. Com a redução da atividade ósseaprotetora do estrogênio em pacientes em uso de anastrozol espera-se menor neoformação óssea e, em casos mais severos, comprometimento do sítio ósseo pós exodontia. Durante a remodelação óssea pós exodontia é necessária a reparação da estrutura óssea e para preservação de sua qualidade. O anastrozol interfere na neoformação óssea podendo levar a atraso na cicatrização óssea). Fitas et al (2014), em um ensaio clínico observou que uma baixa taxa de remodelação óssea em adolescentes estava relacionada com a inibição de andrógenos, cujo efeitos no tecido ósseo ainda não estão totalmente elucidados.

Com o aumento da incidência de tumores de mama população, espera-se maior uso do anastrozol uma vez que em mais de 80% dos casos indica-se este medicamento. Dessa forma, compreender o papel do inibidor de aromatase anastrozol no metabolismo ósseo pós exodontia forneceria uma base científica para planejamento individualizado de procedimentos cirúrgicos em uma população crescente.

2 OBJETIVOS

2.2 Objetivo Geral

Investigar a influência do tratamento crônico com anastrozol na remodelação óssea em ratas submetidas a exodontia.

2.3 Objetivos Específicos

- Analisar os aspectos radiográficos dos alvéolos dentários pós-exodontia dos animais tratados e não tratados com Anastrozol.
- Avaliar histologicamente a cicatrização dos alvéolos dentários pós-exodontia nas diferentes fases do processo de reparo após 7 e 14 dias do procedimento cirúrgico nos grupos tratados e não tratados com Anastrozol.
- Avaliar histomorfometricamente o perfil celular e inflamatório dos alvéolos dentários pós-exodontia após as diferentes fases do processo de reparo nos dias citados nos grupos tratados e não tratados com Anastrozol.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

As estimativas apresentadas para o Brasil refletem o perfil semelhante ao de países desenvolvidos, entretanto, ainda convive com altas taxas de cânceres, associados a infecções, que são característicos de países em desenvolvimento. esse perfil é reflexo das desigualdades regionais tão peculiares ao Brasil, que vão desde as diferenças na expectativa de vida, condições socioeconômicas, até o acesso aos serviços de saúde para diagnóstico oportuno e tratamento adequado. Estima-se, no biênio 2018-2029 que a mulheres ocorrerá o aumento do surgimento de cânceres de mama, em media de 29,5% . INCA, 2018

Existem inúmeros inibidores hormonais utilizados no tratamento adjuvante do câncer de mama positivo para receptores hormonais. Dentre eles o anastrozol é um dos principais utilizados devido seu baixo custo e elevada eficácia em interromper e retardar a progressão da doença. (Reinert; Barris, 2017).

Dados clínicos, epidemiológicos e experimentais vêm mostrando que o risco de desenvolvimento do câncer de mama está relacionado à produção de hormônios sexuais. Condições endócrinas moduladas pela função ovariana, como a menarca precoce, menopausa tardia e gestação, assim como a utilização de estrógenos exógenos são componentes relevantes do risco de desenvolvimento do câncer de mama.(Eastell et al., 2008)

São várias as modalidades de tratamento do câncer de mama que incluem a cirurgia, a quimioterapia, a radioterapia, a hormonioterapia, a imunoterapia e a reabilitação. Geralmente, o tratamento do câncer requer a combinação de mais de um método terapêutico, o que aumenta a possibilidade de cura, diminui as perdas anatômicas, preserva a estética e a função dos órgãos comprometidos.

Amir e colaboradores em 2011, observou que individuos com maior duração do uso do inibidor da aromatase, pode-se associar ao aumento da probabilidade de desenvolver doenças cardiovasculares, e fraturas ósseas, mas uma probabilidade diminuída de trombose venosa e carcinoma endometrial.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Aspectos éticos e cálculo amostral

Esse trabalho foi submetido na Comissão Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário Christus e seguiu as diretrizes *ARRIVE Guidelines Checklist* para estudos com animais e foram adotadas condutas éticas para minimizar seu sofrimento com base nos princípios dos 3R (*reduction, refinement, replacement*).

