

DENSIDADE ÓSSEA DE TÍBIAS DE RATAS COM OSTEOPOROSE INDUZIDA POR GLICOCORTICÓIDE – AVALIAÇÃO EM RADIOGRAFIA DIGITAL

FELIPE MARTINS SILVEIRA¹; ELAINE DE FÁTIMA ZANCHIN BALDISSERA²;
ALEXANDRE EMÍDIO RIBEIRO SILVA³; CAROLINE DE OLIVEIRA LANGLOIS⁴

¹FACULDADE DE ODONTOLOGIA UFPel – fp.martinss@gmail.com

²FACULDADE DE ODONTOLOGIA UFPel – elainebaldissera@gmail.com

³FACULDADE DE ODONTOLOGIA UFPel – aemidiosilva@gmail.com

⁴FACULDADE DE ODONTOLOGIA UFPel- caroline.o.langlois@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os glicocorticóides (GCs) são uma classe de medicamentos com propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras que apresenta a osteopenia como principal efeito adverso do seu uso sistêmico e prolongado, acarretando alterações importantes na fisiologia normal da remodelação óssea (BOLING, 2004). Pacientes submetidos à terapia com GCs estão expostos ao risco de osteopenia induzida por glicocorticóides (OIGC) e uma proporção substancial desses pacientes não tem instituída uma profilaxia eficaz (LOZSADI et al., 2006). Exames complementares utilizados em Odontologia poderiam auxiliar na detecção destas modificações precoces de massa óssea e determinação da densidade. O objetivo do presente estudo foi detectar a alteração de densidade óssea em tíbias de ratas com OIGC por meio da análise de intensidade de *pixel* (IP) em radiografias digitais odontológicas (RD).

2. METODOLOGIA

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Luterana do Brasil – Canoas. Vinte e quatro fêmeas de *Rattus norvegicus albinus* da linhagem *Wistar*, de 17 semanas de idade, foram utilizadas como animais experimentais para este estudo controlado, randomizado e cego. Os animais foram divididos em dois grupos identificados por anéis de cores distintas na cauda. A metodologia utilizada foi baseada no estudo de Mahl e Fontanella (2008).

Depois de uma semana de aclimatização, os dois grupos de animais foram distribuídos, aleatoriamente, da seguinte forma: Grupo 1, controle (n=12) e Grupo 2, GC (n=12). O Grupo 1 recebeu água destilada (0,5 ml kg⁻¹), por via oral, três vezes por semana. O Grupo 2 recebeu acetato de metilprednisolona (100 mg kg⁻¹) diluído em solução fisiológica de NaCl 0,9%, por via oral, três vezes por semana. As doses e os esquemas de administração das drogas foram determinados de acordo com a literatura (HARA et al., 2002; OTOMO et al., 2004; IWAMOTO et al., 2006). O tratamento durou cinco semanas e, após, os animais foram submetidos ao procedimento de eutanásia e as tíbias direitas e esquerdas foram dissecadas.

Imagens digitais foram obtidas com equipamento DABI ATLANTE *Spectro II* (Ribeirão Preto, SP, Brasil). O feixe central do cilindro localizador do aparelho de raios X incidiu perpendicularmente ao sensor do sistema digital direto *CygnusRay MPS* (*Cygnus Technologies, Scottsdale, EUA*) a uma distância focal de 30cm. Sobre a porção superior do sensor foi adaptado um penetômetro de alumínio composto por oito degraus de 1,0mm de altura cada um. As tíbias foram radiografadas em incidência anteroposterior.

As imagens radiografadas foram importadas para o *software* de edição de imagens *Adobe Photoshop CS3 Extended* para análise da IP por meio da função histograma. A região escolhida para análise foi o centro da diáfise da tíbia e, com a ferramenta retângulo 30x30 pixels, o valor de IP foi obtido por um examinador e, após 3 dias, a medição foi realizada novamente para obter a concordância intraexaminador. Um segundo avaliador também realizou as mesmas medidas para obtenção da concordância interexaminador. Ambos eram calibrados e cegos para os grupos. O valor de IP foi convertido em milímetros de alumínio (mmAl) a partir de uma equação obtida no gráfico de dispersão relacionando o grau de radiopacidade de cada degrau de alumínio e sua espessura correspondente.