Para isso, foi realizado um cálculo amostral baseado no estudo de NANG et al. (2012) que observou que a expressão de TNF- α , uma das principais citocinas associadas a OMB, é significativamente mais alta em células mesenquimais osteogênicas de pacientes com em uso de anastrozol em comparação a pacientes sem uso desse fármaco (Média \pm DP: 82 \pm 16 vs. 118 \pm 19 pg/ml) estimou-se necessário avaliar sete animais por grupo de estudo a fim de rejeitar a hipótese nula deste trabalho. Tendo em vista a possibilidade de perda de amostra foi acrescido 10% sobre esta, totalizando oito animais por grupo de estudo.

Utilizou-se ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) fêmeas pesando entre 180 e 220 gramas. Durante a realização dos experimentos, os animais foram mantidos no biotério de experimentação do Centro Universitário Christus com água e ração a libitum, em ciclo claro-escuro de 12h, temperatura de 20-25°C e foram pesados diariamente.

4.2. Grupos experimentais e desenho do estudo

O desenho experimental contou com distribuição em dois fatores: Fator 1 (indução de osteoporose por ovariectomia): consiste na realização de remoção cirúrgica ou pseudo-remoção (grupo Sham operado) dos ovários das ratas conforme descrito no tópico 3.5. Fator 2 (tratamento com anastrozol): consiste no tratamento com solução salina estéril (0,1ml/kg) ou anastrozol (0,5mg/kg em solução equivolúmica por gavagem) diariamente por 20 semanas (Mohamed et al., 2018). O curso temporal do experimento teve duração de 20 semanas, tempo necessário para desenvolvimento das alterações ósseas induzidas pela combinação entre o tratamento com anastrozol em ratas ovariectomizadas. Os animais foram submetidos, uma semana antes do início do tratamento com anastrozol, a ovariectomia (grupos operados) ou simulação do procedimento cirúrgico (grupo sham-operado).

Após anestesia (xilazina e quetamina, 20 e 80 mg/kg, respectivamente) realizou-se a tricotomia na região dorsal inferior dos animais e antissepsia da pele utilizando clorexidina 2%. Após

acesso cirúrgico utilizando duas incisões dorsolaterais na posição craniocaudal, que dispensam sutura muscular e grande amplitude do acesso cirúrgico, os ovários foram apreendidos utilizando uma pinça hemostática, sendo exteriorizados através da divulsão dos tecidos e excisados juntamente com uma porção da tuba uterina para sua completa remoção, por fim foi realizado a limpeza da ferida cirurgia e a cooptação dos bordos utilizando sutura em “X” (Mohamed et al., 2018).

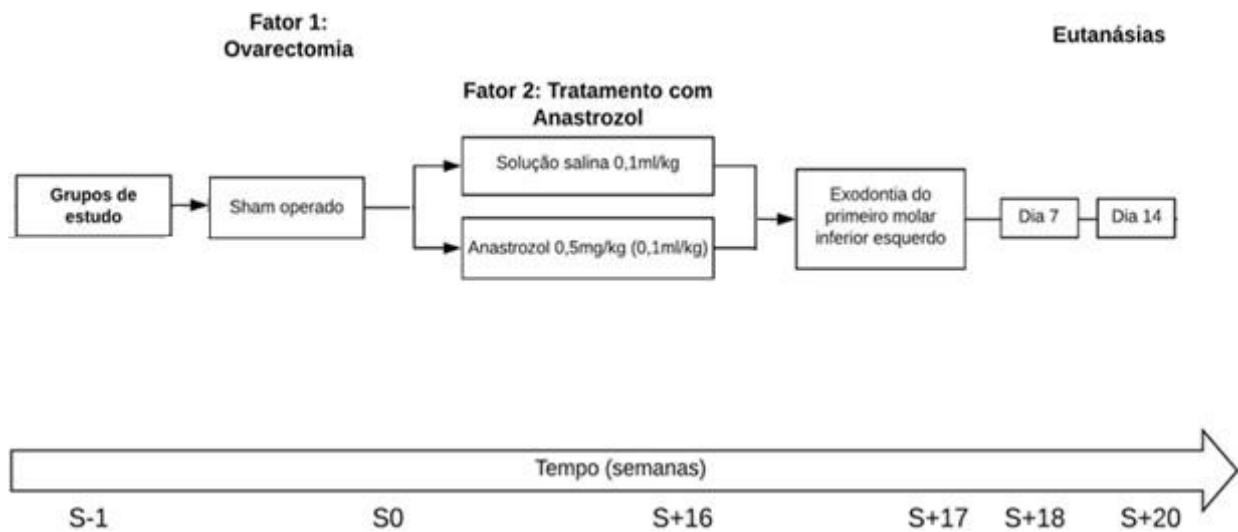


Figura 1: Desenho esquemático do modelo de exodontia em ratas tratadas com o inibidor seletivo não-esteroidal da aromatase anastrozol e submetidas ou não a ovariectomia. S = semana.

Após uma semana da cirurgia da simulação de ovariectomia foi realizada a remoção da sutura e iniciou-se a administração diária de solução salina 0,1ml/kg ou anastrozol 0,5mg/kg em solução equivolúmica, através de gavagem, mantendo-se a partir daí até o desfecho do estudo conforme proposto na Figura 1.

Dezesseis semanas após o início do tratamento com anastrozol os animais foram novamente anestesiados com xilazina e quetamina, 20 e 80 mg/kg, respectivamente, e submetidos a exodontia do primeiro molar inferior esquerdo e os animais foram eutanasiados após 7 e 14 dias da extração. Com esse desenho de estudo, utilizou-se um total de 32 ratas, assim distribuídas:

Cada grupo contou com oito ratas, totalizando 32 animais que foram aleatorizados (comando “=aleatório”, Microsoft Excel®, Microsoft Corporation) e divididos nos doze grupos experimentais abaixo descritos (n=8/grupo).

4.3 Protocolo de exodontia

Após anestesia foi realizada a sindesmotomia e luxação do primeiro molar inferior esquerdo com auxílio de espátula Holleback 3s por um único operador, previamente treinado e cego à randomização. Os animais foram acompanhados até retorno anestésico em caixas com luz incandescente para evitar hipotermia. Em seguida, foi contado o número de fraturas radiculares, sendo cronometrado o tempo de cada procedimento cirúrgico. Os dentes foram secos em papel absorvente e pesados em balança de 10^{-5} g de precisão (Silva et al., 2015).

4.4 Confeção de lâminas histológicas e estudo histomorfométrico

Após realização de radiografia digital as hemimandíbulas direita e esquerda foram descalcificadas (suspensão) em solução 10% EDTA (pH 7.3; NaOH, PA) durante 30 dias para confecção de lâminas histológicas (Hematoxilina-eosina, 3 μ m) e análise qualitativa por microscopia de luz. Após análise descritiva das lâminas histológicas, as mesmas foram fotografadas em um aumento de 400x no sítio referente ao primeiro molar inferior esquerdo com um total de 10 imagens por amostra. Foram contados osteoclastos e células inflamatórias polimorfonucleares e mononucleares. O somatório dos campos de cada lâmina foi considerado como unidade amostral, (Silva et al., 2015).

4.8 Análise estatística

Os dados foram expressos em média e erro padrão da média, as variáveis quantitativas (dados paramétricos) foram comparadas por meio do teste ANOVA-3-way/Bonferroni (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis/Dunn (dados não-paramétricos). Todas as análises foram realizadas utilizando o software estatístico SPSS 20.0®, considerando uma confiança de 95% ($p < 0.05$).

5 RESULTADOS

De acordo com os resultados foram observados maior predominância de células inflamatórias no grupo Anastrozol comparado ao grupo Salina ou controle (figura 1) durante os períodos de 7 e 14 dias, o grupo Anastrozol no sétimo dia (D7) apresentou a média de 25 células ($p>0,05$) em comparação ao grupo Salina que apresentou a média 10 células inflamatórias ($p=0,05$). No entanto, no dia 14 (D14) houve uma redução de células inflamatórias nos dois grupos, porém a predominância destas células persistiu no grupo Anastrozol comparado ao grupo Salina ou controle (figura 1) com $p>0,05$.