Foram realizadas análises descritivas, médias e desvio padrão das IP da região de análise nas imagens radiográficas, bem como foi calculada a correlação intraclasse para verificar a concordância intraexaminador e interexaminador para as medidas de IP. O teste t de Student, ao nível de significância de 5%, foi utilizado para obtenção da diferença das médias de IP para cada grupo pesquisado. As análises foram realizadas, utilizando o programa estatístico Stata 12.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concordância intraexaminador variou entre 0,80 a 0,99 e interexaminadores entre 0,87 a 0,95. Também foi comparado, por meio do teste t de Student, as médias de IP na imagem digital dos grupos controle e OIGC. Foi observada diferença estatística entre os grupos ($p < 0.01$), com médias de IP inferiores para o grupo com OIGC, demonstrando redução da massa óssea. As tendências das pesquisas que avaliam a perda óssea induzida por glicocorticoide têm sido de apresentar modalidades de imagem e métodos de análise capazes de avaliar a quantidade e qualidade do osso para o diagnóstico mais apurado, aumentando o cuidado com indivíduos portadores de osteoporose. Desta forma, buscou-se analisar exames radiográficos que possam prever a perda da massa óssea e talvez estimar o risco de fraturas osteoporóticas. Métodos que quantifiquem a perda e ganho ósseos, não só sistemicamente como também em nível mandibular, nas imagens radiográficas têm sido objetos de estudos em animais (MAHL E FONTANELLA, 2008; JIANG et al., 2003; KOZAI et al., 2009). Para TOSONI et al. (2007), a imagem digital mostrou-se muito útil para avaliar a ação de medicamentos em no remodelamento de mandíbulas de ratas ovariectomizadas. Constataram que mudanças minerais neste modelo animal poderiam ser detectadas por alteração da IP nestas imagens.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que é possível detectar a alteração de massa óssea em tíbias de ratas com OIGC utilizando-se a análise de IP em radiografias digitais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOLING, E.P. Secondary osteoporosis: underlying disease and the risk for glucocorticoid-induced osteoporosis. **Clinical therapeutics**, California, v.26, n.1, p.1-14, 2004.

LOZSADI, D.A.; PETERS, G.; SADIK, H.Y.; KELLETT, M.W.; FOX, S.H.; SMITH, D.F. Prevention of osteoporosis in glucocorticoid-treated neurology patients. **Clinical neurology and neurosurgery**, Belgium, v.108, n.2, p.157-162, 2006.

MAHL, C.R.; FONTANELLA, V. Evaluation by digital subtraction radiography of induced changes in the bone density of the female rat mandible. **Dentomaxillofacial radiology**, Brazil, v.37, n.8, p.438-444, 2008.

HARA, K.; KOBAYASHI, M.; AKIYAMA, Y. Vitamin K2 (menatetrenone) inhibits bone loss induced by prednisolone partly through enhancement of bone formation in rats. **Bone**, v.31, n.5, p.575-581, 2002.

OTOMO, H.; SAKAI, A.; IKEDA, S.; TANAKA, S.; ITO, M.; PHIPPS, R.J.; NAKAMURA, T. Regulation of mineral-to-matrix ratio of lumbar trabecular bone in ovariectomized rats treated with risedronate in combination with or without vitamin K2. **Journal of bone and mineral metabolism**, v.22, n.5, p.404-414, 2004.

IWAMOTO, J.; SEKI, A.; TAKEDA, T.; SATO, Y.; YAMADA, H.; YEH, J.K. Effect of risedronate on the cortical and cancellous bone mass and mechanical properties in ovariectomized rats: a comparison with the effects of alfacalcidol. **Journal of nutritional science and vitaminology**, Tokyo, v.52, n.6, p.393-401, 2006.

JIANG, G.; MATSUMOTO, H.; FUJII, A. Mandible bone loss in osteoporosis rats. **Journal of bone and mineral metabolism**, v.21, n.6, p.388-395, 2003.

KOZAI, Y.; KAWAMATA, R.; SAKURAI, T.; KANNO, M.; KASHIMA, I. Influence of prednisolone-induced osteoporosis on bone mass and bone quality of the mandible in rats. **Dentomaxillofacial radiology**, v.38, n.1, p.34-41, 2009.

TOSONI, G.; ORRICO, S.; GIRO, G.; GONÇALVES, D. Bone mineral changes in the mandible of ovariectomized rats using CMOS detector. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics**, v.103, n.2, p.e-54, 2007.