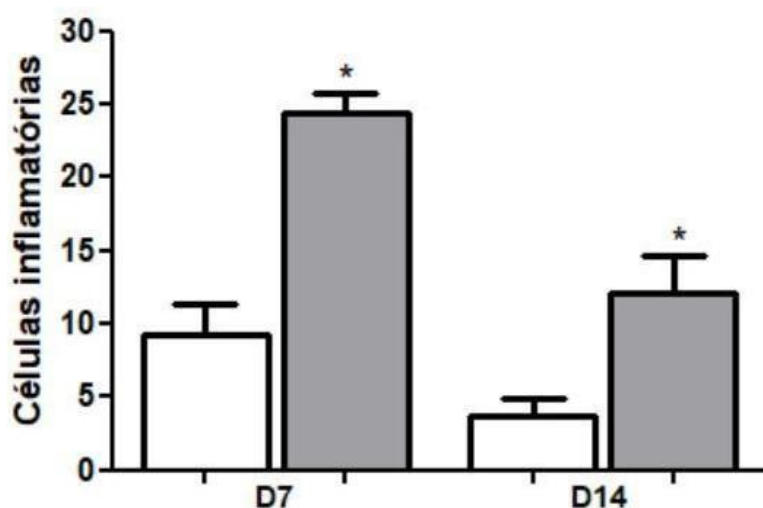


Figura 1: Contagem de células inflamatórias nos períodos de 7 e 14 dias entre os grupos controle (branco) e grupo Anastrozol (cinza).

Dentre os resultados também foram observados maior predominância de osteoclastos no grupo Anastrozol comparado ao grupo Salina ou controle (figura 2) durante os períodos de 7, o grupo Anastrozol no sétimo dia (D7) apresentou a média de 6 a 8 de osteoclastos ($p>0,05$) em comparação ao grupo Salina (controle) que apresentou a média 1 à 1,5 de osteoclastos. No entanto, ao observar o dia 14 não houve diferença estatística entre os grupos com médias de 3,5 a 4,5 osteoclastos em ambos os grupos (figura 2).

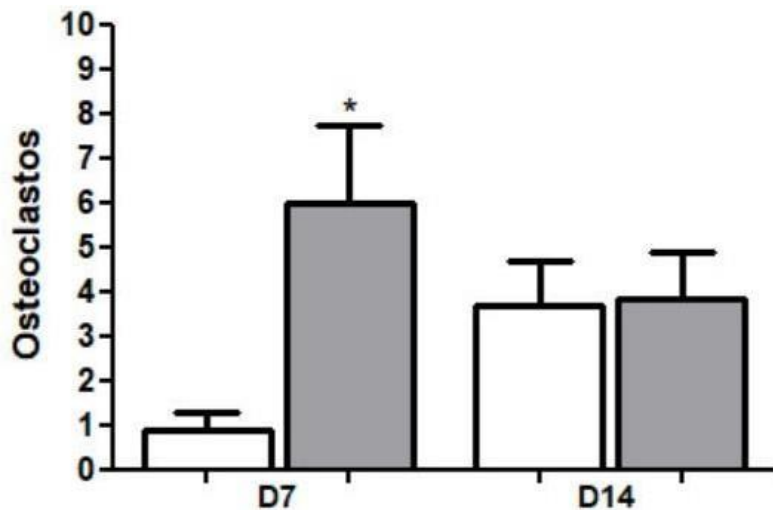


Figura 2: Contagem de Osteoclastos presentes nos períodos de 7 e 14 dias entre os grupos controle (branco) e grupo Anastrozol (cinza).

Os resultados foram expressos em porcentagem do peso da rata dividido em números de semanas, foi observado uma curva crescente entre ambos os grupos até a 16 semana, o grupo Anastrozol demonstrou uma leve curva superior comparado ao grupo Salina (figura 3) com médias de 120 gramas e 110 gramas, respectivamente entre os grupos. Após 16 semana em diante houve regressão em ambos os grupos com grupo Anastrozol 100 gramas à 90 gramas e Salina com média de 110 gramas.

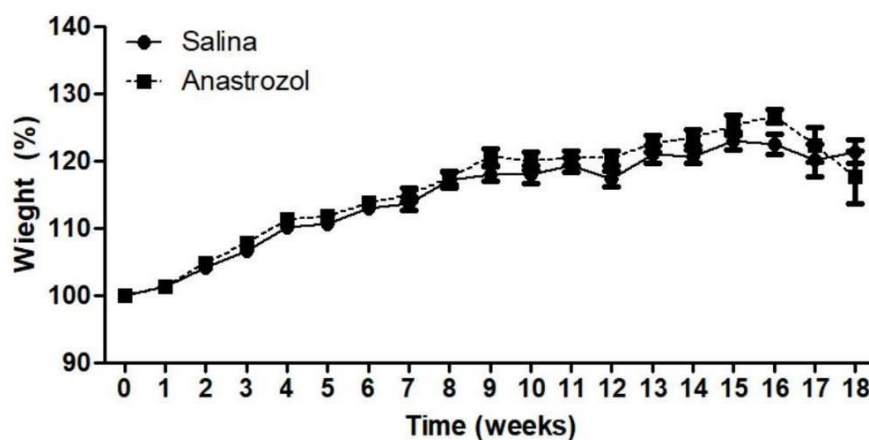


Figura 3: Gráfico com média entre o peso das ratas em gramas no período de 0 a 18 semanas entre os grupos Salina (controle) e o grupo Anastrozol (caso).

6 DISCUSSÃO

O estudo de Ligeiro de Oliveira et al. (2004), utilizando um modelo de inflamação pulmonar alérgica em animais, relataram que a ovariectomia aumenta o número de células mononucleadas não somente na medula óssea, mas também no sangue periférico. Por outro lado, o tratamento com TMX, considerando seu efeito modulador de receptores de estrógenos, preveniu o aumento de leucocitose promovido pela ovariectomia, enquanto o ANA, inibindo a aromatase, e, por conseguinte, reduzindo a produção de estradiol, não promoveu aumento adicional no número de leucócitos circulantes. Por fim, os procedimentos cirúrgicos para remoção ou exposição dos ovários causaram uma perda inicial significativa de massa corpórea, retomando os níveis basais com o passar dos dias, tal como já constatado em estudos prévios do nosso grupo de pesquisa (Melo, 2012), possivelmente relacionado com o trauma cirúrgico sob anestesia geral. Seguido esse momento, outra leve redução de massa corpórea ocorreu após o procedimento de colocação da ligadura no 2º molar, como também já descrito (Lima, et al., 2000 e 2004), novamente, sob anestesia geral. Além disso, a hipoestrogenia, promovida pela ovariectomia associada ou não ao ANA, esteve associada ao maior ganho de massa corpórea, o que está de acordo com os de Anbinder et al. (2007) e Amadei et al. (2011). Paradoxalmente, esse aumento não foi observado no grupo F-OVX/ANA, embora a literatura também relate que a redução de estrógeno promovida somente pelo ANA possa aumentar a massa corpórea de animais (Vekarya; Kaur; Tikoo, 2013), o que não possui confirmação na clínica, visto que o ANA não é indicado para o tratamento de câncer de mama em mulheres com função ovariana normal (Smith; Dowsett 2003). Em contrapartida, o TMX reduziu essa variação de massa corpórea. De fato, Lampert et al. (2013) demonstraram que o TMX reduziu o ganho de massa corpórea e o acúmulo retroperitoneal de tecido adiposo em ratas OVX, devido à menor ingestão de ração padronizada e a menor eficiência calórica. Ainda, Liu et al. (2015) justificam a redução de massa gorda em camundongos tratados com TMX pela produção de espécies reativas de oxigênio que promovem o aumento de apoptose, autofagia e desdiferenciação de adipócitos.

Os mecanismos de ação propostos para os efeitos com uso dos inibidores hormonais tamoxifeno (TMX) e o anastrozol (ANA) no tecido ósseo, podemos observar que a reabsorção óssea que ocorre caracteriza-se por ser uma reabsorção óssea induzida pelo processo inflamatório, em que mediadores inflamatórios, como $TNF\alpha$, induzem a ativação osteoclástica via RANKL. O TMX promoveu proteção óssea por reduzir a atividade de mieloperoxidase (MPO), o que indica redução do número de neutrófilos teciduais, e a liberação de $TNF-\alpha$, resultando em menor ativação

osteoclástica e favorecimento do processo formativo ósseo, visto pelo aumento de fosfatase alcalina óssea (FAO). Por não reduzir citocinas osteoclastogênicas, como TNF- α e RANKL, ao contrário, por aumentar RANKL e diminuir OPG, promoveu maior destruição óssea e reduziu os mecanismos formadores ósseos, observado pela redução de FAO (Melo, 2017).

No estudo de Pitombo (2016), a ovariectomia, embora tenha induzido o estado de hipoestrogenia, não aumentou a reabsorção óssea alveolar na periodontite induzida por ligadura em animais em até 4 semanas. O tamoxifeno apresentou um perfil protetor no osso maxilar, reduzindo a reabsorção e favorecendo a formação ósseas, provavelmente, dependente do processo inflamatório via modulação de citocinas osteoclastogênicas. Por outro lado, o anastrozol apresentou um perfil deletério no osso maxilar, aumentando a reabsorção e reduzindo a formação ósseas, por inibir a síntese de estrógeno, não prevenindo, assim, o processo inflamatório atuando de forma pró-inflamatória, corroborando com os resultados do nosso estudo.

7 CONCLUSÃO

O Anastrozol demonstrou maior produção de infiltrado inflamatório e células osteoclásticas comparado ao grupo Salina, conseqüentemente havendo um processo inflamatório maior nos primeiros dias e maior suscetibilidade a perda de massa corporal.

REFERÊNCIAS

- ADAMOPOULOS, I. E. et al. Interleukin-17A upregulates receptor activator of NF- kappaB on osteoclast precursors. *Arthritis Res. Ther.*, v. 12, n. 1, Feb. 2010.
- ADAMOPOULOS, I. E.; BOWMAN, E. P. Immune regulation of bone loss by Th17 cells. *Arthritis Res. Ther.*, v. 10, n. 5, Oct. 2008.
- AGUIRRE, J. I. et al. A novel ligand-independent function of the estrogen receptor is essential for osteocyte and osteoblast mechanotransduction. *J. Biol. Chem.*, v. 282, n.35, p. 25502-25508, Aug. 2007.
- ALBAYRAK, A. et al. The effects of diabetes and/or polymicrobial sepsis on the status of antioxidant enzymes and proinflammatory cytokines on heart, liver, and lung of ovariectomized rats. *J. Surg. Res.*, v. 169, n. 1, p. 67-75, Jul. 2011.
- ALBRIGHT, F.; BLOOBERG, E.; SMITH, P. H. Postmenopausal osteoporosis. *Trans. Assoc. Am. Physicins*, 1940.
- ALMEIDA, M. et al. Estrogens and androgens in skeletal physiology and pathophysiology. *Physiol. Rev.*, v. 97, n. 1, p. 135-187, Jan. 2017.
- AMADEI, S. U. et al. A influência da deficiência estrogênica no processo de remodelação e reparação óssea. **Jornal Brasileiro de patologia e medicina laboratorial**, v. 42, n. 1, p. 5-12, 2006.
- AMADEI, S. U. et al. Influence of diferente durations of estrogen deficiency on alveolarbone loss in rats. *Braz. Oral Res.*, v. 25, n. 6, p. 538-543, Nov-Dec. 2011. AN, K. C. Selective estrogen receptor modulators. *Asian Spine J.*, v. 10, n. 4, p. 787-791, Aug. 2016.
- AMIR, E. et al. Toxicity of adjuvant endocrine therapy in postmenopausal breast cancerpatients: a systematic review and meta-analysis. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 103, n. 17, p. 1299-1309, Sep. 2011.
- ANBINDER, A. L. et al. The influence of ovariectomy, simvastatin and sodium alendronate on alveolar bone in rats. *Braz. Oral Res.*, v. 21, n. 3, p. 247-252, Jul./Sep.2007.
- ANDRADE, T. A. M. et al. The inflammatory stimulus of a natural latex biomembrane improves healing in mice. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 44, n. 10, p. 1036-1047, 2011.
- ANTONIO-RUBIO, N. R. et al. Expression of 3β-HSD1 and P450 Aromatase enzymesduring mouse gonad differentiation. *J. Mol. Histol.*, v. 42, n. 6, p. 535-543, Dec. 2011.
- EASTELL, R. et al. Effect of anastrozole on bone mineral density: 5-year results from the anastrozole, tamoxifen, alone or in combination trial 18233230. **Journal of ClinicalOncology**, v. 26, n. 7, p. 1051-1057, 2008.

FITAS, A. L.; AMARAL, D.; LOPES, L. Inibidores da aromatase em adolescentes do sexo masculino com baixa estatura idiopática. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, v. 9, n. 1, p. 53-58, 2014.

FORBES, J. F. et al. Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 100-month analysis of the ATAC trial. *Lancet Oncol.*, v. 9, n. 1, p.45- 53, Jan. 2008.

FREITAS, L. A. M. Avaliação dos efeitos do anticorpo monoclonal, infliximabe, na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. 2007.

GONÇALVES, D. C. Efeito antiinflamatório e antirreabsortivo ósseo do infliximabe na periodontite induzida em ratos Wistar. 2012.

GONÇALVES, D. C. et al. Infliximab attenuates inflammatory osteolysis in a model of periodontitis in Wistar rats. **Experimental biology and medicine**, v. 239, n. 4, p. 442-453, 2014.

GREENLEE, R. T. et al. Cancer statistics, 2000. **CA: a cancer journal for clinicians**,v. 50, n. 1, p. 7-33, 2000.

HANLEY, D. A. Biochemical markers of bone turnover. In: Henderson JE, Goltzman D, editors. *The osteoporosis primer*. 1st ed. **Cambridge:University Press**, p.239-252, 2000.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER – INCA. Estimativa 2018. **Incidência do Câncer Brasil**. Rio de Janeiro: INCA,2017.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - INCA. **Estimativa 2008: incidência de câncero Brasil. 2008** [citado 01 set 2008]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa> 2006.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER- INCA. **Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil – 2003 – Brasil**. <http://www.inca.org.br/estimativas/2003/base.asp>.

LAMBE, M. et al. Parity, age at first and last birth, and risk of breast cancer: a population-based study in Sweden. **Breast cancer research and treatment**, v. 38, n. 3, p. 305-311, 1996.

LEBERT, J. M. et al. Advances in the systemic treatment of triple-negative breast cancer. **Current oncology**, v. 25, n. Suppl 1, p. S142, 2018.

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

MEHTA, R. S. et al. Overall survival with fulvestrant plus anastrozole in metastatic breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 380, n. 13, p. 1226-1234, 2019.

MELO, I. M. Efeitos do tamoxifeno e do anastrozol na periodontite induzida por ligadura

em ratas ovariectomizadas. 2017.

MESQUITA, K. C. et al. Influence of abatacept treatment on oral wound healing: Experimental model on rats. **Life Sciences**, p. 117243, 2020.

MOHAMED, A. A. R. et al. Bone health consequence of adjuvant anastrozole in monotherapy or associated with biochanin-A in ovariectomized rat model. **Life sciences**, v. 212, p. 159-167, 2018.

PITOMBO, J. C. P. Impacto de andrógenos na diferenciação e atividade de osteoclastos em cultura celular. 2016.

REINERT, T.; BARRIOS, C. H. Overall survival and progression-free survival with endocrine therapy for hormone receptor-positive, HER2-negative advanced breast cancer. **Therapeutic advances in medical oncology**, v. 9, n. 11, p. 693-709, 2017.

SASSE, .AD; SASSE, E.C. Estudo de custo-efetividade do anastrozol adjuvante no câncer de mama em mulheres pós-menopausa. **Rev Assoc Med Bras**, v. 55, n.5, p. 535-40, 2009.

SILVA, P.G. B. et al. Effect of different doses of zoledronic acid in establishing bisphosphonate-related osteonecrosis. **Archives of oral biology**, v. 60, n. 9, p. 1237-1245, 2015.

YANG, N. et al. Tumor necrosis factor α suppresses the mesenchymal stem cell osteogenesis promoter miR-21 in estrogen deficiency-induced osteoporosis. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 28, n. 3, p. 559-573, 2013.

ANEXOS



CEUA INSTITUTO PARA DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO LTDA IPADE
CENTRO UNIVERSITÁRIO CRISTUS

Of. No. 018/20

Protocolo da CEUA: 018/20

Pesquisador Responsável: Prof. RAFAEL LINARD AVELAR

Título do Projeto: INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO CRÔNICO COM ANASTROZOL NA REMODELAÇÃO ÓSSEA EM RATAS SUBMETIDAS A EXODONTIA.

Levamos ao conhecimento de V. Sa que a Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA – IPADE considerou **APROVADO** o projeto supracitado na reunião do dia 9 (nove) de dezembro de 2020.

Espécie:	<i>Wistar fêmeas</i>	Número Amostral:	128
----------	----------------------	------------------	-----

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE ao término do estudo, período máximo 09/12/2021.

Fortaleza, 09 de dezembro de 2020.

Olga Vale Oliveira Machado
Coordenadora

CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE