



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Silvio Sandro Cornélio

**Efeito da associação de dieta hiperlipídica e hipoestrogenismo sobre a
integridade óssea mandibular de ratas**

Rio de Janeiro

2010

Silvio Sandro Cornélio

**Efeito da associação de dieta hiperlipídica e hipoestrogenismo sobre a integridade óssea
mandibular de ratas**

Dissertação apresentada, como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre, ao Programa
de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e
Experimental, da Universidade do Estado do
Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Celly Cristina Alves do Nascimento Saba

Rio de Janeiro

2009

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / Rede Sirius / Biblioteca CB/A

C814 Cornélio, Silvio Sandro
 Efeito da associação de dieta hiperlipídica e hipoestrogenismo sobre a integridade
 óssea mandibular de ratas / Silvio Sandro Cornélio – 2010.
 92 f.: il.

 Orientador : Celly Cristina Alves do Nascimento Saba.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
 Faculdade de Ciências Médicas.
 Bibliografia: f. 62 – 67.

 1. Mandíbula – Teses 2. Ovariectomia – Teses. 3. Ratos – Teses. I. Saba,
 Celly Cristina Alves do Nascimento. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
 Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616.716.4

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta
dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Silvio Sandro Cornélio

**Efeito da associação de dieta hiperlipídica e hipoestrogenismo
sobre a integridade óssea mandibular de ratas**

Dissertação apresentada, como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre, ao Programa
de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e
Experimental da Universidade do Estado do de
Janeiro.

Aprovado em 05 de janeiro de 2010.

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Celly Cristina Alves do Nascimento Saba (Orientadora)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof. Dr. Fábio Ramoa Pires
Faculdade de Odontologia – UERJ

Prof.^a Dra. Rachel Moreira dos Santos
Instituto de Biologia – UFF

Prof.^a Dra. Marisa Maria Dreyer Breitenbach
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Rio de Janeiro

2010

DEDICATÓRIA

A DEUS: Dele, por ele e para ele.

Ser supremo e feitor de todas as coisas, pela constância em minha vida e em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A DEUS: Dele, por ele e para ele. Por sua incomensurável misericórdia e ajuda nos momentos difíceis durante o período do Mestrado.

À Profa. Dra. Celly, minha orientadora. Competente no que faz, objetiva e brilhante profissional. Sempre disponível concentrada e muito humana com os alunos.

Aos meus pais (*in memoriam*), irmãos tias e demais familiares, pelo apoio prestado durante toda minha vida.

À Profa. Dra. Rachel Moreira dos Santos, sempre presente nos experimentos e com muita boa vontade em todos os momentos em que foi solicitada sua ajuda.

À Profa. Dra. Marisa Maria Dreyer Breitenbach pela revisão desta dissertação.

À minha família, que me apoiou durante toda essa trajetória meus sinceros agradecimentos.

Ao Sr. Carlos Roberto, funcionário do Biotério, sempre solícito e hábil em suas atividades.

Às alunas de Iniciação Científica: Mariana, Aline, Yara e Viviane pelo apoio e convívio durante os experimentos.

A todos os amigos do mestrado e doutorado especialmente: Aluana Carlos, Gabrielle Gonzalez, Carlos Alberto, Larissa Paixão e Rejane Pontes, os quais compartilham o mesmo sonho de ser bons pesquisadores.

A todos os professores da Pós-graduação do CLINEX e do Instituto de Nutrição, principalmente as professoras Flavia e Josely que muito opinaram neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Victor Pitta do Instituto de Macromoléculas da UFRJ, pela grande ajuda e planejamento dos ensaios biomecânicos das mandíbulas.

Ao Prof. Ricardo Hudson da Silva do Laboratório de Ensaio Mecânicos do IPRJ–Nova Friburgo/RJ pela ajuda nos ensaios biomecânicos.

Ao técnico Jairo do Laboratório de Desenho Mecânico da COPPE-UFRJ, pelo desenho e confecção dos dispositivos usados no ensaio mecânico.

À Prof.^a e técnica de laboratório Nathália Borges – NUCAT/COPPE/UFRJ, pelas análises químicas.

Prof.^a Dra. Luciana Armada Dias, quem muito me incentivou no começo deste trabalho.

À Prof.^a Dra. Márcia Parente, pela ajuda e opinião no planejamento dos testes na UFRJ.

A secretária do Clinex Maria Amélia Gomes de Souza, pelo companheirismo e presteza ao longo do curso.

Ao meu amigo da UERJ Henrique (secretaria da Fisiologia), que direta e indiretamente ajuda a todos os alunos que dele depende.

Ao Laboratório de Química Orgânica – IQ/UERJ – Profa. Mônica Marques Palermo de Aguiar, Maria Helena e Simone Simplicio, pelas dicas de manuseio com os materiais de laboratório.

A Prof.^a Dra. Fernanda Margarida Coutinho – Laboratório de Polímeros-UERJ, pelo apoio e informações prestadas sobre os ensaios biomecânicos.

Ao Engenheiro Domingos Costinha pelas importantes opiniões ao longo do trabalho.

Ao Engenheiro Luigi Phillip Giglio de Lima, pelas incomensuráveis ajudas nos programas, gráficos e análises que envolveram conhecimentos da Engenharia.

A técnica do Laboratório de Fisiologia Andréa, pela presteza e ajuda durante o curso.

Aos meus fiéis amigos da Biblioteca de Química que muito me apoiaram nesse transcurso: Lucia, Francisca, Janine, Ângela Vilela, Thiago, Carlos Eduardo e Sandra Jaqueline e Cristina Ovalle (*in memorian*).

A Elisabeth Costinha, Bibliotecária, pela organização das referências.

Aos amigos da Faculdade de Odontologia que durante o curso muito me apoiaram nas discussões dos artigos.

Aos amigos João Paulo F. Grillo, Felipe Câmara, João Marcelo e Marília Vitória, pelo apoio ao longo do curso.

Deus na sua infinita bondade criou o homem à sua semelhança e o deu sabedoria para aplicar no bem.

Santo Agostinho

RESUMO

CORNÉLIO, Silvio Sandro. *Efeito da dieta hiperlipídica na integridade óssea mandibular de ratas ovariectomizadas*. 2010. 92 folhas. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

O aumento da expectativa de vida permite a mulher viver muitos anos após a menopausa. Além disso, a mudança nos hábitos alimentares da sociedade moderna tem determinado o aumento da incidência de obesidade e sobrepeso na população. Essas duas situações têm despertado o interesse da comunidade científica, visto as repercussões deletérias que podem ocorrer com o organismo. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da deficiência de estrogênio associado à dieta hiperlipídica sobre a integridade óssea da mandíbula de ratas. Para tal, ratas Wistar jovens foram avaliadas por citologia vaginal e aos 90 dias de idade, divididas em 4 grupos: Controle (C4%), Controle hiperlipídica 19% (C19%), Ovariectomizada 4% (OVX4%) e Ovariectomizada 19% (OVX19%). O período experimental começou com a castração (90 d de idade), seguido da alimentação com dieta hiperlipídica, por 30 dias. Ao final desse período, após anestesia, o sangue foi coletado para análise sérica de cálcio, fósforo, fosfatase alcalina e estradiol. Mandíbulas, vértebras L4 e fêmures foram removidos e preparados para análise das propriedades físicas e biomecânicas. Não foram observadas diferenças na ingestão alimentar, no comprimento corporal nem nas medidas ósseas dos grupos. O cálcio sérico diminuiu significativamente nos grupos castrados. O fósforo diminuiu enquanto, a fosfatase alcalina aumentou em todos os grupos, quando comparados ao C4%. Dentre os parâmetros físicos avaliados alguns apresentaram diferenças entre os grupos. Nas vértebras L4, os pesos imersos e úmidos aumentaram com a castração e com a dieta hiperlipídica, enquanto, os percentuais de material orgânico e mineral diminuíram. Nas mandíbulas, os pesos imersos e úmidos e a densidade óssea aumentaram com a castração, mas diminuem com a associação castração/dieta hiperlipídica. O volume ósseo e o percentual de água diminuíram com a ingestão de dieta hiperlipídica. Nenhuma alteração foi observada nos fêmures. Nas cinzas das mandíbulas os percentuais de magnésio apresentaram-se significativamente aumentados em todos os grupos. Mas, os de cálcio e fósforo não variaram. Nos testes biomecânicos de vértebra L4 e fêmur não foram encontradas diferenças entre os grupos. No entanto, na mandíbula os grupos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram menor resistência à tensão aplicada, em relação aos grupos de dieta normolipídica. Ficou evidenciado nessas ratas que a deficiência de esteróides sexuais associada à dieta hiperlipídica influencia de forma negativa a integridade óssea mandibular.

Palavras-chave: Mandíbula. Dieta hiperlipídica. Ovariectomia. Parâmetros físicos. Ensaio biomecânico. Ratas.

ABSTRACT

Increased life expectancy of women allows her to live many years after menopause. On the other hand, the western way of life has brought about an increased incidence of obesity and overweight to people. These two situations have attracted the interest of the scientific community, given the deleterious consequences that may occur with the body. The aim of this study was to evaluate the effect of estrogen deficiency associated with high-fat diet on the mandibular bone integrity of rats. Wistar young rats were previously evaluated by vaginal cytology and at 90 days old were divided into 4 groups: control (C4%), Control 19% fat diet (C19%), ovariectomized 4% (OVX4%), ovariectomized and 19% fat diet (OVX 19%). The experimental period started with castration (90 days old) followed by the implementation of high-fat diet for 30 days. At the end of this period, after anesthesia blood was collected for later analysis of serum concentrations of calcium, phosphorus, alkaline phosphatase and estradiol. Mandibular bone, lumbar column L4 and femurs were removed and prepared for physical and biomechanical analysis. There were no differences in food intake, body length or in bone measurements of all groups. Serum calcium decreased significantly in ovariectomized groups. Phosphorus concentrations decreased and alkaline phosphatase increased in all experimental groups, compared to C4%. Among the physical parameters evaluated some differences were showed between the groups. At L4 vertebrae, the immersed and wet weights increased with castration and the high-fat diet, while the percentage of organic material and mineral decreased. In mandibles, the immersed and wet weights and bone density increased with castration, but decrease with the combination of castration/fat diet. The bone volume and the percentage of water decreased with the intake of fat diet. No changes were observed in the femurs. In the ashes of mandibular bones the percentage of magnesium were significantly increased in all groups. But the calcium and phosphorus did not change. The biomechanical test of the L4 vertebra and femur were not significant differences between the groups. However, in mandibular bone, groups fed with high-fat diet had lower resistance to the applied voltage, compared to normal-fat diet groups. It was evident in these rats that the deficiency of sex steroids associated with high-fat diet negatively influences mandibular bone integrity.

Keywords: Mandible. Fat diet. Ovariectomy. Physic parameters. Biomechanical testing. Rats.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Regulação da remodelação óssea	19
Figura 2 - Estrutura química da molécula do estradiol	25
Gráfico 1 - Carga-deflexão	34
Gráfico 2 - Comprimento corporal	36
Gráfico 3 - Consumo alimentar	36
Gráfico 4 - Níveis séricos do Estradiol	37
Gráfico 5 - Níveis séricos do cálcio	38
Gráfico 6 - Níveis séricos do fósforo	39
Gráfico 7 - Níveis séricos da fosfatase alcalina	40
Gráfico 8 - Teste biomecânico da Vértebra L4 (L4)	45
Gráfico 9 - Teste biomecânico do Fêmur	45
Gráficos 10 - Teste biomecânico de tensão máxima da Mandíbula	46
Gráfico 11 - Teste biomecânico de carga máxima da Mandíbula	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Medidas da vértebra L4, fêmur e mandíbula	41
Tabela 2 - Pesos e volume ósseo da vértebra L4	42
Tabela 3 – Pesos e volume ósseo do fêmur	42
Tabela 4 – Pesos e volume ósseo da mandíbula	42
Tabela 5 – Densidade e percentuais de água, material orgânico e mineral da vértebra L4 ...	43
Tabela 6 - Densidade e percentuais de água, material orgânico e mineral do fêmur	43
Tabela 7 - Densidade e percentuais de água, material orgânico e mineral da mandíbula	43
Tabela 8 - Valores dos percentuais de Ca, P e Mg nas cinzas das mandíbulas	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGPI	Ácidos Graxos Poliinsaturados
ANOVA	Análise de variância
BMU	Unidade de remodelação óssea
C19%	Grupo controle - 19% de lipídios na ração
C4%	Grupo controle - 4% de lipídios na ração
Cbfa1	Osteoblastic-specific transcription factor
DMO	Densidade Mineral Óssea
DXA	Densitometria por absorção de raios-X de dupla energia
E1	Estrona
E2	Estradiol
E3	Estriol
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GH	Hormônio do Crescimento
GM-CSF	Granulocyte macrophage-colony stimulating factor
GR	Grupo
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Il6	Interleucina 6
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormônio Luteinizante
M	Molares
OPG	Osteoprotegerina
OVX 19%	Grupo ovariectomizados - 19% de lipídios na ração
OVX 4%	Grupo ovariectomizados - 4% de lipídios na ração
PGE2	Prostaglandina do tipo E2
RANK	Receptor ativador de fator nuclear
TNF α	Fator de necrose tumoral tipo alfa

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	16
1 TECIDO ÓSSEO	17
1.1 Remodelação Óssea	18
1.2 Tecido Ósseo e Piezoeletricidade	20
1.3 Propriedades biomecânicas do tecido ósseo	20
2 ÁCIDOS GRAXOS	22
2.1 Ácidos graxos e o tecido ósseo	23
3 ESTROGÊNIOS: SÍNTESE, REGULAÇÃO E EFEITOS	24
3.1 Estrogênio E Estrutura Óssea	26
4 ODONTOLOGIA, NUTRIÇÃO E ENVELHECIMENTO	27
5 MODELOS DE ESTUDO DE NUTRIÇÃO E MENOPAUSA EM ANIMAIS	28
6 OBJETIVO	29
7 MATERIAL E MÉTODOS	30
7.1 Ovariectomia	31
7.2 Medidas Ósseas	32
7.3 Ensaio Físico	32
7.4 Ensaio Biomecânico	33
8 RESULTADOS	36
9 DISCUSSÃO	47
10 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54
BIBLIOGRAFIA	62
ANEXO A – Dieta AIN	68
ANEXO B – Carta do Comitê de ética	69
ANEXO C – Ensaio mecânico vértebra L4	70
ANEXO D – Ensaio mecânico fêmur	71
ANEXO E – Ensaio mecânico mandíbula	72

INTRODUÇÃO

Um dos grandes desafios para o homem nesse início de século é conviver com as grandes mudanças da sociedade, dentre elas o hábito alimentar. Essas mudanças têm se destacado, chamando a atenção dos profissionais da área biomédica. A ingestão de dietas ricas em carboidratos e lipídios representa uma mudança no estilo de vida que pode resultar no aumento de massa corpórea e o surgimento de comorbidades que afetam os demais órgãos e sistemas do corpo, levando a efeitos deletérios como doenças neurodegenerativas, complicações cardiovasculares, síndrome metabólica e doenças ósseas (TAKEDA, 2009; MAURY e cols, 2010).

Dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) “Síntese de indicadores sociais: uma análise das condições de vida da população brasileira - 2009” demonstram, claramente, que o envelhecimento da população brasileira se constitui numa evidência demográfica, e que este novo paradigma está em curso merecendo estudos e políticas públicas específicas adequadas ao novo perfil etário.

Com o envelhecimento, a perda da função gonadal, bem caracterizada em mulheres após a menopausa, determina um menor gasto metabólico, diminuição da massa magra e um estímulo para acúmulo de gordura, o que aumenta o risco de obesidade e problemas cardiovasculares (OHTA, 2006). Esses acometimentos aliados as mudanças nos hábitos alimentares têm maior impacto sobre as condições de saúde das mulheres após a menopausa (FRANÇA, 2008; IZMOZHEROVA e cols, 2008; YAZAR e cols, 2009).

A deficiência nas concentrações de esteróides sexuais séricos, em especial de estradiol promove uma série de alterações metabólicas que, somadas à idade, hábitos alimentares e atividade física, levam a maior vulnerabilidade e perda da qualidade óssea (ZHANG e cols, 2010).

O tratamento odontológico após a menopausa, em mulheres que consomem de maneira excessiva dietas hiperlipídicas, merece especial atenção, principalmente, quando envolver procedimentos que se relacionem diretamente com a estrutura óssea devido às alterações que possam advir sobre esse tecido.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. TECIDO ÓSSEO

A massa óssea total tem seu pico alcançado, entre 20 e 30 anos de idade. Após esse período, ocorre um equilíbrio tanto na formação, quanto na reabsorção até mais ou menos 40 a 50 anos de idade, época em que a reabsorção supera a renovação óssea. O processo contínuo da renovação do tecido ósseo no adulto, conhecido como remodelagem, envolve cerca de 10% da massa óssea total por ano, sendo que o osso trabecular renova-se muito mais rápido que o osso cortical (BERNE & LEVY, 2006).

O osso cortical é compacto e mais denso, compondo cerca de 80% do esqueleto. Ele é encontrado na parte externa de toda estrutura esquelética, tendo como função principal fornecer força mecânica e proteção, sendo também participante de respostas metabólicas quando ocorre um déficit mineral severo ou prolongado. O osso trabecular é encontrado nos ossos longos (porção interna), corpos vertebrais e pelve. Por ser metabolicamente mais ativo, ele é perdido mais rapidamente que o osso cortical quando o processo de reabsorção é maior que o de formação, e em especial na osteoporose (BANDEIRA, 2000)

Nos ossos são identificados quatro tipos celulares importantes: osteoblastos, células de revestimento descendentes dos osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. Os osteócitos constituem 90% de todas as células ósseas. Os osteoblastos são originários de células mesenquimatosas dos quais algumas se diferenciam em células osteoprogenitoras, dentro do tecido conjuntivo de revestimento. Várias proteínas morfogenéticas ósseas promovem o desenvolvimento de células osteoprogenitoras, conduzem sua diferenciação em osteoblastos e estimulam seu futuro crescimento. Os osteoclastos se originam das mesmas células precursoras da medula óssea que os monócitos circulantes e os macrófagos teciduais. Este conjunto de células forma o ósteon e a unidade multicelular básica (BERNE & LEVI, 2006).

A matriz extracelular tem um papel importante na diferenciação, na atividade do tecido ósseo e no processo de mineralização (BARBOZA, 2003). As fibrilas de colágeno estão dispostas em arranjos regulares, criando uma matriz orgânica conhecida como osteóide, onde os íons de cálcio e fósforo ficam depositados em massas amorfas.

A osteocalcina e a osteonectina, também produzidas pelos osteoblastos, regulam a qualidade e quantidades finais de osso formado. A adição lenta de íons de hidroxila e carbonato à fase mineral produz cristais maduros de hidroxiapatita. A medida que esse osso mineralizado se acumula e envolve o osteoblasto, essa nova célula incrustada perde grande parte de sua atividade sintética e torna-se um osteócito interno. A atividade osteoblástica, portanto, ocorre apenas nas superfícies ósseas. Este processo exige concentrações plasmáticas normais de íons de cálcio e fósforo. A enzima fosfatase alcalina, proveniente dos osteoblastos também participa desse processo (BERNE & LEVY, 2006).

Na prática clínica são utilizados como marcadores da formação óssea, a fosfatase alcalina total, a fosfatase alcalina óssea, osteocalcina e o peptídeo terminal do colágeno tipo I. Para a reabsorção, os marcadores são cálcio urinário, hidroxiprolina urinária, fosfatase ácida e moléculas interligadoras do colágeno tipo I (SARAIVA & CASTRO, 2002).

1.1 Remodelação óssea

O tecido ósseo se encontra sob constante remodelação, substituindo osso velho por novo. As células encarregadas da reabsorção são os osteoclastos, que destroem os tecidos velhos e os osteoblastos que por sua vez, sintetizam tecido novo (MANDALUNIS, 2006).

Uma sequência de eventos está associada à remodelação óssea. O início é determinado por microfraturas orquestradas pelos osteócitos, por estímulo hormonal ou por outros fatores que recobrem as células da superfície óssea (FULLER, 1998). Para a reabsorção, os osteoclastos aderem à superfície óssea mediante moléculas de adesão e uma vez aderida à matriz, desenvolvem projeções da membrana plasmática. Em seguida, há solubilização da parte mineral, acidificando o micro ambiente criado em pH= 4, onde há bombeamento de íons H^+ na direção do osso. A etapa seguinte é a digestão da matriz orgânica, cujos componentes são degradados por metaloproteinasas e catepsinas secretadas pelo osteoclasto. Concomitante à reabsorção ocorre formação do osso, onde os osteoblastos são recrutados para o local

de remodelação através de diversos estímulos de fatores de crescimento que secretam nova matriz orgânica (MANOLAGAS, 2000; MANDALUNIS, 2006).

A regulação da remodelação óssea se dá por ação de hormônios sistêmicos e locais (Figura 1), fatores de crescimento, citocinas, efeitos da carga mecânica no esqueleto e efeito piezoeletrico. Esses fatores regulam a remodelação óssea através de vários membros da família dos TNF (fator de necrose tumoral) e estímulos dos osteoblastos. Fatores como OPG (osteoprotegerina), RANK (receptor ativador de fator nuclear) e RANK L (ligante) estão envolvidos no processo. O RANK se expressa em progenitores osteoclásticos hematopoiéticos, enquanto o RANK-ligante (receptor activator of NF-KB ligand) se expressa em células de revestimento, osteoblastos e linfócitos T (ANDERSON, 1997; YASUDA 1998, PIVONKA P e cols, 2010).

A osteoclastogênese é regulada por fatores locais produzidos por células estromais da medula óssea, osteoblastos e células T. Foram observados receptores para estógenos $ER\alpha$ e $ER\beta$ nessas células, e sua capacidade em inibir a produção de fatores estimuladores da formação de osteoclastos, como as interleucinas, RANK-ligante, prostaglandina (PGE_2), $TNF\ \alpha$ e β e o GM-CSF (granulocyte macrophage-colony stimulating factor) (RAMALHO e cols, 2000; HOFBAUER, 2002; BORD, 2003; KONDO e cols, 2009).

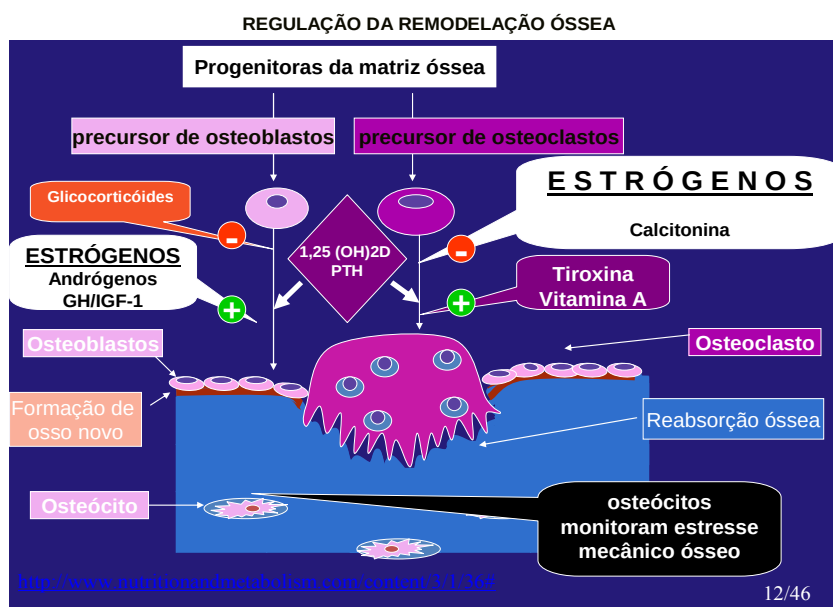


FIGURA 1 - Development of osteoblasts and osteoclasts from bone marrow progenitors. Factors affecting the development and function of these cells, bone resorption by osteoclast and new bone formation by osteoblasts. **Abbreviations:** GH: growth hormone, IGF: insulin like growth factors, PTH: parathyroid hormone. Adaptado de Valsamis e cols, 2006 (<http://www.nutritionandmetabolism.com/content/3/1/36#>, acesso em 14/11/2009)

1.2 Tecido ósseo e piezoeletricidade

A remodelação óssea também pode ser desencadeada em resposta a uma carga mecânica-efeito piezoeletrico. A palavra piezoeletricidade significa eletricidade de pressão, sendo uma polarização elétrica produzida por certos materiais, como algumas moléculas e cristais, quando submetidas a uma deformação mecânica (LIRANI, 2005).

A primeira descrição das propriedades piezoeletricas em humanos foi realizada em ossos, por FUKADA, 1957. A constatação da piezoeletricidade do osso foi determinada a partir da produção de uma polarização elétrica (efeito piezoeletrico direto) sob a ação de uma carga mecânica. A aplicação de forças mecânica sobre espécies biológicas, bioestimulação, tem um papel importante no reparo do tecido, porque afeta a atividade celular induzindo o crescimento ósseo e osteogênese (MENDONÇA, 2005; MINARY e cols, 2009)

O estresse mecânico também pode ser produzido por um campo elétrico. O efeito piezoeletrico inverso é obtido quando um campo elétrico é aplicado a um material piezoeletrico, como por exemplo, o osso, que se deforma mecanicamente. A produção dessa deformação atinge a atividade celular por estimular o movimento do fluido intersticial no osso, contribuindo para o aumento do transporte de nutrientes e metabólitos (RUBIN, 1996).

1.3 Propriedades biomecânicas do tecido ósseo

O reparo tecidual não é um processo isolado no qual, fatores de crescimento iniciam a proliferação celular, mas uma integração de acontecimentos dinâmicos interligados, que vão estar relacionados à regulação do reparo ósseo e mecanismos de integração (MENDONÇA, 2005).

A deformação mecânica na matriz óssea é transmitida para as células do tecido ósseo, possibilitando alterações na regulação, na proliferação, na diferenciação, na expressão gênica e na morfologia celular. Essa deformação diminui a reabsorção e aumenta a formação de osso na região que suporta a carga (DUNCAN, 1995;

GROSS, 1997; PIVONKA e cols, 2010). O estímulo mecânico é importante para desencadear a resposta óssea local, havendo uma interação entre a intensidade da deformação aplicada e a ativação dos osteoblastos. Quanto maior a carga, mais intensamente ocorrerá o crescimento e remodelamento ósseo (CARVALHO, 2002).

As propriedades mecânicas dos ossos variam com a intensidade da força aplicada, a direção e a velocidade. Os ossos possuem diferentes propriedades em diferentes direções, fenômeno conhecido como anisotropia, enquanto os isotrópicos tenderiam a homogeneidade, independente da força aplicada (HOLANDA e cols, 1999; SKEDROS J e cols, 2006).

A resistência e a rigidez do osso são maiores na direção onde às cargas são aplicadas. Isto se aplica principalmente ao osso cortical, no qual ósteons são orientados na direção longitudinal devido ao carregamento que é aplicado nesta região. (HOLANDA e cols, 1999)

As propriedades ósseas apresentam características que são determinadas pelas composições orgânicas e inorgânicas dos ossos. A parte mineral atribui a ele rigidez e dureza, enquanto a parte orgânica está relacionada a resiliência e elasticidade (STEVENSON LINDSA, 1998; CONTI e cols, 2009).

Conhecer as propriedades biomecânicas dos ossos em nível experimental ajuda a ciência a planejar novas estratégias de tratamento que possibilitem, mesmo em indivíduos com idade avançada, a manutenção da integridade óssea satisfatória. Para isso, as propriedades biomecânicas ósseas são estudadas através de testes específicos, sendo os mais utilizados, o teste de compressão para vértebra L4 e o de flexão em três pontos para fêmur e mandíbula (PENG e cols, 1994; KATSUMATA e cols, 1995; LEPOLA e cols, 1996; IKEDA e cols, 2001; CICEK e cols, 2009).

O teste de flexão em três pontos é realizado a partir da aplicação de uma força sobre o osso até provocar a fratura, obtendo-se assim a carga máxima suportada por ele. Sendo o corpo de prova o fêmur, a carga máxima é aplicada até sua deformação na região diafisária, seguida pelo momento da fratura (MOSEKILDE, 1999; SOGAARD, 1994; CICEK e cols, 2009). Estudos recentes (ALIPPI e cols, 2006; 2009) padronizaram o este teste para aplicação em mandíbulas, ratificando a metodologia usada e favorecendo estudos futuros.

2. ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos ocorrem na natureza como substâncias livres e esterificadas. A maior parte dos ácidos graxos naturais encontra-se esterificada com o glicerol, formando triglicerídeos ou triacilgliceróis, componentes dos óleos e gorduras comestíveis. Os óleos e as gorduras, misturas relativamente complexa de triacilgliceróis, são os lipídios mais amplamente distribuídos na natureza. (VIANNI e cols, 1996)

Estudos epidemiológicos mostram uma significativa correlação positiva entre a média de ingestão de gorduras e a incidência de obesidade, comorbidades e fatores de risco. Além disso, quando se aumenta o consumo de gordura na dieta, como ocorreu em muitos países durante os últimos 30 anos, a incidência do ganho de massa corporal também aumenta (WOODS e cols, 2009). Com as mudanças de hábitos alimentares e maior disponibilidade de alimentos em comparação aos primórdios da humanidade, a população mundial está sendo cada vez mais acometida pelo excesso de peso. A obesidade é um dos principais problemas de saúde pública da atualidade, apresentando etiologia multifatorial. Estudos transversais realizados nas décadas de 70, 80 e 90 retrataram a transição nutricional do Brasil, mostrando um declínio na prevalência da desnutrição e um aumento da prevalência de sobrepeso/obesidade em adultos (BATISTA FILHO e cols, 2003).

No Brasil, o sobrepeso e obesidade ultrapassaram o estado de desnutrição fazendo com que cada vez mais e precocemente, distúrbios que acometiam principalmente adultos, passassem a existir na infância e adolescência. As transições demográficas, epidemiológicas e nutricionais ocorridas nas últimas décadas são os principais fatores que influenciam para o excesso de peso de crianças e adolescentes. Estas transições levaram a grandes alterações no estilo de vida da sociedade. (RINALDI, 2008). Em seu artigo sobre desnutrição, MONTE (2000) relatou a preocupação dos estudos científicos para redução da desnutrição infantil. Um estudo realizado com adolescentes escolares no município de Fortaleza (CAMPOS e cols, 2006), mostrou que a prevalência de sobrepeso e obesidade ocorre nas classes de maior nível socioeconômico (24,8%) em relação as de menor nível (17,4%). Este fato deve ser relevante para os projetos e campanhas na área de Saúde Pública uma vez que demonstra ser o problema multifatorial e de grande heterogeneidade. A identificação dos grupos populacionais de risco e os fatores que influenciam a

presença dos hábitos maléficos à saúde na infância e na adolescência são medidas de alta relevância para o desenvolvimento de políticas, programas e intervenções que favoreçam o controle de doenças crônicas da vida adulta (NUNES e cols, 2007).

O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) recomenda por meio de pirâmide alimentar, que gordura e óleos sejam usados com moderação e que seu percentual na dieta não seja maior que 30% do valor energético total. O guia alimentar direcionado à população brasileira segue as recomendações da Organização Mundial de Saúde, preconizando que o consumo de lipídios esteja entre 15% e 30% do valor energético total, enfatizando ainda a diminuição da gordura saturada da dieta para um percentual menor que 10% (POLAKOW e cols, 2007).

O tipo de gordura ingerido na dieta influencia o metabolismo levando às alterações da composição corporal. No entanto, a literatura científica não tem um consenso sobre a relação entre o ganho massa corpórea a composição lipídica da dieta (FRANCO 2009). Dietas com grandes quantidades de AGS (ácidos graxos saturados) levam a um maior acúmulo de gordura, quando comparadas às ricas em AGPI (ácidos graxos poliinsaturados). Em animais (hamsters e ratos) estudos relacionam AGPI com um maior ganho de massa corporal e indução à obesidade quando comparados com consumo de ácidos graxos saturados (HILJO, 1992; LOMBARDO, 2006).

Alterações decorrentes da ingestão de dietas hiperlipídicas podem gerar hipertrigliceridemia, favorecendo a formação lipoproteínas de baixa densidade (LDL) pequenas e densas e reduzindo as concentrações séricas de lipoproteínas de alta densidade (HDL), baixando a sensibilidade à Insulina, à Leptina e a capacidade oxidativa mitocondrial (POLAKOW e cols, 2007; CORDERO, 2007).

2.1 Ácidos graxos e o tecido ósseo

A dieta rica em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (AGPI, n-6) aumenta a concentração de ácido araquidônico em mandíbula e maxila, enquanto as ricas em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (AGPI, n-3) protegem o esqueleto e melhoram as condições da osteoporose (ALLAM, 1993; SHEM, 2006). Os ácidos graxos n-3 contribuem para o controle da síntese do colesterol, em ação conjunta com outros ácidos graxos da família n-6 desempenhando atividades

benéficas que levam, por exemplo, à conversão do tromboxano e prostaciclina, que são potentes vasodilatadores e inibidores da agregação plaquetária (VIANNI e cols, 1996).

Em quantidades adequadas, ácidos graxos da série n-3 e n-6, apresentam um efeito benéfico. Dados epidemiológicos indicam que ácidos graxos saturados contribuem para a redução da densidade óssea em vértebra L4, radio e fêmur e para o aumento do risco de fraturas em jovens e idosos (CORWIN, 2003; CORNISH e cols, 2008).

O aumento da formação óssea via AGPI n-6, envolve a expressão de Cbfa1 (osteoblast-specific transcription factor), de colágeno I, de osteocalcina, de osteopontina, de sialoproteína óssea e, a diminuição de PGE2 (WATKINS e cols, 2001; WEILLER e cols, 2002; KELLY, 2003). Efeito semelhante é encontrado no crescimento das cartilagens e na atividade de condrócitos. Mas, a resposta depende da sensibilidade do sítio ósseo analisado em função do sexo. Em ratas castradas AGPI n-3 diminui a atividade osteoclástica, a reabsorção e a perda de massa óssea e o tratamento com estrógeno aumenta o cálcio no fêmur e reduz a excreção urinária de hidroxipiridinilona (WATKINS e cols, 2001). A absorção intestinal de cálcio é favorecida por dietas suplementadas com óleos ricos em ácidos graxos insaturados, mas, é desfavorecida por altas concentrações de lipídeos saturados que aumentam a excreção renal do cálcio, favorecendo a reabsorção óssea (CORWIN, 2003; GRAHAN e cols, 2009).

A reabsorção da maxila e da mandíbula implica na maior probabilidade de perda de dente, além de dificultar a implantação dentária. O edentulismo causa a ingestão alimentar inadequada, que torna outros aspectos fisiológicos do envelhecimento mais deletério às pessoas idosas.

3. ESTROGÊNIOS: SÍNTESE, REGULAÇÃO e EFEITOS.

Estrogênio é um termo usado para um grupo de hormônios esteróides com 18 carbonos, que são secretados principalmente pelo ovário, e um pouco menos pelas adrenais. O estrogênio engloba basicamente três esteróides com estrutura semelhante: 17 β -estradiol (E2) , estrona (E1) e o estriol (E3). Desse grupo, o E2 é o principal

esteróide em humanos que possui propriedades estrogênicas (IGNACIO, 2009, BERNE & LEVI, 2006).

O E2 (Figura 2) é secretado pelas células da granulosa dos folículos ovarianos, desde a menarca até a menopausa. Sua secreção é regulada pelo eixo hipotálamo-adenohipófise, no qual, em resposta ao hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), a hipófise anterior secreta os hormônios FSH (hormônio folículo estimulante) e LH (hormônio luteinizante). O FSH regula o crescimento folicular e a produção crescente do estradiol pelas células da granulosa enquanto o LH, aumenta a captação de colesterol pelas células intersticiais da teca folicular estimulando-as a secretar androgênios, precursores de E2. A etapa final da biossíntese de estrogênio é catalisada por uma enzima microssomal chamada citocromo aromatase P450 (P450arom). Após a ovulação, o FSH e principalmente o LH agem nas células da granulosa e da teca do folículo rompido, aumentando a síntese de estradiol e em maior quantidade, da progesterona, pelas células que foram luteinizadas, formando o corpo lúteo. Os hormônios gonadais, nesse período, regulam a secreção de GnRH, FSH e LH através de retroalimentação negativa. Outro peptídeo produzido no ovário, a inibina, também regula negativamente a secreção de FSH (LARREA e cols, 2005; BERNE & LEVI, 2006; BOBE e cols, 2009).

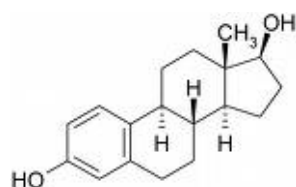


Fig.2 Estrutura química da molécula do Estradiol (E2)
(HARPER, 1998)

O estradiol dentre outros efeitos causa, praticamente, todas as alterações somáticas que resultam na aparência feminina adulta. É responsável pelo crescimento e amadurecimento dos órgãos reprodutivos internos, externos, mamas e aceleração do crescimento linear na puberdade afetando a distribuição do tecido adiposo estimulando a síntese e armazenamento de triglicerídeos. O esqueleto, os rins, o fígado e os vasos são também importantes tecidos alvos dos estrógenos (BERNE & LEVI, 2006).

3.1 Estrogênio e estrutura óssea

Os hormônios sexuais têm importante papel no crescimento ósseo e na manutenção do pico de massa óssea (COMPSTOM, 2001). Tanto na ooforectomia em jovens, ou na menopausa precoce, observa-se perda óssea acelerada com o acometimento mais rápido da osteoporose (BORELLI, 1994).

Os estrógenos regulam a expressão de fatores de crescimento e de citocinas sintetizadas e secretadas pelos osteoblastos ou pelos osteoclastos. Esses mediadores se relacionam com o equilíbrio fisiológico das células ósseas, determinando um controle autócrino e parácrino da remodelação do tecido ósseo (TURNER, 1994). O estradiol limita a taxa de renovação óssea em adultos, mantendo a formação óssea igual a reabsorção. Aumenta a formação e diferenciação dos osteoblastos, sendo esses efeitos atingidos através dos receptores de estrógeno no osso cortical diferentemente daqueles no osso trabecular.

A capacidade reprodutora das mulheres começa a diminuir na quinta década de vida, sendo que as menstruações terminam completamente em torno dos 50 anos. Por vários anos que precedem a menopausa, a frequência da ovulação diminui, ocorrendo em intervalos variados e com fluxo diminuído devido aos picos irregulares de secreção de estradiol e secreção inadequada de progesterona durante a fase lútea (BERNE E LEVI, 2006).

Os sintomas da menopausa ocorrem, em sua maior parte, pela deficiência do estrogênio que resulta em disfunções menstruais e urogenitais, problemas vasomotores, distúrbios neuropsíquicos, alterações da pele e mucosas, gengivites, comprometimento do sistema nervoso central e alterações do metabolismo ósseo e cardiovascular (HADJ, 2000).

A deficiência estrogênica após a menopausa leva à reabsorção óssea com mais intensidade. A atividade e formação dos osteoblastos são diminuídas, e a apoptose dos osteoblastos é aumentada. O recrutamento de osteoblastos fica reduzido pela inibição do estradiol sobre a produção de IL-1, TNF- α e do GM-CSF, todos os quais são linfocinas que estimulam a proliferação dos osteoclastos (BERNE & LEVI, 2006). Outro efeito da deficiência de esteróides gonadais femininos ocorre sobre a massa corporal, por aumentar a síntese e deposição de tecido adiposo, no entanto os possíveis mecanismos centrais e periféricos relacionados ao aumento da ingestão

alimentar e no ganho de tecido adiposo que ocorrem nessa condição são poucos esclarecidos (IGNÁCIO, 2009).

4. ODONTOLOGIA, NUTRIÇÃO E ENVELHECIMENTO.

O crescente número de idosos no Brasil está determinando também, maiores necessidades de assistência odontológica. O número de edêntulos e de necessitados de prótese é bastante alto. Quanto ao acesso aos serviços de saúde bucal pode-se conjecturar que as principais barreiras ao atendimento odontológico são a baixa escolaridade, a baixa renda e a escassa oferta de serviços públicos de atenção à saúde bucal voltados a população idosa brasileira (MOREIRA, 2005).

Um estudo realizado em Londrina, Paraná, avaliando as condições de saúde bucal da população, mostrou que o número de próteses orais é bem maior em mulheres idosas (MESAS, 2006). Por outro lado, é sabido que em algumas regiões do Brasil, o número de mulheres obesas é ainda maior se comparado aos homens. A prevalência de estado nutricional inadequado é bastante alto, apresentando inclusive, um grande número de idosos com baixo peso (RAUEN, 2008), o que caracteriza a existência de dois extremos: desnutrição e sobrepeso. Assim, as mulheres idosas, portanto deficientes da função gonadal, estão mais sujeitas ao edentulismo e aos distúrbios nutricionais os quais podem estar associados e provocar alterações bucais.

Reconhecidas pelo aspecto crônico, a osteoporose e a doença periodontal se destacam no âmbito da saúde pública pelos impactos sociais determinados pelas fraturas ósseas e perdas de dentes. A presença dessas alterações é preocupante diante da possibilidade de estarem relacionadas, visto que ambas podem compartilhar fatores comuns, modulando seu curso natural (GARCIA, HENSHAW & KRALL, 2001; YOSHIHARA, 2004; WEY, 2007).

Entender a relação entre dietas hiperlipídicas em todo seu contexto, diminuição fisiológica da função gonadal e o tecido ósseo mandibular promoverá um impacto preventivo em saúde pública, pelos possíveis benefícios que o tratamento pode levar a todos os segmentos da área de saúde. Portanto, manter e resguardar a função mastigatória, preservando a estrutura óssea para suporte dos dentes, oferecer

tratamento odontológico completo e promover a saúde bucal, deve ser meta de todos os profissionais de Odontologia.

5. MODELOS ANIMAIS DE ESTUDO DE NUTRIÇÃO E MENOPAUSA.

A remoção bilateral dos ovários de ratas (ovariectomia) é usada como modelo de estudo da deficiência de esteróides sexuais, simulando a menopausa, sendo esse estado comprovado pelas baixas concentrações séricas de estradiol (MOREIRA e cols, 1997; GOSS e cols, 2009). Sob essa condição de hipogonadismo, estudo realizado em nosso laboratório mostrou a relação com a progressiva redução de massa óssea (ARMADA e cols, 2006).

Ratos submetidos à dieta hiperlipídica, considerada altamente palatável, apresentam a partir da terceira semana de ingestão um aumento na quantidade de tecido adiposo com tendência a alterações no perfil lipídico (ESTADELLA, 2004). O sobrepeso ou a obesidade representados pelo ganho significativo de massa corporal e pela deposição abdominal de gordura, quando comparado à dieta padrão, comprova a eficiência do modelo de estudo. Apesar do ganho de massa corporal alguns estudos mostram que a ingestão diária da ração pode também permanecer inalterada (DUARTE, 2006, COSTA e cols 2008).

O conhecimento do papel do estrogênio na fisiologia óssea mandibular se justifica pelo longo período de tempo que a mulher vive após a menopausa, em função do aumento da expectativa de vida da população feminina, que na terceira idade convive com alterações crônico-degenerativas que comprometem a qualidade de vida, em especial por suas consequências sobre a integridade óssea.

6. OBJETIVOS

GERAL

Avaliar o efeito da dieta hiperlipídica associada ao hipoestrogenismo sobre a integridade óssea mandibular de ratas.

ESPECÍFICOS

- Analisar parâmetros biométricos: massas, comprimento corporais e dimensões ósseas.
- Analisar as concentrações séricas de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina por colorimetria.
- Avaliar as propriedades físicas ósseas de mandíbulas comparando-a a de fêmures e vértebras.
- Analisar o conteúdo ósseo de cálcio, fósforo e magnésio em mandíbulas por fluorescência de RX.
- Avaliar a integridade óssea de mandíbulas através de ensaios biomecânicos, comparando-a a de fêmures e vértebras.

7. MATERIAL E MÉTODOS

Ratas adultas, Wistar, reproduzidas e mantidas no Biotério do Laboratório de Fisiologia Endócrina, IBRAG/UERJ, tiveram livre acesso à água e a ração comercial (Agrocere[®]), até o início do experimento. Os animais foram reproduzidos e mantidos no Biotério do Laboratório de Fisiologia Endócrina, em gaiolas apropriadas de polipropileno, com temperatura controlada de 25 °C e ciclo claro/escuro de 12 horas. O período experimental começou com a castração aos 90 dias de idade, sendo as ratas previamente avaliadas por quinze dias consecutivos, através da citologia vaginal, que certifica o funcionamento ovariano.

O protocolo experimental avaliou o consumo de ração purificada (AIN 93M) contendo 19% de óleo de soja/100g de ração (ração hiperlipídica), por 30 dias, após a castração. A ração controle foi manufaturada com 4% de óleo de soja. Para esse desenho experimental foram formados quatro grupos:

- Controle (C4%, n=7): ratas alimentadas com ração normolipídica, contendo 4% de óleo de soja
- Controle 19% (C19%, n= 11): ratas alimentadas com ração hiperlipídica, contendo 19% de óleo de soja
- Ovariectomizada 4% (OVX4%, n= 11): ratas castradas alimentadas com ração normolipídica, contendo 4% de óleo de soja
- Ovariectomizada 19% (OVX19%, n=11): ratas castradas alimentadas com ração hiperlipídica, contendo 19% de óleo de soja

Durante todo o período experimental, a partir do desmame, foram verificados, semanalmente, o comprimento corporal e a ingestão alimentar.

Ao final dos 30 dias de ingestão de ração manufaturada, as ratas foram sacrificadas por exsanguinação, sob anestesia com tiopental (0,2ml/100gPC) e o sangue e os ossos foram coletados para análise.

7.1 Citologia Vaginal

A citologia vaginal é um método de avaliação indireta da função gonadal e avalia o ciclo estral através das células do epitélio vaginal. Foi realizada durante quinze dias, tendo início aos 75 dias de idade. A coleta diária do esfregaço vaginal utilizou soro fisiológico e pipetas Pasteur. O esfregaço era colocado em lâminas de vidro e observado a fresco em microscópio óptico. Somente foram consideradas ratas experimentais que apresentaram ciclo estral regular, que é caracterizado por apresentar as fases proestro, estro, diestroI e diestroII, as demais foram descartadas.

7.2 Ovariectomia

Remoção bilateral dos ovários, sob anestesia com Tiopental (0,2ml/100gPC). As ratas do grupo Controle sofreram apenas o estresse cirúrgico.

7.3 Produção da ração AIN93 M

A ração foi elaborada de acordo com a recomendação do American Institute of Nutrition (AIN), no Laboratório de Fisiologia Endócrina do Departamento de Ciências Biológicas/IBRAG (Anexo A).

7.4 Coleta de sangue e tecidos

O sangue foi coletado por punção cardíaca, centrifugado e o soro armazenado a -20° C. As mandíbulas, fêmures e a vértebra lombar L4 foram excisados, pesados e armazenados em soro fisiológico à -20° C, para posterior análise.

7.5 Avaliação sérica

O soro foi utilizado para a determinação das concentrações de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina por método colorimétrico, utilizando Kits comerciais (Bioclin). As concentrações séricas de estradiol foram determinadas por radioimunoensaio específico utilizando Kit comercial (MP BIOMEDICALS, CA, USA).

7.6 Medidas Ósseas

A altura do corpo vertebral (L4) no sentido oro-caldal, o comprimento e o diâmetro dos fêmures direitos e as distâncias méso-distal (MD) e vestibulo-lingual (VL) das hemi-mandíbulas direitas, foram aferidas com paquímetro.

7.7 Ensaio físico

Utilizado para determinar volume e densidade óssea, densidade mineral, percentual ósseo de água, percentual de material orgânico e percentual de material mineral. Após excisão, fêmures, hemi-mandíbula direita e coluna foram mantidas em salina a -10°C, para posterior análise. Doze horas antes do início do ensaio, os ossos foram descongelados e colocados em dessecador por 24 horas. Os ossos foram colocados em Becker contendo água destilada e o peso imerso foi determinado. Em seguida, os ossos foram enxugados e pesados, para se obter o peso úmido. Após a medida do peso úmido, os ossos foram colocados na estufa a 100 °C por um período de 24hs, obtendo o peso seco. Para obtenção das cinzas, os ossos foram colocados em Cadinhos de cerâmica e deixados na Mufla, por 24h a temperatura de 800 °C. A mufla foi desligada, sendo estabelecido um prazo de mais 24h para retirar os cadinhos e pesá-los, obtendo-se o peso das cinzas. Nestas, foram avaliadas o conteúdo de cálcio, fósforo e magnésio utilizando o método de fluorescência com Raios-X, o qual permitiu quantificar os elementos inorgânicos em percentual por massa. O volume ósseo foi calculado de acordo com o princípio dos sólidos de Arquimedes, possibilitando o cálculo da densidade óssea e mineral. Os percentuais de água, material mineral e orgânico foram determinados a partir das fórmulas de (MARTIN, 1993)

$$\text{Densidade mineral} = \frac{P_c}{VO} \text{ (g/cm}^3\text{)}$$

$$\text{Densidade óssea} = \frac{P_u}{VO} \text{ (g/cm}^3\text{)}$$

$$\text{Percentual ósseo de água} = 100 \times \frac{(P_u - P_s)}{P_u} \text{ (\%)}$$

$$\text{Percentual ósseo de material orgânico} = 100 \times \frac{(P_s - P_c)}{P_u} \text{ (\%)}$$

$$\text{Percentual ósseo de material mineral} = 100 \times \frac{(P_c)}{P_u} (\%)$$

$$\text{Volume ósseo (VO)} = \frac{P_u - P_i}{p} (cm^3)$$

Legenda:

p – Densidade da água (g/cm^3)

P_c – Peso das cinzas ósseas (g)

P_s – Peso do osso desidratado (g)

P_i – Peso do osso imerso (g)

P_u – Peso do osso úmido (g)

7.8 Ensaio Biomecânico

Doze horas antes dos testes, os ossos foram descongelados e conservados em solução salina até o momento do teste. Os ensaios mecânicos dos corpos de prova vértebra L4 e fêmur foram realizados no Laboratório de Ensaios Mecânicos do IPRJ (Instituto Politécnico do Rio de Janeiro/UERJ), Nova Friburgo, RJ, em uma máquina de ensaio universal SHIMADZU AG-I 100kn, a temperatura ambiente. As mandíbulas foram analisadas no Laboratório do IMA-UFRJ (Instituto de Macromoléculas da Universidade Federal do Rio de Janeiro) pela Máquina de Ensaio Universal INSTRON modelo 5569, de acordo com o descrito por ENGESAETER, EKELAND & LANGLAND, 1978 e PENG e cols., 1994. Para o ensaio biomecânico, os valores de carga aplicados descritos em função da deformação foram registrados em software próprio da máquina produzindo curvas carga-deflexão (vide Gráfico 1). As curvas apresentam regiões distintas, sendo uma de deformação elástica e outra de deformação plástica, que correspondem às fases linear e de comportamento variável, respectivamente, onde ocorrem deformações permanentes no tecido ósseo (TURNER & BURR, 2003). Os parâmetros abaixo podem ser avaliados a partir das curvas produzidas:

- Carga máxima: refere-se à maior carga aplicada ao corpo de prova durante o teste. É expressa em Newton (N).

- Resiliência: refere-se à área sob a curva carga-deflexão até o limite elástico (último ponto correspondente à fase elástica da curva), obtida através da energia absorvida na fase elástica. É expressa em Joule (J)
- Tenacidade: energia mecânica, ou seja, o impacto necessário para levar um material à ruptura. Tenacidade é uma medida de quantidade de energia que um material pode absorver antes de fraturar.

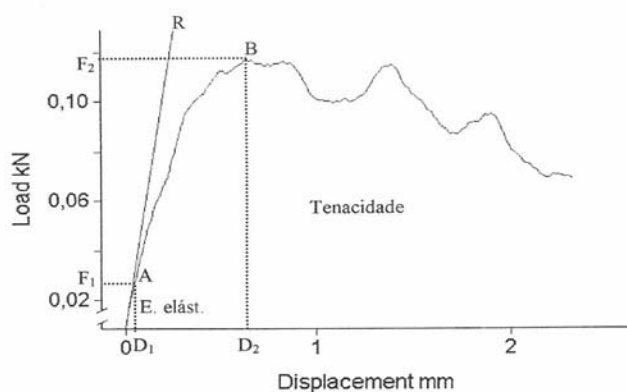


Gráfico 1 : Curva carga-deflexão. No eixo Y a Tensão é medida em Newton e no eixo X é determinado o deslocamento da força. A tenacidade é dada a partir do ponto máximo de tensão (F2) no eixo Y, que gerará um deslocamento (D2) no eixo X.

7.9 - Teste de Compressão das Vértabras

Para compressão das vértebras foram removidos os processos transversos, o processo espinhoso e os arcos vertebrais, obtendo-se assim o corpo vertebral. Para adequação ao teste, os corpos vertebrais foram aplanados com lixa d'água (norton 160) e a vértebra foram posicionadas sempre no seu sentido oro-caudal. Os testes foram realizados com uma pré-carga de 10N para estabilizar o corpo de prova (SAMNEGARD, AKHTER & RECKER, 2001). A velocidade de aplicação da carga foi constante, 2mm/min, no sentido oro-caudal (MOSEKILDE, DANIELSEN & KNUDSEN, 1993; KATSUMATA e cols.,1995; IKEDA e cols.,2001), até a deformação parcial da vértebra (2/3 da altura média do grupo).

7.10 - Teste de flexão de três pontos para fêmures

Os fêmures foram posicionados sobre dois roletes com diâmetro de 3.0mm, acoplados em apoios com intervalo de 21.7mm. Foram utilizadas uma pré-carga de 5N para estabilizar o fêmur (MOSEKILDE, 1999) e uma célula de carga de capacidade máxima 100kN, fundo de escala 1000N (1kn) com precisão de 1% do fundo utilizado.

A velocidade foi constante, de 1mm/min, até a fratura do osso (ENGESAETER e cols 1978; SOGAAED e cols. 1994).

7.11 - Teste de flexão em três pontos para mandíbulas

As mandíbulas foram posicionadas com os molares voltados para cima. As extremidades das hemimandíbulas foram apoiadas em roletes de 1mm de diâmetro, que distavam 6mm, formando dois pontos. O terceiro ponto foi o local da fratura, imediatamente, posterior a parte distal do terceiro molar.

Por avaliação e indicação técnica de (IMA/UFRJ), foi instituída uma medida além das preconizadas, anteriormente, por ALIPPI (2006). Tal procedimento consistiu em mensurar a espessura do ponto de fratura do corpo de prova. A padronização mais adequada foi o ponto imediatamente posterior ao terceiro molar até o corpo da mandíbula, seguindo o eixo de inclinação do elemento dentário. Esta nova etapa permitiu quantificar com mais exatidão, a relação tensão/espessura para aferir a flexibilidade da mandíbula. Foi aplicada uma pré-carga de 10N, para estabilizar o corpo de prova, e a célula utilizada possuía capacidade máxima de 100KGF. A velocidade foi constante, 2mm/min, até a fratura do osso (OLIVERA, 2003; ALLIPI, 2006).

7.12 Análise do conteúdo inorgânico das cinzas

Amostras das cinzas das mandíbulas foram analisadas no Laboratório de Caracterização – Núcleo de Catálise NUCAT/PEQ/COPPE/UFRJ. As cinzas foram prensadas em temperatura ambiente e colocadas em pastilhas de 10mm de diâmetro, em seguida analisadas pelo Espectrômetro de Fluorescência de Rx, Modelo RIGAKU RIX 3100 com tubo de radio 4KW. Os resultados foram obtidos através do próprio software do equipamento.

7.13 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância univariada (ANOVA), seguida de testes de comparação múltipla. Todos os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média, considerando o nível de significância de $p < 0,05$.

8. RESULTADOS

Desenvolvimento corporal e ingestão alimentar

A análise da evolução do comprimento corporal, desde o desmame até o final do período experimental, não mostrou alteração entre os grupos (Gráfico 2).

Quanto a avaliação do consumo alimentar também não houve diferença entre os grupos (Gráfico 3).

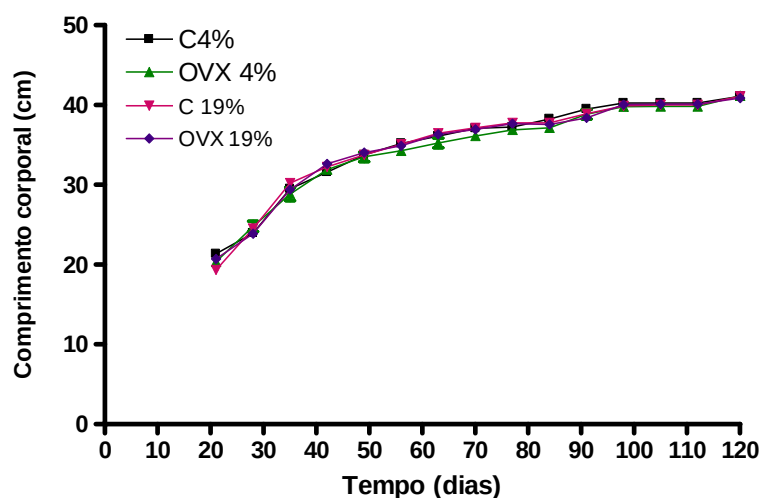


Gráfico 2: Evolução do comprimento corporal nos grupos experimentais e controles.

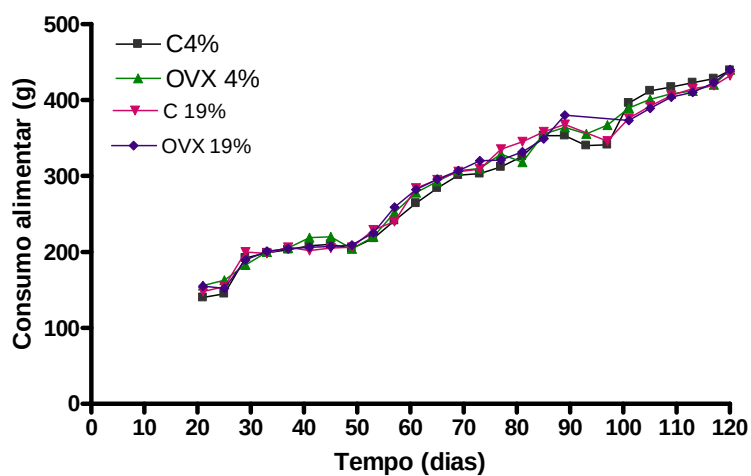


Gráfico 3: Evolução do consumo alimentar nos grupos experimentais e controles.

Avaliação sérica de Estradiol

A avaliação das concentrações séricas do Estradiol mostrou uma redução significativa ($p < 0,005$) nos grupos ovariectomizados (OVX4%=131,0±8,7; OVX19%= 55,6±6,5), quando comparados aos controles (C4%=131,5±9,15; C19%= 53,0 ±7,9), Gráfico 4.

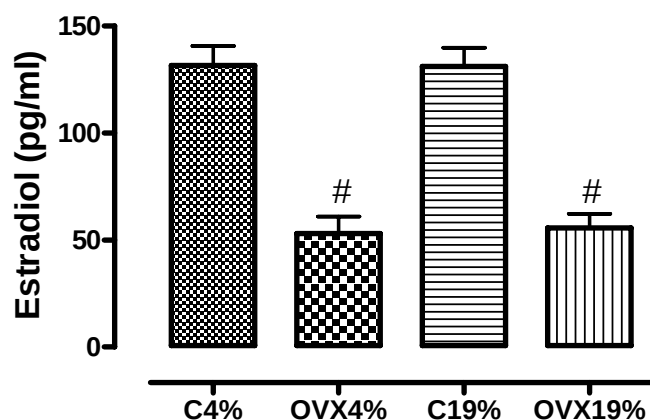


Gráfico 4. Avaliação das concentrações séricas de estradiol 30 dias após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (grupos OVX4% e OVX19%), e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média ± EPM. # $p < 0,05$ C4% vs OVX4%; C4% vs OVX19%; C19% vs OVX4%; C19% vs OVX19%

Avaliação sérica de Cálcio

As concentrações séricas de Cálcio diminuíram significativamente nos grupos OVX19% em relação aos grupos C4% e C19%, mas não diferiram do grupo OVX4% (C4% = $86,11 \pm 1,622$; C19% = $81,87 \pm 1,382$; OVX4% = $77,45 \pm 3,080$; OVX19% = $72,23 \pm 2,496$), Gráfico 5.

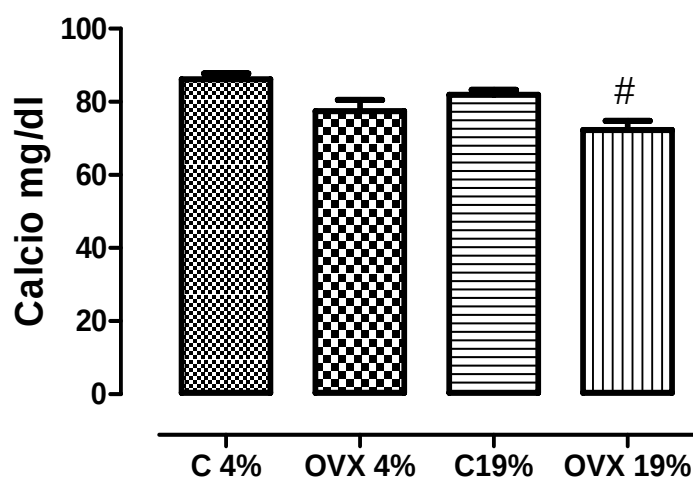


Gráfico 5: Avaliação das concentrações séricas de cálcio 30 dias após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (grupos OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média $\pm$ EPM.
$p < 0,05$ C4% vs OVX19%; C19% vs OVX19%.

Avaliação sérica do Fósforo

As concentrações séricas de Fósforo apresentaram diminuição significativa nos grupos OVX4%, C19% e OVX19%, como mostrado abaixo.

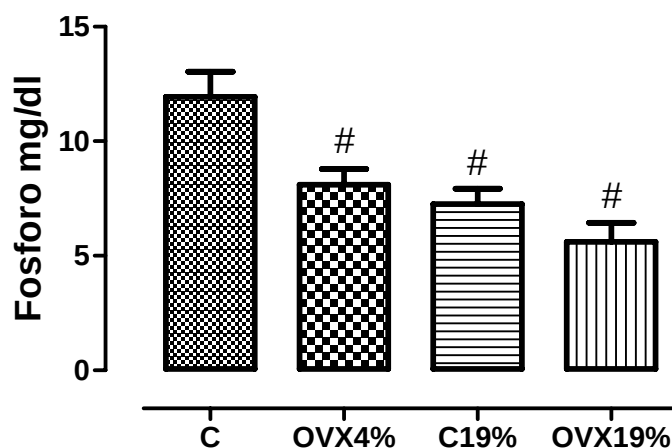


Gráfico 6: Avaliação das concentrações séricas de fósforo 30 dias após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (grupos OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média $\pm$ EPM.

$p < 0,05$ C4% vs OVX4%; C4% vs C19%; C4% vs OVX19.

Avaliação sérica da Fosfatase Alcalina

As concentrações séricas de fosfatase alcalina se mostraram significativamente aumentadas nos grupos OVX4%, C19% e OVX19% em relação ao grupo C4% (C4% = $14,81 \pm 1,577$; C19% = $26,22 \pm 3,287$; OVX4% = $28,70 \pm 3,465$; OVX19% = $27,29 \pm 3,17$), Gráfico 7.

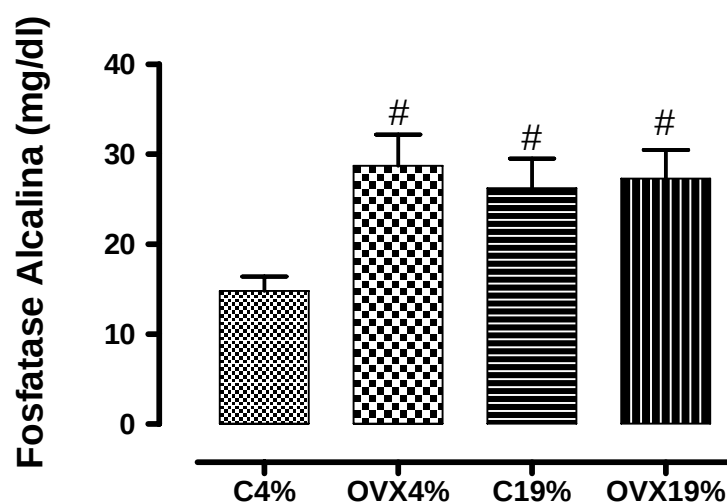


Gráfico 7: Avaliação das concentrações séricas de fosfatase alcalina 30 dias após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (grupos OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média $\pm$ EPM.

$p < 0,05$ C4% vs OVX4%; C4% vs OVX19%; C4% vs C19% .

AVALIAÇÕES ÓSSEAS

Medidas de coluna, fêmur e mandíbula.

Em relação as medidas efetuadas em fêmures, vértebras L4 e mandíbulas, não foram observadas diferenças significativas em quaisquer dos ossos e medidas efetuadas, Tabela 1.

Tabela 1: Medidas Ósseas

GRUPOS	COMPRIMENTO FEMUR	DIÂMETRO DO FEMUR	ALTURA DA VERTEBRA	LARGURA MD DO CONDILO	LARGURA VL DO CONDILO	ESPESSURA PONTO FRATURA MANDIBULA
C 4%	34,24±0,12	2,78±0,87	8,1±0,48	0,93±0,10	3,18±0,09	2,3±0,89
C 19%	34,04±0,18	2,77±0,57	8,98±0,31	0,89±0,09	3,26±0,05	2,5±0,92
OVX 4%	35,95±0,19	2,92±0,04	8,7±0,33	1,04±0,03	3,1±0,07	2,41±0,1
OVX19 %	33,95±0,17	2,86±0,05	8,85±0,28	0,98±0,04	3,12±0,12	2,47±0,13

Avaliação das medidas ósseas após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (grupos OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média ± EPM. C = Controle, C19% = Controle com ração 19%, OVX4%= ovariectomizada com ração 4% e OVX19% = Ovariectomizada com ração 19%.

Parâmetros físicos: peso e volume ósseo da vértebra L4, fêmur e mandíbula.

Em vértebras, os pesos imerso e úmido mostraram aumento em todos os grupos em relação ao grupo controle C4%. Para ambos os parâmetros, a dieta hiperlipídica associada à castração apresentou maiores valores, Tabela 2. Em fêmures, nenhuma alteração foi observada, Tabela 3. As mandíbulas apresentaram aumento do peso imerso nos grupos C19% e OVX4% em relação ao C4%, e o OVX19% mostrou valor menor em relação ao grupo C4%. Quanto ao peso úmido, ficou aumentado no OVX4%, enquanto os grupos C19% e OVX19% estavam diminuídos, em relação ao grupo C4%. O volume ósseo apresentou aumento no grupo OVX19% em relação ao C19, Tabela 4.

Tabela 2: Pesos e Volume Ósseo da vértebra L4

GRUPO	PESO IMERSO	PESO UMIDO	PESO SECO	PESO CINZAS	VOLUME OSSEO
C4%	0,21±0,02	0,27±0,03	0,18±0,01	0,10±0,0065	0,06±0,010
C 19%	0,27±0,02 *	0,36±0,03 *	0,23±0,01	0,11±0,0077	0,12±0,016
OVX 4%	0,30±0,01 *	0,39±0,02 *	0,20±0,01	0,09±0,0050	0,1±0,014
OVX19 %	0,31±0,02 *	0,39±0,02 *	0,19±0,01	0,10±0,0055	0,1±0,007

Avaliação dos pesos e volumes ósseos da vértebra L4 após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média ± EPM.* p<0,05, C4% vs OVX 4%, C4% vs OVX 19%.

Tabela 3: Pesos e Volume Ósseo do fêmur

GRUPO	PESO IMERSO	PESO UMIDO	PESO SECO	PESO CINZAS	VOLUME OSSEO
C4%	0,49±0,014	0,72 ±0,025	0,48±0,0056	0,22 ±0,0047	0,22 ±0,014
C 19%	0,42±0,020	0,71 ±0,025	0,47±0,012	0,23±0,005	0,28 ±0,032
OVX 4%	0,44±0,020	0,67±0,017	0,44 ±0,0083	0,22±0,0069	0,22±0,015
OVX19 %	0,46±0,0078	0,65±0,015	0,45±0,0055	0,21±0,0039	0,21±0,018

Avaliação dos pesos e volumes ósseos do fêmur após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (OVX4% e OVX19%), e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média ± EPM.

Tabela 4: Pesos e Volume Ósseo da mandíbula

GRUPO	PESO IMERSO	PESO UMIDO	PESO SECO	PESO CINZAS	VOLUME OSSEO
C4%	0,28 ±0,018	0,52±0,010	0,38 ±0,0076	0,24 ±0,0035	0,21±0,0080
C 19%	0,30±0,014 ◊	0,50±0,0077 ◊ ◊	0,37±0,0047	0,24±0,00396	0,18±0,012 ◊
OVX 4%	0,34±0,0041 * ◊ #	0,54±0,0038 * ◊	0,38±0,0062	0,25±0,0039	0,20±0,0025
OVX19 %	0,27±0,0043 #	0,51±0,0064 ◊	0,39±0,0068	0,25±0,0045	0,22±0,007◊

Avaliação dos pesos e volumes ósseos da mandíbula após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média ± EPM,* p<0,05, OVX4% vs OVX19% ; * p<0,05 C4% vs OVX4% ; ◊p<0,05 C19% vs OVX4% ; ◊ p<0,05 C19% vs OVX19%

Parâmetros físicos: densidade e percentuais de água, material orgânico e material mineral da vértebra L4, fêmur e mandíbula

Na vértebra L4 foi observada uma diminuição do percentual de material orgânico e mineral em todos os grupos experimentais, Tabela 5. Em fêmures nenhuma diferença foi observada, Tabela 6. Na mandíbula foi observado aumento da densidade óssea nos grupos C19% e OVX4% em relação ao C4%, e diminuição do percentual de água no C19% comparado ao C4%.

Tabela 5: Densidades e percentuais de água, material orgânico e mineral da vértebra L4

GRUPO	DENSIDADE OSSEA	DENSIDADE MINERAL	%ÁGUA	%MATERIAL ORGANICO	%MATERIAL MINERAL
C4%	4,32±0,39	1,56 ±0,21	41,14±4,12	31,47±1,54	37,35 ±2,26
C 19%	3,67±0,23	1,02±0,77	42,38±2,20	27,62±0,80 *	28,44±0,94 *
OVX 4%	5,44±1,43	1,36 ±0,37	48,16±1,68	25,87±0,53 *	24,71±0,73 *
OVX19 %	3,93±0,25	0,89 ±0,09	49,79±1,07	25,06±0,49 *	25,78±0,98 *

Avaliação das densidades e percentuais de água, material orgânico e mineral da vértebra L4 após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média ± EPM, * $p < 0,05$, C4% vs C19%; * $p < 0,05$ C4% vs OVX4% ; * $p < 0,05$ C4% vs OVX 19%.

Tabela 6: Densidades e percentuais de água, material orgânico e mineral do fêmur

GRUPO	DENSIDADE OSSEA	DENSIDADE MINERAL	%ÁGUA	%MATERIAL ORGANICO	%MATERIAL MINERAL
C4%	3,04 ±0,21	1,32±0,11	30,50±2,25	28,21±0,83	40,83 ±1,71
C 19%	3,10±0,30	1,11±0,10	32,21±1,92	30,25±0,98	38,32±1,49
OVX 4%	3,09±0,16	1,19±0,07	32,62±1,62	28,46±1,08	38,49±1,27
OVX19 %	3,33±0,15	1,33±0,09	30,68±1,58	28,75±0,73	39,73±1,09

Avaliação das densidades e percentuais de água, material orgânico e mineral do fêmur após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média ± EPM.

Tabela 7: Densidades e percentuais de água, material orgânico e mineral da mandíbula

GRUPO	DENSIDADE OSSEA	DENSIDADE MINERAL	%ÁGUA	%MATERIAL ORGANICO	%MATERIAL MINERAL
C4%	2,30±0,13	1,08±0	40,99±0,63	27,08±0,09	47,30±1,06
C 19%	2,85±0,13 * ◊ ◊	1,41±0,16	27,93±1,96 *	24,61±1,57	49,07±2,05
OVX 4%	2,70±0 *	1,26±0	33,71±1,37	25,28±0,59	46,42±0,61
OVX19 %	2,18±0 ◊	1,06±0	34,26±3,74	27,70±1,01	48,92±0,85

Avaliação das densidade e percentuais de água, material orgânico e mineral da mandíbula após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral, grupos OVX4% e OVX19% , e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4%) ou (C19%). Os valores são expressos por média ± EPM, * $p < 0,05$, C19% vs OVX 4%; ; ◊ $p < 0,05$ C4% vs C19% ; ◊ $p < 0,05$ C19% vs OVX19%

Percentuais de Ca, P e MG nas cinzas das mandíbulas.

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, quanto aos percentuais de cálcio e fósforo nas cinzas das mandíbulas. Entretanto, os percentuais de magnésio apresentaram aumento significativo no grupo OVX19%, em relação aos demais grupos.

Tabela 8: Percentuais de Ca, P e MG nas cinzas das mandíbulas.

GRUPO	% CALCIO	% FÓSFORO	% MAGNÉSIO
C4%	50,58 ± 0,29	46,00 ± 0,13	1,67 ± 0,40
C 19%	50,95 ± 0,20	45,93 ± 0,19	1,81 ± 0,01
OVX 4%	50,66 ± 0,17	46,15 ± 0,14	1,78 ± 0,08
OVX19 %	50,72 ± 0,67	46,05 ± 0,57	1,92± 0,04 *

Avaliação dos percentuais de Ca, P e Mg nas cinzas da mandíbula após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média ± EPM, * p<0,05, C4% vs OVX19%.

Avaliação biomecânica da vértebra L4, fêmur e mandíbula

Os resultados do teste biomecânico são apresentados em função da tensão máxima e da carga máxima. Não foram observadas diferenças na tensão máxima das vértebras L4 e dos fêmures, Gráficos 8 e 9, respectivamente. Em mandíbulas, os grupos ovariectomizados apresentaram menor resistência à tensão, sendo este resultado mostrado no gráfico de barras (Gráficos 10) e pelas curvas de deformação (Gráfico 11). A carga máxima aplicada as hemi-mandíbulas também foi menor no grupo OVX19%, Gráfico 12.

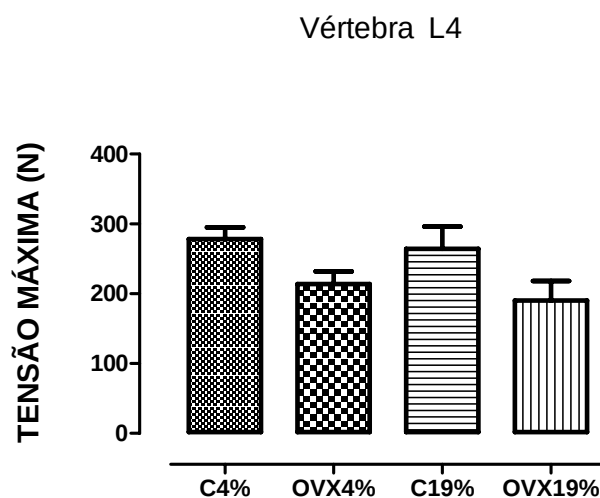


Gráfico 8: Avaliação do teste de tensão máxima na vértebra L4 após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média $\pm$ EPM.

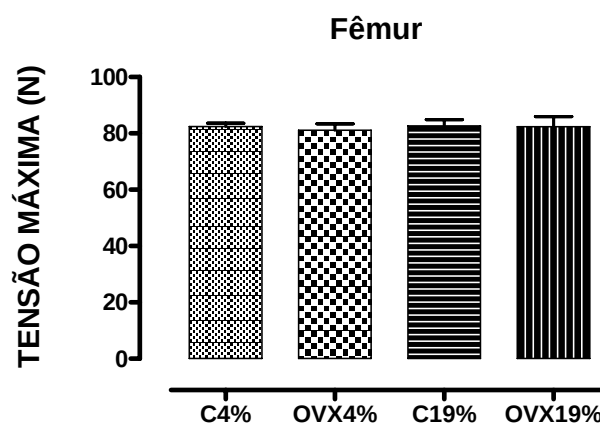
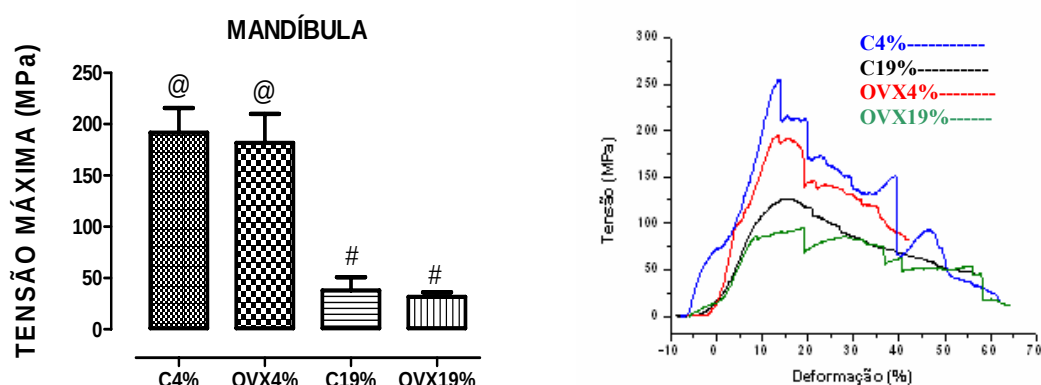


Gráfico 9 : Avaliação do teste de tensão máxima no fêmur após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média $\pm$ EPM.



Gráficos 10 e 11 : Avaliação do teste de tensão máxima na mandíbula após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média $\pm$ EPM. # $p < 0,05$. C4% vs C19%, C4% vs OVX19%, OVX4% vs OVX19%, OVX4% vs OVX19%.

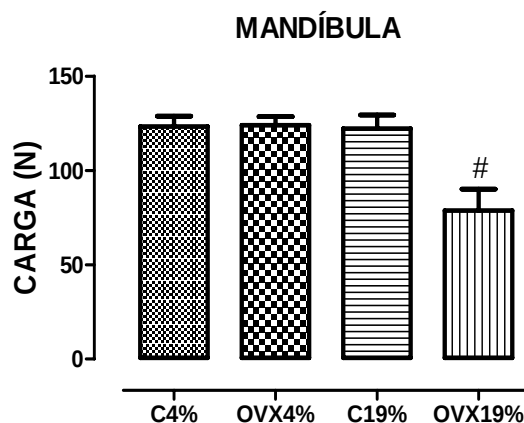


Gráfico 10 - Avaliação da carga máxima empregada para fratura da mandíbula após ingestão de ração manufaturada contendo 4% (ração normolipídica) ou 19% de óleo de soja (ração hiperlipídica), em ratas deficientes em esteróides sexuais, induzidas por ovariectomia bilateral (OVX4% e OVX19%) e nos grupos controle recebendo as mesmas rações (C4% e C19%). Os valores são expressos por média $\pm$ EPM. # $p < 0,05$. C4% vs OVX19%; OVX4% vs OVX19%; C19% vs OVX19%.

9. Discussão

As mudanças sócio-culturais determinaram também alterações no comportamento alimentar em muitos grupos populacionais. O estágio de escassez alimentar do passado foi substituído pela era da produção alimentar em grande escala. Ainda que esta produtividade não supra a necessidade alimentar das populações, as camadas sociais menos favorecidas se alimentam também de forma inadequada. Todos estão cercados de apelos visuais e bastante sugestivos de dietas, nem sempre saudáveis do ponto de vista nutricional e assim, a quantidade substitui a qualidade.

A grande quantidade de lipídios e carboidratos ingeridos durante as refeições deixa os indivíduos cada vez menos saudáveis sujeitos aos efeitos deletérios desse tipo de alimentação. O consumo freqüente destes nutrientes e o aumento de massas corporais, seguidas de uma série de alterações metabólicas, leva os indivíduos à obesidade e suas complicações (YAZAR e cols 2009; MORO e cols, 2009). As comorbidades mais associadas à obesidade são bem caracterizadas na definição da síndrome metabólica, que envolve os distúrbios cardio vasculares, o diabetes mellitus tipo II, além de doenças neurodegenerativas e as doenças ósseas (MATSUZAWA e cols, 2003; REISER e cols, 2009), como a osteoporose, que embora seja mais comum em mulheres magras, acometem também mulheres obesas (WEI e cols, 2007; TAKEDA, 2008).

Em conjunto com a ingestão excessiva de alimentos ricos em lipídios, a perda da função gonadal contribui ainda mais para os efeitos deletérios da perda da qualidade óssea, uma vez que o hipostrogenismo está associado à osteoporose (VANHAITEN e cols 2003; HIROAKI, 2006).

O aumento da expectativa de vida e a disponibilidade de recursos tecnológicos e terapêuticos têm permitido às mulheres viverem mais e, conseqüentemente, com os efeitos da perda da função gonadal. A associação dos dois componentes, hipostrogenismo e dieta hiperlipídica podem determinar alterações metabólicas mais sérias, uma vez que a obesidade isoladamente já induz a produção de uma série de substâncias pró-inflamatórias que estão associadas à perda da integridade óssea (ENWONWU e cols, 2007; BASTOS e cols, 2009; MAURY cols, 2010).

Tradicionalmente, os ossos avaliados na osteoporose são os fêmures e a quarta vértebra lombar (L4) (CURY e cols, 2007). Vértebras, por serem basicamente

constituídas por ossos trabecular e fêmures por terem uma constituição mista são os primeiros locais de expressão da fragilidade óssea. No entanto, essa doença envolve todos os ossos do corpo em proporções diferentes e em períodos de tempo diferentes, levando a perda da integridade óssea (ZANETE e cols, 2003). A mandíbula não é um osso muito estudado sob essas condições, visto ter uma constituição predominantemente cortical. Mas, a doença periodontal que acomete os elementos dentários, incluindo também a maxila, pode interagir com curso natural da osteoporose e vice-versa (INAGAKI KOJI e cols, 2007). Na doença periodontal não controlada, há uma série de citocinas e mediadores pró-inflamatórios (SUGIYAMA e cols, 2007) que agem não apenas sobre o elemento dentário acometido, mas também estão circulantes por todo organismo, podendo agravar a osteoporose, já que estão associados a reabsorção óssea (INAGAKI KOJI e cols, 2007). Por outro lado, o paciente com doença periodontal controlada, sendo portador da osteoporose não tratada, pode ter a perda de dentes acelerada em função da fragilidade óssea (GIOVANNI e cols, 2009). Assim, para o Cirurgião-Dentista conhecer não só o protocolo técnico, mas ter também o conhecimento teórico sobre o curso natural dessas duas doenças se torna fator determinante para o sucesso do tratamento.

Pacientes que fazem tratamento para osteoporose, utilizando bisfosfonatos, também devem ter seu tratamento acompanhado de forma mais interativa pelo Cirurgião-Dentista e o médico, uma vez que alguns procedimentos odontológicos como, por exemplo, o uso de implantes dentários, quando não realizados e acompanhados corretamente podem levar a osteonecrose de mandíbula (PONTE FERNANDEZ e cols, 2006, NAIDU e cols, 2008). Sabendo que o número de edêntulos é maior em mulheres, idosas e na maxila (MESAS, 2006) e que, geralmente, estão na faixa etária que já existe uma perda óssea com concomitante risco de fratura, a prevenção e tratamento são menos onerosos para os serviços de saúde. Estes, além de não suportarem a grande quantidade de pacientes, de maneira geral, não oferecem tratamento odontológico completo, incluindo reabilitação oral.

Em nosso modelo experimental, a associação da dieta hiperlipídica com a ovariectomia mostrou resultados que nos leva a conjecturar a hipótese de que os efeitos dessa associação têm ação mais nociva para o tecido ósseo.

Os efeitos deletérios da deficiência do estradiol foram determinados pela remoção cirúrgica bilateral dos ovários. As concentrações séricas baixas de estradiol observadas nos grupos ovariectomizados, confirmam o hipogonadismo instalado

nesses animais, mimetizando a menopausa natural, conforme relatos da literatura (ARMADA, 2006; KORSE e cols, 2009 ; KIN e cols 2009).

A perda de esteróides sexuais e/ou a ingestão de dietas palatáveis, como as dietas hiperlipídicas, estão associadas ao ganho de massa corporal (COSTA, 2009; ARMADA, 2006; MARQUES & TAVERA, 1998; TANAKA, 2002; TEÓFILO, 2003). Relatos de IKEMOTO (1996) mostraram ganho de massa corporal em roedores alimentados com óleo de soja (com composição principal em ácidos graxos n-6), como em nosso laboratório. Em estudo recente, DUARTE (2009) utilizando dieta com alto teor de óleo de peixe (rico em ácidos graxos n-3), também encontrou resultados similares.

Apesar do aumento da massa corporal já estar bastante descrito, nesse estudo não verificamos correlação entre hipoestrogenismo e/ou dieta hiperlipídica com o comprimento corporal ou com a ingestão alimentar. Nossos resultados corroboram com os relatos de DUARTE (2006), que também não verificou hiperfagia, embora as dietas hiperlipídicas sejam consideradas altamente palatáveis. Os relatos sobre o consumo de dietas de alto teor lipídico são conflitantes. Variações na fonte lipídica utilizada na composição da ração assim como o tempo de ingestão gera resultados distintos. Um estudo utilizando ração com base em dieta de cafeteria por 28 dias verificou maior consumo alimentar (EGUCHI e cols, 2008), enquanto outro estudo utilizando ração com 10% de teor lipídico por 16 semanas observou diminuição da ingestão alimentar (KRESTCHMER, 2005).

A avaliação óssea em ratas castradas tem sido utilizada com o objetivo de verificar os efeitos de estrógenos (ARMADA, 2006; NIAN, 2006; WERKMAM, 2006; HALICI, 2007; HAM, 2008). Em nossos estudos, a avaliação indireta da integridade óssea determinada a partir das concentrações séricas de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina evidenciou que a deficiência de esteróides sexuais e a ingestão de dieta hiperlipídica são fatores que alteram a estrutura óssea. Em relação ao cálcio e ao fósforo, a perda da função gonadal foi um fator determinante para sua diminuição, corroborando relatos anteriores (SHULZ e cols, 1999; TENÓRIO, 2005; MURTHY e cols, 2006; HUANG, 2007). A associação da ovariectomia à ingestão hiperlipídica determinou maior diminuição do cálcio sérico, possivelmente pelo efeito da dieta em reduzir a absorção intestinal de cálcio (GRIEL, 2007). No entanto, não evidenciamos correlação entre as concentrações séricas de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina. É possível que a dieta hiperlipídica e a castração estejam influenciando a função

hepática de forma mais direta e ativa, alterando as concentrações totais da fosfatase, que não é um fator específico de atividade óssea.

Quanto às medidas realizadas nas mandíbulas, fêmures e vértebras L4 é possível que a falta de alteração seja devido ao período experimental, que pode ser considerado curto. Anteriormente, ARMADA (2006) avaliando ratas e ratos castrados só começou a observar diferenças morfológicas a partir de 60 dias de castração. Em geral, trabalhos que avaliam ossos não determinam medidas ósseas. As únicas referências que temos conhecimento sobre essas medidas foram realizadas em fêmures de ratos alimentados com dieta contendo óleo de peixe (SIROIS, 2003) ou em vértebra L4 de camundongos transgênicos exibindo osteopetrose (ABE, 2000). Quanto às medidas realizadas em mandíbulas, recentemente, verificamos em nosso laboratório alterações mostrando diminuição das medidas em ratas após períodos crônicos de deficiência de esteróides sexuais (ARMADA, 2009). Até onde temos conhecimento esse parâmetro de análise é pouco utilizado (KATSUMATA e cols, 1995; IKEDA e cols, 2001; ALLI e cols, 2006), apesar de poder ser um indicador de alteração morfológica.

As alterações em alguns parâmetros físicos de vértebras L4 e mandíbulas podem ser atribuídas ao efeito da dieta sobre a estrutura óssea. As alterações anatômicas evidenciadas, em relação aos diferentes diâmetros dos canais medulares e ao tamanho do canal mandibular, foram observadas principalmente nos grupos OVX (dado observado e não apresentado). Já a diminuição no percentual de material orgânico da coluna, nos animais alimentados com dita hiperlipídica, C19% e OVX19%, apresentam correlação às concentrações séricas de fósforo e cálcio. Já as densidades ósseas e minerais das mandíbulas, menores nos animais castrados, mostram a influência direta do hipoestrogenismo. Em fêmures, a manutenção desses parâmetros, semelhantes ao controle ocorrem, possivelmente, por ser um osso predominantemente cortical e pelo fato do período experimental de um mês, ter sido insuficiente para inferir mudanças significativas. Estudos de ARMADA, 2009 só evidenciaram alterações em fêmures 120 dias após a castração, ou seja, após período crônico.

Atualmente, o método utilizado para avaliação óssea com acurácia e precisão de medidas é a densitometria (DXA, densitometria por absorção de raios X de dupla energia), tendo sua utilidade já consagrada para diagnóstico e seguimento de doenças ósseas em adultos (CASTRO, 2004). No entanto, para estudos experimentais, as técnicas descritas acima ainda vêm sendo utilizadas (ARMADA, 2009;

BERTONCELLO e cols, 2008), dados o custo das técnicas. A análise do conteúdo mineral foi realizada apenas nas cinzas das mandíbulas, tendo em vista o alto custo da técnica. Esta não mostrou alteração para cálcio e fósforo, que provavelmente encontraríamos caso a coluna fosse avaliada. No entanto, surpreendentemente, o percentual de magnésio estava elevado no grupo OVX19%. Sabemos que metade do magnésio do corpo é encontrada nos ossos (50% em fase mineral e 50% em fase lábil em troca com o meio extra-ósseo) e a outra parte nos músculos e demais tecidos, estando relacionado com a atividade neuromuscular e nervosa, transferência de energia, crescimento ósseo e metabolismo de carboidratos e lipídeos (ARAÚJO e cols, 2008). Um estudo em pacientes esquistossomóticos revelou que a reposição deste mineral inferiu melhoras na densidade óssea (MESQUITA e cols, 2004). Outro estudo sobre osteoporose experimental em ratas ovariectomizadas (BREM e cols, 2004) detectou níveis inferiores de magnésio, ao exame da densitometria óssea. O mesmo sendo observado em animais castrados com reposição hormonal (BREM e cols, 2005), correlacionando assim os níveis de magnésio à função gonadal. Em nosso estudo, verificamos maior correlação dos níveis de magnésio com a dieta hiperlipídica, já que houve aumento nos grupos OVX19% e C19%, diferindo dos estudos supracitados.

A avaliação da integridade óssea através de testes biomecânicos vem sendo descrita em função da carga máxima aplicada ao corpo de prova (ARMADA, 2009; ALLIPI, 2006). Mas, em nosso estudo foram avaliadas a tensão máxima e carga máxima. A tensão é a medida de uma carga ou força mecânica aplicada, normalizada para levar em consideração a área da seção reta. A deformação representa a intensidade da deformação induzida por uma tensão (CALLISTER, 2002). Em fêmures e vértebras L4 não foram observadas diferenças. Para os fêmures, uma explicação plausível pode estar relacionada à sua natureza, essencialmente cortical, e pelo curto tempo do período experimental. Para a vértebra L4 já pode ser percebida uma tendência à menor resistência nos grupos ovariectomizados. Surpreendentemente, as mandíbulas responderam de forma distinta, podendo esta discrepância estar relacionada às diferenças anatômicas encontradas, e/ou à distribuição da força mastigatória, que em roedores é maior na parte anterior e em humanos na parte posterior. O grupo OVX19% visivelmente apresentou menor resistência à tensão e à carga máxima, concordando com a menor densidade óssea, verificada no teste físico. Embora a apresentação da tensão máxima através de

gráfico de barras seja mais didática para demonstrar os resultados, o gráfico mais adequado pra esboçar os mesmos resultados é o gráfico de linhas (representado no Gráfico 11)

É preciso ressaltar como o teste biomecânico expresso em função da curva de deformação mostra a fragilidade óssea claramente perceptível, quando há associação da dieta hiperlipídica com o hipoestrogenismo. Este tipo de avaliação, levando em conta não só a carga máxima, mas também a espessura do osso no local da fratura foi realizada pela primeira vez, nesse modelo experimental. Essa metodologia ofereceu melhor precisão e acurácia para obtenção dos resultados, uma vez que a tensão foi avaliada em função de uma área pré-determinada.

Pode-se questionar se mulheres na menopausa, fazendo uso de alimentação rica em lipídios (com sobrepeso ou não) também apresentam perda óssea, mais precoce, na mandíbula. Tal fato, já comprovado neste estudo experimental, se reproduzido em modelos humanos, poderia causar um impacto positivo em termos de saúde pública, pois a detecção de fragilidade óssea bucal por radiografias intra-orais associadas a outras modalidades de imaginologia, como a obtenção de imagens por cone beam, que são de menor custo e de mais fácil manuseio profissional (TOSONI e cols, 2004) dispensariam para alguns casos o uso da densitometria óssea (exame mais utilizado atualmente) (CURY e cols, 2007) e de maior custo.

Assim, para este modelo experimental, observamos que existe uma correlação negativa entre a dieta hiperlipídica associada ao hipoestrogenismo. A dieta interferiu de forma negativa na integridade óssea agravando o que naturalmente já ocorre na perda da função gonadal: a maior reabsorção óssea.

10. CONCLUSÃO:

As alterações nos parâmetros físicos nas mandíbulas se correlacionaram com os parâmetros biomecânicos avaliados, mas o mesmo não ocorreu na vértebra L4.

Apesar da diminuição sérica do cálcio e fósforo, o conteúdo desses elementos não se alterou na mandíbula.

O aumento do conteúdo de magnésio nas cinzas das mandíbulas das ratas C19% e OVX19% sugere uma relação da dieta hiperlipídica com esse elemento.

A metodologia para o ensaio biomecânico da mandíbula foi precisa, embora os corpos de prova apresentassem variáveis anatômicas, o que teoricamente interfere na precisão das análises biomecânicas de maneira geral.

O modelo da avaliação óssea da mandíbula se mostrou um bom parâmetro para avaliação da integridade óssea.

O período experimental de 30 dias pode ter sido insuficiente para verificar alterações nas medidas ósseas, no entanto foi suficiente para detectar a diminuição da integridade óssea da mandíbula provando que a associação hipoestrogenismo/dieta hiperlipídica é deletéria para a integridade óssea bucal.

REFERÊNCIAS

1. ABE S e cols. Morphological study of the femur in osteopetrotic (op/op) mice using microcomputed tomography. *Br J Radiol.* 2000;73:1078-82.
2. ALAM SQ e cols. Fatty acid composition and arachidonic acid concentrations in alveolar bone of rats fed diets with different lipids *Calcif Tissue Int* 1993; 53:330-332
3. ALLIP R e cols. Permanent reduction of mandibular size and bone stiffness induced in post-weanig rats by cyclophosphamide. *Arch Oral Biol.* 2009; 54:6-11.
4. ALLIP R e cols. Mandibular bone stiffening and increased bone calcium mass in rats permanently stunted by hypophysetomy. *Arch Oral Biol.* 2006; 51: 876-882.
5. ANDERSON DM e cols. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance t-cell growth and dentritic cell function. *Nature*, 1997;390(6656):175-9.
6. ARAUJO JA. Fontes de minerais para poedeiras. *Acta veterinária brasileira.* 2008. (2):53-60
7. ARMADA L. e cols. Mandible analysis in sex steroid-deficient rats. *Oral Disease* . 2006 (12), 181-186..
8. BANDEIRA F. e cols. Osteoporose. Rio de Janeiro: Medsi, 2000.
9. BARBOSA C. Estudos imunohistoquímicos das proteínas da matriz extracelular óssea nos maxilares de fetos humanos. [tese doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2003. 98 p.
10. BATISTA FILHO M e cols.. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. *Cad Saúde Publ.* 2003; 19(supl.1): S181-91.
11. BERNE & LEVY. *Fundamentos de Fisiologia.* Elsevier, 2006 p. 734-737.
12. BERTONCELLO D e cols. Nifedipina promove diminuição da qualidade óssea em ratas com osteopenia; nifedipine decreases bone quality in female rats with osteopenia. *Fisioter Pesq.* 2008; 15(4): 355-60.
13. BOBE J e cols. Ovarian function of the trout preovulatory ovary: new insights from recent gene expression studies. *Comp Biochem Physiol.* 2009; 53(1): 63-8.
14. BORD R e cols. The effects of estrogen on osteoprotegerin, RANKL and estrogen receptor expression in human osteoblasts. *Bone.* 2003;32:136-41.
15. BORELLI A. Envelhecimento ósseo: osteoporose. *Geriatrics: fundamentos clínica e terapêutica.* São Paulo: Atheneu, 1994. p 297-308.

16. Brasil. Ministério da Saúde. Sistemas de informações hospitalares do SUS. Disponível em <http://WWW.tabnet.datasus.gov.br> [2009 jun14]
17. BREM JJ e cols. Osteoporosis experimental em ratas ovariectomizadas: densitometria ósea y concentración de minerales em sangre y cenizas de hueso. *Rev. Vet.* 2004; 15(2): 56-61.
18. BREM JJ e cols. Respuesta del tejido trabecular óseo y la concentración de minerales a la terapia hormonal de reemplazo en ratas ovariectomizadas. *Rev. Vet.* 2005; 16(2): 69-73.
19. CALLISTER WD. Ciência e engenharia de materiais; uma introdução. 5.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002. p.100.
20. CAMPOS LA e cols. Nível socioeconômico e sua influência sobre a prevalência de sobre peso e obesidade em escolares adolescentes do Município de Fortaleza. *Rev Nutr.* 2006; 19(5): 531-38.
21. CARVALHO DCL e cols. Non pharmacological treatments in the stimulation of osteogenesis. *Rev Saúde Publ.* 2002; 36(5): 647-654.
22. CASTRO M Por que medir densidade óssea em crianças e adolescentes? *Jornal de pediatria* 2004. 80 (6): 439-440
23. CICEK E e cols. Influence of electromagnetic fields on bone fracture in rats: role of CAPE. *Bio Environ Sci.* 2009;22(2):157-60.
24. COMPSTON J e cols. Sex steroids and bone. *Physiol Rev.* 2001; 81p:419-47.
25. CORDERO P. e cols. Eficiência y metabolismo mitocondrial: um eje etiológico de la obesidad? *Rev Med Univ Navarra.* 2007; 51(3): 13-8.
26. CORNISH S Alpha-linolenic acid supplementation and resistance training in older adults. *Applied Physiology Nutrition and Metabol.* 2009. 34 (1):49-59
27. CORWIN RL e cols. PE Effects of dietary fats on bone health in advanced age LFA 2003; 68:379-386.
28. COSTA C A e cols. Evaluation of body development, fat mass and lipid profile in rats fed with high-AGPI and -MUFA diets, after neonatal malnutrition. *Br J of Nutr.* 2008; 101(11):1369-44.
29. DUARTE e cols. High fat diet and secretory capacity of insulin in rats. *Rev Nut.* 2006;19(3): 341-48.
30. DUNCAN RL e cols. Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain. *Calcif Tissue Int.* 1995; 57: 344-358.

31. EMWONWU C e cols. Nutrition and inflammatory markers. JADA. 2007;138(1):70-3.
32. ENGESAETER LB e cols. Methods for testing the mechanical properties of the rat femur. Acta Orthop Scand. 1978; 49:512-18.
33. ESTADELLA D e cols. Hyperlipidic diet on lipid metabolism for sedentary and exercised rats. Nutrition. 2004; 20(2): 218-24.
34. FRANÇA e cols. Fatores associados à obesidade global e à obesidade abdominal em mulheres na pós-menopausa. Bras Saúde Matern. Infant. 2008; 8(1): 65-73
35. FRANCO L e cols. Teor lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporal em ratos exercitados. Rev. Nutr. 2009; 22(3): 359-66.
36. FUKADA E. On the piezoelectric effect of bone. J Phys Soc Japan. 1957; 12(10) :1158.
37. FULLER K e cols. . Trance is necessary and sufficient for osteoblasts-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. J Exp Med. 1998;188(5):997-1001.
38. GARCIA RI e cols. Relationship between periodontal disease and systemic health. Periodontol 2000. 2001;25:21-36..
39. GOSS P e cols. Comparing the effects of atamexane, toremifene and tamoxifen alone and in combination, on bone, serum lipids and uterus in ovariectomized rats. J Steroid Biochem Mol Biol. 2009;113(3-5):233-40.
40. GRAHAM , LS e cols. Oxidized lipids enhance RANKL productino by Lymphocytes: Implications for lipid – induced bone loss. Clinical Immunol. 2009 (133) 265-75
41. GRAHAN, LS e cols. Oxidized lipids enhance RANKL production by Tlymphocytes: Implications for lipid-induced bone loss. Clinical Immunology. 2009; (133):265-75
42. GRIEL A e cols. Increased dietary indirectly N3- fat acids decreases a marker of bone resorptions in humans. Nutrition Journal, 2007; 6:2-11.
43. GROSS TS. e cols. . Strain gradients correlate with sites of periosteal bone formation. J Bone Min Res. 1997; 12(6):982-8.
44. HADJ P.e cols . The influence of hormone replacement therapy (HRT) on serum leptin concentration in postmenopausal womem. Maturitas. 2000; 37: 105-11
45. HALICI Z e cols. Protective effects of amlodipine and lacidipine on ovariectomy-induced bone loss in rats. Eur Jour Pharmac. 2008 (579):241-45

46. HAM, X e cols. Effects of cod bone gelatin on metabolism and bone microarchitecture in ovariectomized rats. *Bone*. 2009 (44):942-47.
47. HARPER, S e cols. *Bioquímica*. Atheneu. 1998 (5): 28
48. HILL JO L e cols. Developent of dietay obesity in rats: influence of amount and composition of dietary fat. *Int J Obes*. 1998; 16(5): 321-33
49. HOFBAUER LC e cols. Androgen effects on boné metabolism: recent progress and controversies. *Eur J Endocrinol*. 2002;140
50. HOLANDA AJ e cols. Efeitos da orientação das fibras de colágeno nas propriedades mecânicas de flexão e impacto dos ossos. *Rev Bras Ortop*. 1999;34(11/12): 579-89.
51. <http://www.nutritionandmetabolism.com./content/3/136#>. Acesso em 14/11/2009.
52. HUANG Z e cols. Effects of N – n-buttyl haloperidol iodile on L-type calcium channels and intracellular free calcium in rat ventricular myocytes. *Biochem Cell Biol* 2007 85(2): 182-8
53. IGNACIO D e cols. Regulação da massa corpórea pelo estrogênio e pela atividade física. *Arq. Bras Endocrinol Metab*. 2009; 53:23.
54. IKEDA S. e cols. Effect of trabecular bone contour on ultimate strength of lumbar vertebra after bilateral ovariectomy in rats. *Bone*. 2001; 28(6) 625-633.
55. IKEMOTO S e cols. High- fat diet-induced hyperglycemia and obesity in mice: differential effects of dietary oil. *Metabolism* 1996 45(12): 1539-46
56. IZMOZHEROVA N e cols. Postmenopausal osteoporosis in obese women. *Klinischeskaia Meditsina*. 2008; 86(3): 44-6.
57. KATSUMATA T. e cols. Intermittent cyclical etidronate treatment maintains the mass, strucuture and mechanical property of bone in ovariectomized rats. *J Bone Miner. Res*. 1995; 10(6): 921-931.
58. KELLY O. e cols. The effect of polyunsaturated fatty acids, including conjugated linoleic acid, on calcium absorption and bone metabolism and composition in young growing rats. *British J Nutr* 2003; 90: 743-750.
59. KIM S e cols. Effect of estrogen deprivation on the expression of aquaporins nitric oxide synthases in rat vagina. *J Sex Med*. 2009;6(6):1579-86.
60. KONDO T e cols. Obesity, insulin resistance and inflammation. *Domyaku Koka Yobo*. 2009;8(3):48-53.
61. KORSE C e cols. Estradiol and testosterone levels are lower after oophorectomy than after natural menopause . *Tumor Markers*. 2009 (1): 37-42

62. KRETSCHMER BD e cols. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life science*. 2005;76(14): 1553-73.
63. LARREA F e cols. Sites of polactin inhibition an gonadotropin-induced estrogen production in cultured rat granulosa cells. *Gac Méd Méx*. 2005;141(4):259-66.
64. LEPOLA VT e cols. Long-term effects of clodronate on growing bone rat. *Bone*. 1996; 18(2): 191-6
65. LIRANI APR e cols. Evidências da ação de agentes físicos sobre o metabolismo do tecido ósseo e seus potenciais usos clínicos. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2005; 49(6): 891-6.
66. LOMBARDO YB e cols. Effects on dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemias and insulin resistance in rodents and humans a review. *J Nutr Biochem*. 2006; 17(1):1-13.
67. MANDALUNIS P. Remodelación ósea. *Actual Odontol*. 2006; 2(1):16-8.
68. MANOLAGAS SC e cols. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endoc Rev*. 2000; 21(2):115-37.
69. MARQUES KP e cols. Avaliação microscópica das estruturas periodontais e morfologia óssea alveolar em ratas ovariectomizadas. *Rev FOB*. 1998; 6(3): 9-18.
70. MATSUZAWA Y e cols. Importance of adipocytokines in obesity- related diseases. *Horm Res* 2003 (3):56-9
71. MAURY E e cols. Adipokines dysregulation adpose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol*. 2010; 314:1-16.
72. MENDONÇA F e cols. Efeito da aplicação de microcorrente na osteogênese após fratura. *RGO*. 2005; 53:193-7.
73. MESAS AE e cols. Condições de saúde bucal de idosos de comunidade urbana de Londrina, Paraná. *Rev Bras Epidemiol*. 2006; 9(4): 471-80.
74. MESQUITA GV e cols. Avaliação de pacientes esquitossomóticos quanto ao conteúdo mineral ósseo, nível de magnésio corporal total e atividade da enzima lecitina e colesterol acetiltransferase em pós-esplenectomizados com auto-implante esplênico. *Ver Bras Ortop* 2004 (39):49-58
75. MINARY J e cols. Uncovering nanoescale eletromechanical heterogeneity in the subfibrillar structure of collagen fibrils responsible for the piezoelectricity of bone. *ACS Nano*. 2009;3(7):1859-63.

76. MONTE C. Desnutrição: um desafio secular à nutrição infantil. J Pediatría. 2000; 76 (supl 3): S285-97.
77. MOREIRA RM e cols. Dose-dependent effects of β -estradiol on TRH- induced TSH in vitro. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 1997 (30): 1547-52.
78. MOREIRA RS e cols. A saúde bucal do idoso brasileiro: revisão sistemática sobre o quadro epidemiológico e acesso aos serviços de saúde bucal. CAD Saúde Publ. 2005; 21(6): 1665-75.
79. MORO C e cols. Ex differences in lipolysis-regulating mechanisms in overweigh subjects: effect of exercise intensity . Obesity. 2007 (15):2545-55
80. MOSEKILDE e cols. The effect of aging and ovariectomy on the vertebral bone mass and biomechanical properties on mature rats. Bone. 1999; 14: 1-16.
81. MURTHY P e cols. Effect of ormeloxifone an ovariectomy induced bone resorption, osteoclast differentiation and apoptosis and TgF beta-3 expression. J Steroid Biochem Mol Biol. 2006;(100):117-128.
82. NIAN H e cols. Antiosteoporotic activity of Er-Xian decoction, a traditional chinese herbal formula, in ovariectomized rats. J Ethnopharmacol. 2006;(108):96–102.
83. NUNES MMA e cols. Excesso de peso, atividade física e hábitos alimentares entre adolescentes de diferentes classes econômicas em Campina Grande. Rev Assoc Med Bras. 2007; 53(2): 130-4.
84. OHTA, H e cols. The impact of lifestyle factors on serum 25-hydroxyvitamin D levels: a cross – sectional study in japanese womwn aged 19-25 years. Journal of Bone and Mineral Metabol, 2009 (6):682-88
85. PENG Z. e cols .The mechanical strnght of bone in different rat models of experimental osteoporosis. Bone. 1994; 15: 523-532
86. PIVONKA P e cols. Theoretical investigation of the role of the of the RANK-RANKL-OPG system in bone remodeling. J Theor Biol. 2010;262(2):306-16.
87. POLAKOW V e cols. Dietas hiperlípidicas: efeitos da substituição isoenergética de gordura por carboidratos sobre o metabolismo de lipídios, adiposidade corporal e sua associação com atividade física e com o risco de doença cardiovascular. Arq Bras Endocrinol Metab. 2007; 51(3): 389-400.
88. RAMALHO ACR e cols. Porque estrógeno e raloxifeno melhoram a densidade mineral óssea? Mecanismo de ação do estrógeno e de um modulador seletivo do

- receptor de estrógeno. (SERM) no osso. *Arq. Bras Endocrinol Metab.* 2000; 44 (6):471-82.
89. RAUEN MS e cols. Avaliação do estado nutricional de idosos institucionalizados. *Rev Nutr.* 2008; 21(3): 303-10.
 90. REISER R . Controlo f serum cholesterol homeostasis by cholesterol in the Milk of the sucking rat. *JN.* 2009 (102):1009-16
 91. RINALDI AEM e cols. Contribuição das práticas alimentares e inatividade física para o excesso de peso infantil. *Rev Paul Pediatr.* 2008;26(3):271-7.
 92. RUBIN CT e cols. Osteoporosis. Academic Press, 1996. p.351-376
 93. SAMNERGARD E e cols. Maintenance of vertebral body bone mass and strength created by human parathyroid hormone treatment in ovariectomized rats. *Bone.* 2001;28(4):414-22.
 94. SARAIVA G e cols. Marcadores bioquímicos da remodelação óssea na prática clínica. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2002; 46(1).
 95. SHEN CL.. Protective effect of dietary long-chain *n*-3 polyunsaturated fatty acids on bone loss in gonad-intact middle-aged male rats *B J Nut* 2006; 95: 462-468
 96. SHULZ S e cols. Ionized calcium and bone turnover in the estrogen deficient rat. *Calcif Tissue Int.* 1999;65(1):78-82.
 97. SIROIS J e cols. Biomechanical bone strength and bone mass in young male and female rats fed a fish oil diet. *Prostaglandins Leukot and Essent Fatty Acids.* 2003;68:415-21.
 98. SKEDROS J e cols. Dissociation of mineral and collagen orientations may differentially adapt compact bone for regional loading environments: results from acoustic velocity measurements in deer calcanei. *Bone.* 2006;39(1):143-51.
 99. SOGAARD CH e cols. A comparison of the effects of two anabolic agents (fluoride and PTH) on ash density and bone strength assessed in an osteopenic rat model. *Bone.* 1997; 20: 439-449.
 100. STEVENSON JC e cols. Osteoporosis. San Diego: Academic Press, 1996. p.61-94.
 101. TAKEDA S e cols. Molecular bases of the sympathetic ragulation of boné mass. *Bone.* 2008(42):837-40.
 102. TANAKA M e cols. Effects of ovariectomy on trabecular structures of rat alveolar bone. *J Periodontol Res.* 2002;37:161-65.

103. TENÓRIO AS e cols. Efeito do treinamento físico sobre o tecido ósseo e a concentração sérica de cálcio em camundongos fêmeas e ovariectomizadas. *Acta Cir Bras.* 2005; 20(4): 280-83.
104. TEÓFILO JM e cols. Comparison between two experimental protocols to promote osteoporosis in the maxila and proximal tibia of female rats. *Pesquisa Odontol Bras.* 2003;17(4):302-6.
105. TURNER RT e cols. Skeletal effects of estrogen. *Endocr Rev.* 1994; 15(3): 275-300.
106. WATKINS BA e cols. Nutraceutical Fatty Acids as Biochemical and Molecular Modulators of Skeletal Biology *J Am Coll Nutr*2001; 20 (5): 10- 416.
107. WEILER HA e cols, Dietary arachidonic acid suppresses bone turnover in contrast to low dosage exogenous prostaglandin E₂ that elevates bone formation in the piglet. *J .Nutr* 2002; 132: 2667-2672.
108. WERKMAN C e cols. Comparative therapeutic use of risedronate and *Calcareia phosphorica* – allopathy versus homeopathy - in bone repair in castrated rats. *Braz Oral Res.* 2006; 20(3):196-201.
109. WEY Y e cols. Saturated fatty acid-mediated endoplasmic reticulum stress and apoptois are augmented by Trans-10, Cis-12 conjugated linoleic acid in liver cells. *Molecular and Cellular Biochem.* 2007. 303(12): 105-13
110. WOODS SC e cols. A controlled high-fat diet induces na obese syndrome in rats. *J Nutr.* 2003; 133:1081-87.
111. YASUDA H e cols .Osteoclasts differentiation factor is a ligand for os teoprotegerin/osteoclatogenesis-inhibitory factor and is identical to trance/rankl. *Proc. Nati Acad Sci USA*1998; 95(7):3597-3602.
112. YOSHIHARA A e cols. A longitudinal study of the relationship between periodontal disease and bone mineral density in community-dwelling older adults. *J Clin Periodontol.* 2004;31(8):680-84.
113. ZHANG L e cols. Role of fatty acid uptake and fatty acid beta oxidation in mediating insulin resistance in heart and skeletal muscle. *Biochim Biophs Acta.* 2010;1801(1):1-22.
114. VIANNI R e cols. Ácidos graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos. *Química Nova.* 1996 19 (4): 400-07

BIBLIOGRAFIA

- 1) ALANIS M H F e cols. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2006; 50(2): 216-29.
- 2) ALEMZADEH R e cols. Hypovitaminosis D in obese children and adolescents: relationship with adiposity, insulin sensitivity, ethnicity, and season. *Metab Clin Experim.* 2008; 57:183–191.
- 3) AMADEI SU e cols. A influência da deficiência estrogênica no processo de remodelação e reparação óssea. *J Bras Patol Med Lab.* 2006; 42(1): 5-12
- 4) AOKI MS e cols. Suplementação lipídica para atividade de endurance. *Rev Paul. Educ. Fis.* 1999; 13(2):203-38
- 5) ARANY S e cols. Phenotype properties of a novel spontaneously immortalized odontoblast-lineage cell line. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 342:718–724.
- 6) AZEVEDO G e cols. Níveis séricos de Leptina e densidade óssea em mulheres pós –menopausa. *RBGO.* 2004; 26(6)
- 7) BASTOS e cols. Obesidade e doença periodontal. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr.* 2005; 5(3): 275-9.
- 8) BATISTA M e cols. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. *Cad. Saúde Publ.* 2003; 19.
- 9) BEALL DP e cols. Anatomic and structural evaluation of the hip: a cross-sectional imaging technique combining anatomic and biomechanical evaluations. *Clin Imaging.* 2008;32:372–381.
- 10) BERNARDES D. e cols. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação em rato. *Rev Bras Educ Fis Desp.* 2004; 18(2): 191-200.
- 11) BISDAS S e cols. Biphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: CT and MRI spectrum of findings in 32 patients. *Clin Radiol.* 2008; 63: 71,77.
- 12) BULUN S E e cols. The physiology and pathology of the female reproductive axis. *Textbook of Endocrinology.* 11.ed. Philadelphia:WB Saunders, 2003. p 541-614.
- 13) COLE Zet al. Update on the treatment of post-menopausal osteoporosis. *Br Med Bull.* 2008; 86.

- 14) COLUSSI C e cols.. Epidemiological profile of caries and the use and need of prostheses in the elderly population of Biguaçu, Santa Catarina, Brasil. *Rev Bras. Epidemiol.* 2007; 7(1)
- 15) CONTI M e cols. Biomechanical performance of diaphyseal shafts and bone tissue of femurs from hypothyroid rats. *Endocrine.* 2009;36(2):291-98.
- 16) DANIELSEN CC e cols. Cortical bone mass, composition and mechanical properties in female rats in relation to age, long-term ovariectomy and estrogen substitution. *Calcif Tissue Int.* 1993;52:26-33.
- 17) DE SANTIS R e cols. Biomechanical effects of titanium implants with full arch bridge rehabilitation on a synthetic model of the human jaw. *Acta Biomater.* 2007; 3: 121–6.
- 18) ESTRÓGENOS: consequências e implicações das mutações humanas na síntese e ação. *Rev Assoc Med Brasil.* 2001; 47(1):1-23.
- 19) FELIG P e cols. *Endocrinology and metabolism.* 4.ed.Mcgraw Hill, 2001.
- 20) FULLER K e cols. . Trance is necessary and sufficient for osteoblasts-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med.* 1998;188
- 21) GAIVA MH e cols. Diets rich in polyunsaturated fatty acids: effect on hepatic metabolism in rats. *Nutrition.* 2003; 19(2):144-9.
- 22) GALLAGHER JC. Advances in bone biology and new treatments for bone loss. *Maturitas.* 2008;60: 65–9.
- 23) GOLDSTEIN J. *Scanning electron microscopy and X-Ray microanalysis.* 3. ed. New York: Springer, 2003. p.415-6 ; 464-5.
- 24) HALPERN A e cols. Tratamento farmacológico da obesidade. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2002; 46
- 25) HEINE PA e cols. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor Knockout mice. *Proc Nat Acad Sci USA.* 2000; 297(23):-12729-34.
- 26) HEITMANN M e cols. Remaining teeth, cardiovascular morbidity and death among adult danes. *Prev Med.* 2008; 47:156–160.
- 27) HESSARI H e cols. Tooth loss and prosthodontic rehabilitation among 35- to 44- year-old Iranians. *J Oral Rehab.* 2008; 35: 245–251.
- 28) KIM SA e cols. Country development and the association between parity and overweight. *Int J Obes.* 2007;31:805-12
- 29) LAZARETTI-CASTRO M. Por que medir densidade mineral óssea em crianças e adolescentes? *Jornal de Pediatria.* 2004; 80(6): 439-40

- 30) LEE CH e cols. Biomedical applications of collagen. *Int J Pharm.* 2001; 221: 1–22.
- 31) LEITE R. Tratamento da osteoporose pós-menopausa. *Arq Bras Endocrinol. Metab.* 1999; 43 (6):271-7.
- 32) LENCHIK L e cols. Adiponectin as a novel determinant of bone mineral density and visceral fat. *Bone.* 2003; 33(4)
- 33) LEPPANEN OV e cols. Pathogenesis of age-related osteoporosis: impaired mechano-responsiveness of bone is not the culprit. *PLoS ONE.* 2008;3(7): e2540.
- 34) LIDFELDT e cols. The influence of hormonal status and features of the metabolic syndrome on bone density: a population-based study of Swedish women aged 50 to 59 years. The Women's Health in the Lund Area Study. *Metabol.* 2002;51 (2):267-270.
- 35) LIETMAN SA e cols. SH3BP2 is an activator of NFAT activity and osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 371: 644–8.
- 36) LIPORACI Jr JLJ e cols. Reabsorção condilar progressiva da articulação temporomandibular após cirurgia ortognática. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial.* 2007; 12 (2): 38-48.
- 37) LISBÔA PC e cols. Effects of estradiol benzoate on 5'-iodothyronine deiodinase activity in female rat anterior pituitary gland, liver and thyroid gland. *Braz J Med Biol Res.* 1997;30(12):1479-84.
- 38) MADER e cols. Validity of four short physical activity questionnaires in middle-aged persons. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38:1255-66.
- 39) MAFFEI L. e cols. Dysmetabolic syndrome in a man with a novel mutation of the aromatase gene: effects of testosterone, alendronate and estradiol treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(1): 61-70.
- 40) MALLUCHE HH e cols. Bone biopsies: histology and histomorphometry of bone. 2 ed. Philadelphia: WB Saunders, 1997.
- 41) MARTIN TJ e cols. Osteoblasts: differentiation and function. IN: MUNDY GR & MARTIN TJ. *Physiology and pharmacology of bone.* Berlin: Springer-Verlag, 1993. p.49-183.
- 42) MARTINEZ R e cols. Dietary fat intake and the risk of osteoporotic fractures in the elderly. *Eur J Clin Nutr.* 2007;61(9):1114-120.

- 43) MASAYOSHI Y. β –CRIPTOCHANTIN and bone metabolism: the preventive role in osteoporosis. J Health Sci. 2008;54 (4): 356-369.
- 44) MATOS A e cols. Aspectos neuroendócrinos da Síndrome metabólica. Arq Bras. Endocrinol Metab. 2003;47
- 45) MCTSU Y e cols. Importance of adipocytocines in obesity - related diseases. Horm Res. 2003; 60:56-9.
- 46) MELNIKOV P e cols. O gálio e a patologia óssea. Acta Ortop Bras. 2008; 16(1):54-7.
- 47) MOON S e cols. Palatal bone density in adult subjects! Implications for mini-implant placement. Angle Orthod. 2010;80(1):137-44.
- 48) MORAIS CSN e cols. Efeitos das fontes e níveis de lipídios na dietas de ratos machos da linhagem wistar (rattus norvegicus) sobre frações lipídicas do sangue. Ciênc Agrotec. 2003; 27(5): 1082-88.
- 49) MURRAY RK e cols. Harper: bioquímica. 8.ed. São Paulo: Atheneu, 1998. p.577-78.
- 50) MUSATOV S, e cols. Silencing of estrogen receptor in the ventromedial nucleus of hypothalamus leads to metabolic syndrome. Proc Natl acad Sci USA 2007; 104(7)
- 51) NAIDU A e cols .The effects of bisphosphonates on osteoblasts in vitro. Oral Sur Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008;106(1):5-13.
- 52) NOWSON C e cols. The effects of a low-sodium base- producing diet including red meat with a high-carbohydrate, low-fat diet on bone turnover markers in women aged 45-75. Br J Nutr. 2009;102(8):1161-170.
- 53) OSCAI LB e cols. Effects of dietary sugar and dietary fat on food intake and body fat content in rats. Growth. 1987;51 (1): 64-73.
- 54) PARHAMI F e cols. Atherogenic high-fat diet reduces bone mineralization in mice. J Bone Miner Res. 2001;16(1):182-88.
- 55) PENG XD e cols. Relationships between serum adiponectin, leptin, resistin, visfatin levels and bone mineral density, and bone biochemical markers in chinese men. Clin Chim Acta. 2008;387:31–5.
- 56) PITTELOUD N e cols. Inhibition of luteinizing hormone secretion by testosterone in men requires aromatization for its pituitary but not its hypothalamic effects: evidence from the tandem study of normal and

- gonadotropin-releasing hormone-deficient men. *J Clin Endocrinol metab.* 2008; 93 (3): 784-91.
- 57) POELMAN ET e cols. Transversing the menopause: changes in energy expenditure and body composition. *Coron Artery Dis.* 1998;9:799-803
- 58) PONTE-FERNÁNDEZ N e cols. Bisphosphonates and oral pathology I. General and preventive aspects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006;11:E396-400.
- 59) RAIZ LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts and prospects. *J Clin Invest.* 2005;115
- 60) RAVN C e cols. Low body mass index is an important risk factor for low bone mass and increased bone loss in early menopausal women. *J Bone Miner Res.* 1999;14:1622-7.
- 61) REICH E e cols. Trends in caries and periodontal health epidemiology in Europe. *Int Dent J.* 2001;51(6)
- 62) ROCHIRA V e cols. Osteoporosis and male age-related hypogonadism: role of sex steroids on bone. *Eur. J Endocrinol.* 2006;154(2): 175-85.
- 63) ROSA A. Condições da saúde bucal em pessoas de 60 anos ou mais no Município de São Paulo (Brasil). *Rev. Saúde Publ. S. Paulo.* 1998; 26(3): 155-60.
- 64) SANTANA A. Avaliação morfológica e morfométrica do tecido adiposo visceral de ratas deficientes de esteróides sexuais. [monografia]. Rio de Janeiro: Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, 2008.
- 65) SANTIAGO e cols. Métodos de avaliação da densidade mineral óssea e seu emprego na odontologia. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr.* 2006;6(3): 289-294.
- 66) SHEIHAM A e cols. The relationship between oral health status and body mass index among older people: a national survey of older people in Great Britain. *Br Dent J.* 2002;192(12):703-6.
- 67) SHIMIZU H. Angiotensin II accelerates osteoporosis by activating osteoclasts. *The FASEB J.* 2008; 22: 2465-2475.
- 68) SIPOS W e cols. Running has a negative effect on bone metabolism and proinflammatory status in male aged rats. *Exp. Gerontol.* 2008;43: 578–583.

- 69) SOUSA AGV e cols. Efeitos da terapia de reposição hormonal com raloxifeno e risedronato na reparação óssea de ratas com osteopenia. *Cienc Odontol Bras.* 2007;10 (3): 81-9.
- 70) SOUZA DM e cols. Avaliação óssea alveolar de *rattus norvegicus* por meio dos métodos radiográfico e morfométrico. *Cienc Odontol Bras.* 2005;8(4): 77-84.
- 71) THOMPSON EA e cols. The involvement of human placental microsomal cytochrome P-450. *J Biol Chem.* 1974; 249 (17): 5373-8.
- 72) TRAVISON TG e cols. The relationship between body composition and bone mineral content: threshold effects in a racially and ethnically diverse group of men. *Osteoporosis Int.* 2008;19:29–38.
- 73) TREMOLIERES FA e cols. Vertebral postmenopausal bone loss is reduced in overweight women: a longitudinal study in 155 early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;77: 683.
- 74) TURNER CH e cols. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone.* 1993; 14:595-608.
- 75) VIEILLARD MH e cols. Thirteen cases of jaw osteonecrosis in patients on bisphosphonate therapy. *Joint Bone Spine.* 2008; 75:34,40.
- 76) WATKINS BA e cols. Dietary ratio of n-6/n-3 AGPIs and docosahexaenoic acid: actions on bone mineral and serum biomarkers in ovariectomized rats. *J Nutr Biochem.* 2006; 17: 282–9
- 77) WATKINS BA e cols. Protective actions of soy isoflavones and n-3 AGPIs on bone mass in ovariectomized rats. *J Nutr Biochem.* 2005;16:479–488.
- 78) WILSON A e cols. Soy protein concentrate lowers serum high-density lipoprotein cholesterol concentrations compared with casein in ovariectomized rats fed a low-fat, cholesterol-free diet. *Nutr Res.* 2007;27: 417–422.
- 79) ZANNETTE e cols. Avaliação do diagnóstico densitométrico de osteoporose/osteopenia conforme o sítio ósseo. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003; 47 (1):30-6.

ANEXO A

Conteúdo da ração(g/100g)	Dieta controle 4%	Dieta hiperlipídica 19%
Caseína ¹	14(11,2-80%)	14 (11,2 - 80%)
Amido Milho ²	63(56,5)	47,8 (43,07)
Sacarose ³	10	10
Óleo de Soja ⁴	4	19
Fibra ⁵	5	5
Mix Mineral ⁶	3,5(0,73)	3,5(0,73)
Mix Vitamínico ⁷	1(0,97)	1(0,97)
L-Cistina ⁸	0,18	0,18
Bitartarato de Colina ⁹	0,25	0,25
Percentual Energético		
Carboidrato	68,2g (273Kcal - 76%)	54,7g (219Kcal - 50%)
Proteína	11,2g (44,8Kcal - 12%)	11,2g (44,8Kcal - 10.3%)
Lípido	4g (36Kcal - 10%)	19g (171Kcal - 39%)
Kcal/g	359 (3,6Kcal/g)	435 (4,3Kcal/g)
Ácidos graxos (ml)		
Saturados	0,53	2,51
Monoinsaturados	1,06	5
Poliinsaturados	2,13	10,1

Descrição dos ingredientes: 1 = Farmos®; 2 = Farmos®; 3 = União ®; 4 = Liza ®; 5 = Farmos®; 6 = Prag soluções® ; 7 =Prag soluções®; 8 = Farmos ® e 9 = Pragsoluções ®.

Purified Rodent Diet AIN-93M

Product Description

A committee of American Institute of Nutrition (AIN) members formulated and published the AIN-93M purified diet to provide nutrients in concentrations required for the maintenance of rats and mice.



Composition of Diet Ingredients (Percentage by Weight)

Corn Starch	46.57	Solka Flo-40	5.00
Casein Lactic	14.00	Soy Oil	4.00
Dextrin	15.50	AIN-93 Mineral Mix	3.50
AIN-93 Vitamin Mix	1.00	L- Cystine	0.18
Granular Sugar	10.00	Choline Bitartrate	0.25

Nutrient Composition

Amino Acids (% of total diet)

Arginine	0.70
Lysine	1.48
Methionine	0.56
Cystine	0.30
Tryptophan	0.22
Histidine	0.52
Leucine	1.76
Isoleucine	1.14
Phenylalanine	0.96
Tyrosine	0.98
Threonine	0.78
Valine	1.34

Vitamins

Vitamin A	IU/g	4.00
Vitamin D3	IU/g	1.00
Alpha-Tocopherol	IU/kg	98.42
Thiamine	ppm	6.44
Riboflavin	ppm	6.79
Niacin	ppm	30.54
Pantothenic Acid	ppm	16.18
Choline	ppm	1290.00
Pyridoxine	ppm	6.63
Folic Acid	ppm	2.80
Biotin	ppm	0.22
Vitamin B12	Mcg/kg	24.23
Vitamin K	ppm	0.77

Gross Energy	Kcal/gm	4.09
--------------	---------	------

Minerals

Calcium	%	0.50
Phosphorus	%	0.20
Potassium	%	0.36
Sodium	%	0.11
Magnesium	%	0.05
Iron	ppm	38.66
Zinc	ppm	37.66
Manganese	ppm	11.34
Copper	ppm	6.72
Cobalt	ppm	0.02
Iodine	ppm	0.21

Guaranteed Analyses

Crude Protein	Minimum	17.0%
Crude Fat	Minimum	7.0%
Crude Fiber	Maximum	5.0%
Ash	Maximum	4.0%



ANEXO B



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA ROBERTO ALCÂNTARA GOMES
COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº **CEA/238/2008** sobre *"A influência de dieta hiperlipídica, contendo óleo poliinsaturado (soja), sobre a remodelação óssea, massa corporal, memória e aprendizado, após perda da função gonadal"*, sob a responsabilidade de **Celly Cristina A. Nascimento Saba**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (CEA), em **30/07/2008**. Este certificado expira em **30/07/2010**.

Rio de Janeiro, 30 de Julho de 2008.

Prof. Antonio Carlos da Silva
Coordenador – CEA/IBRAG/UERJ

ANEXO C

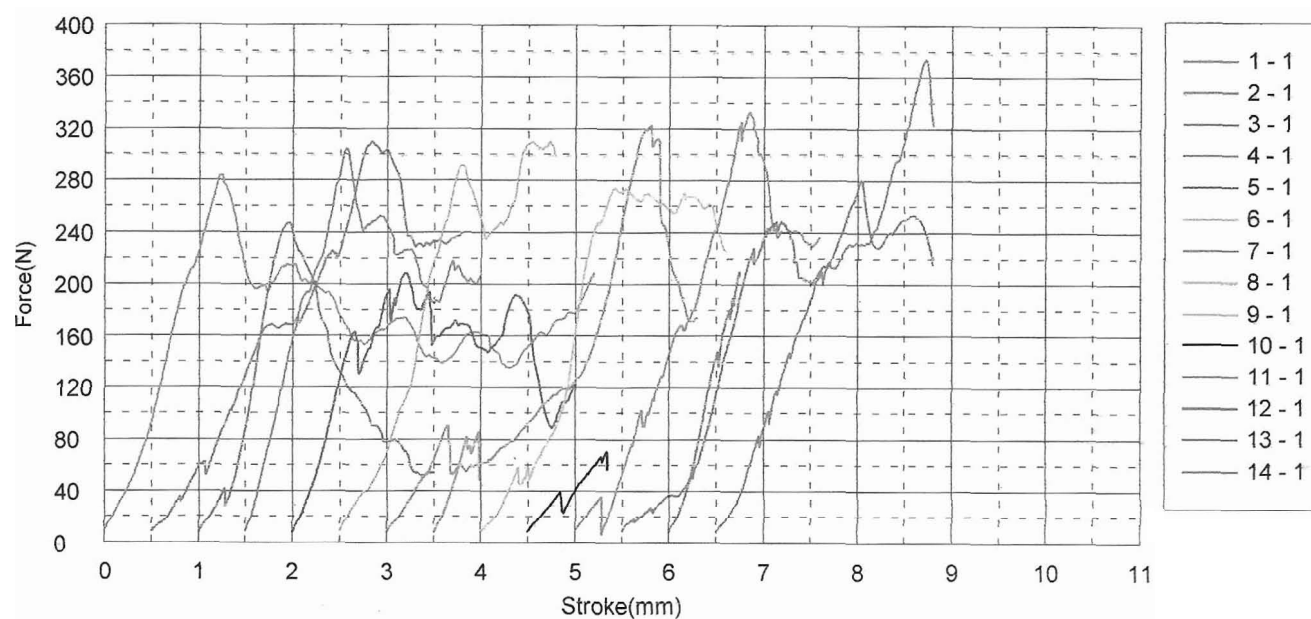
GT e GZ - Compressão

Shape: Area

Units	Area mm2	Height mm
1 - 1	3,0000	10,0000
2 - 1	3,0000	10,0000
3 - 1	3,0000	10,0000
4 - 1	3,0000	10,0000
5 - 1	3,0000	10,0000
6 - 1	3,0000	10,0000
7 - 1	3,0000	10,0000
8 - 1	3,0000	10,0000
9 - 1	3,0000	10,0000
10 - 1	3,0000	10,0000
11 - 1	3,0000	10,0000
12 - 1	3,0000	10,0000
13 - 1	3,0000	10,0000
14 - 1	3,0000	10,0000

Name	Max Force
Units	N
1 - 1	285,094
Mean	285,094
Standard Deviation	,00000
2 - 1	310,625
Mean	310,625
Standard Deviation	,00000
3 - 1	248,125
Mean	248,125
Standard Deviation	,00000
4 - 1	305,438
Mean	305,438
Standard Deviation	,00000
5 - 1	209,625
Mean	209,625
Standard Deviation	,00000
6 - 1	310,688
Mean	310,688
Standard Deviation	,00000
7 - 1	323,438
Mean	323,438
Standard Deviation	,00000
8 - 1	86,7500
Mean	86,7500
Standard Deviation	,00000
9 - 1	274,563
Mean	274,563
Standard Deviation	,00000
10 - 1	70,6250
Mean	70,6250

Standard Deviation	,00000
11 - 1	333,906
Mean	333,906
Standard Deviation	,00000
12 - 1	280,906
	280,906
Standard Deviation	,00000
13 - 1	211,219
Mean	211,219
Standard Deviation	,00000
14 - 1	374,688
Mean	374,688
Standard Deviation	,00000
Total Mean	258,978
Total Standard Deviation	88,5948



Comment

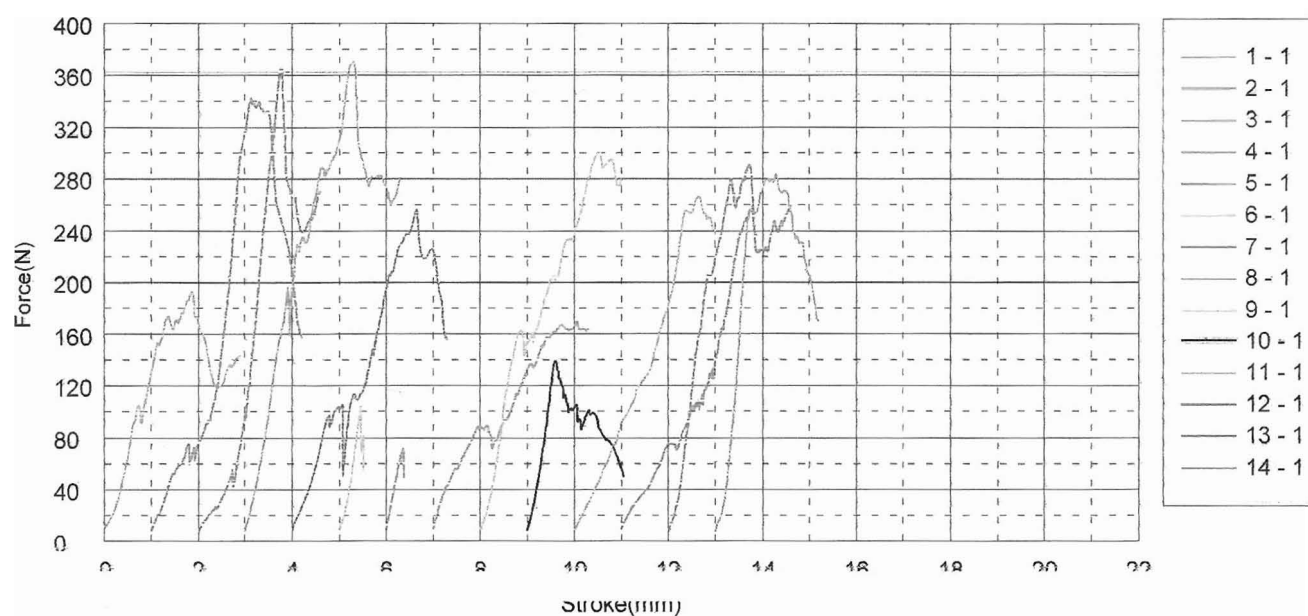
G3 e G4 - Compressão

Shape: Area

Units	Area mm2	Height mm
1 - 1	3,0000	10,0000
2 - 1	3,0000	10,0000
3 - 1	3,0000	10,0000
4 - 1	3,0000	10,0000
5 - 1	3,0000	10,0000
6 - 1	3,0000	10,0000
7 - 1	3,0000	10,0000
8 - 1	3,0000	10,0000
9 - 1	3,0000	10,0000
10 - 1	3,0000	10,0000
11 - 1	3,0000	10,0000
12 - 1	3,0000	10,0000
13 - 1	3,0000	10,0000
14 - 1	3,0000	10,0000

Name	Max_Force
Units	N
1 - 1	193,531
Mean	193,531
Standard Deviation	,00000
2 - 1	343,500
Mean	343,500
Standard Deviation	,00000
3 - 1	366,844
Mean	366,844
Standard Deviation	,00000
4 - 1	371,750
Mean	371,750
Standard Deviation	,00000
5 - 1	257,250
Mean	257,250
Standard Deviation	,00000
6 - 1	105,750
Mean	105,750
Standard Deviation	,00000
7 - 1	73,0625
Mean	73,0625
Standard Deviation	,00000
8 - 1	171,094
Mean	171,094
Standard Deviation	,00000
9 - 1	301,781
Mean	301,781
Standard Deviation	,00000
10 - 1	139,625
Mean	139,625

Standard Deviation	.00000
11 - 1	267,375
Mean	267,375
Standard Deviation	.00000
12 - 1	257,375
Mean	257,375
Standard Deviation	.00000
13 - 1	291,781
Mean	291,781
Standard Deviation	.00000
14 - 1	285,094
Mean	285,094
Standard Deviation	.00000
Total Mean	244,701
Total Standard Deviation	94.7079



Comment

G5 e G6 - Compressão

Shape: Area

Units	Area mm2	Height mm
1 - 1	3,0000	10,0000
2 - 1	3,0000	10,0000
3 - 1	3,0000	10,0000
4 - 1	3,0000	10,0000
5 - 1	3,0000	10,0000
6 - 1	3,0000	10,0000
7 - 1	3,0000	10,0000
8 - 1	3,0000	10,0000
9 - 1	3,0000	10,0000
10 - 1	3,0000	10,0000
11 - 1	3,0000	10,0000
12 - 1	3,0000	10,0000
13 - 1	3,0000	10,0000
14 - 1	3,0000	10,0000
15 - 1	3,0000	10,0000

Name	Max Force
Units	N
1 - 1	91,8125
Mean	91,8125
Standard Deviation	,00000
2 - 1	220,719
Mean	220,719
Standard Deviation	,00000
3 - 1	87,2188
Mean	87,2188
Standard Deviation	,00000
4 - 1	278,938
Mean	278,938
Standard Deviation	,00000
5 - 1	193,594
Mean	193,594
Standard Deviation	,00000
6 - 1	120,344
Mean	120,344
Standard Deviation	,00000
7 - 1	274,750
Mean	274,750
Standard Deviation	,00000
8 - 1	338,563
Mean	338,563
Standard Deviation	,00000
9 - 1	281,406
Mean	281,406
Standard Deviation	,00000
10 - 1	99,0000

ANEXO D

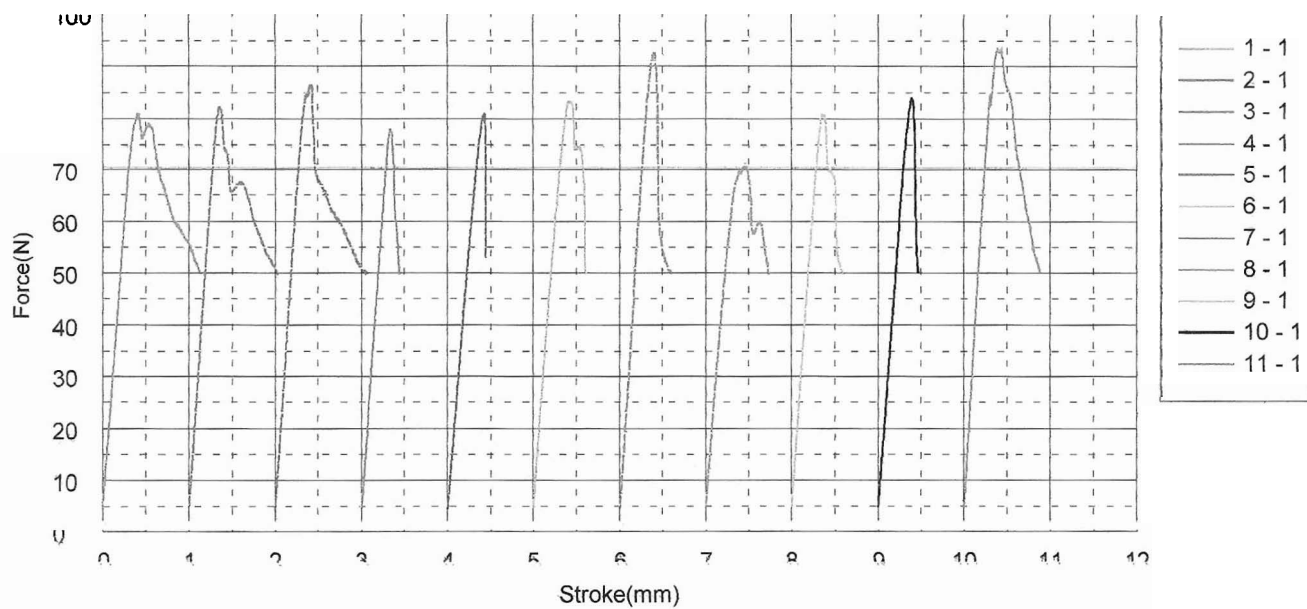
G1 e G2

Shape: Rod

Units	Diameter mm	Lower Support mm
1 - 1	3,0000	21,7000
2 - 1	2,8000	21,7000
3 - 1	3,0000	21,7000
4 - 1	2,8000	21,7000
5 - 1	2,0000	21,7000
6 - 1	2,7000	21,7000
7 - 1	2,7000	21,7000
8 - 1	2,5000	21,7000
9 - 1	2,7000	21,7000
10 - 1	3,0000	21,7000
11 - 1	2,0000	21,7000

Name	Max Force N	Max Displ mm
Units		
1 - 1	81,4688	,40300
Mean	81,4688	,40300
Standard Deviation	,00000	,00000
2 - 1	82,7188	,35700
Mean	82,7188	,35700
Standard Deviation	,00000	,00000
3 - 1	87,0938	,41800
Mean	87,0938	,41800
Standard Deviation	,00000	,00000
4 - 1	78,3750	,33800
Mean	78,3750	,33800
Standard Deviation	,00000	,00000
5 - 1	81,5313	,42400
Mean	81,5313	,42400
Standard Deviation	,00000	,00000
6 - 1	83,7500	,40700
Mean	83,7500	,40700
Standard Deviation	,00000	,00000
7 - 1	92,8750	,40500
Mean	92,8750	,40500
Standard Deviation	,00000	,00000
8 - 1	71,4375	,45300
Mean	71,4375	,45300
Standard Deviation	,00000	,00000
9 - 1	81,1875	,35150
Mean	81,1875	,35150
Standard Deviation	,00000	,00000
10 - 1	84,1875	,39800
Mean	84,1875	,39800
Standard Deviation	,00000	,00000
11 - 1	93,9375	,43400

Mean	93,9375	,43400
Standard Deviation	,00000	,00000
Total Mean	83,5057	,39895
Total Standard Deviation	6,29294	,03604



Comment

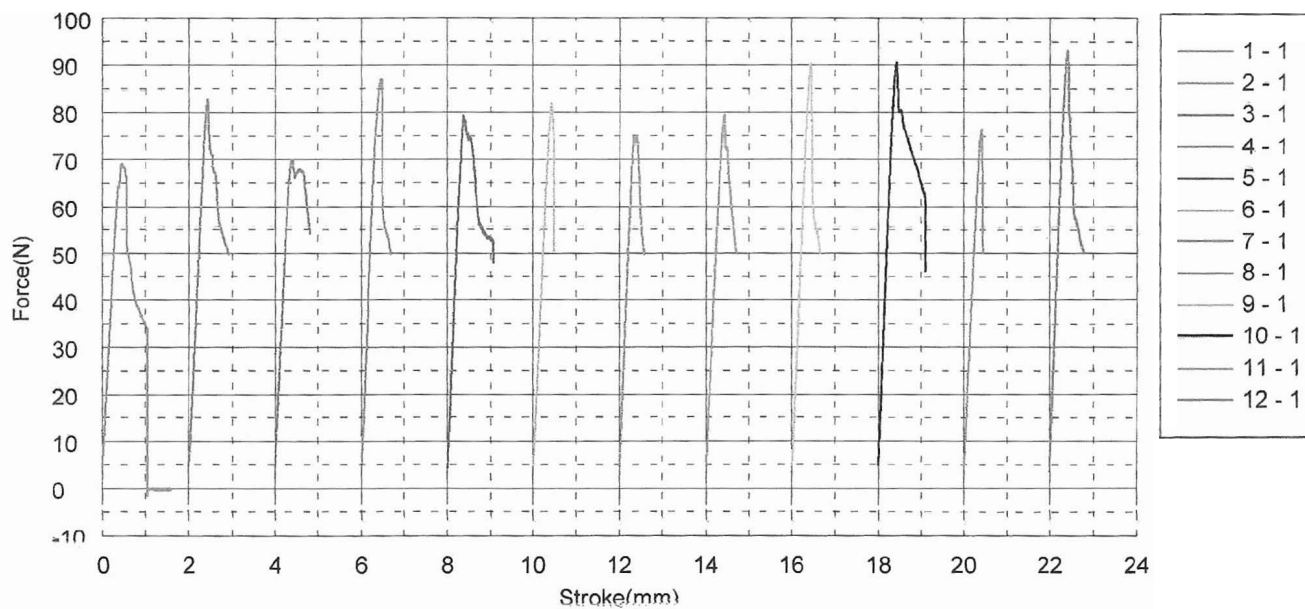
G3 e G4

Shape: Rod

Units	Diameter mm	Lower Support mm
1 - 1	2,7000	21,7000
2 - 1	3,0000	21,7000
3 - 1	2,8000	21,7000
4 - 1	3,0000	21,7000
5 - 1	2,8000	21,7000
6 - 1	2,7000	21,7000
7 - 1	3,2000	21,7000
8 - 1	3,0000	21,7000
9 - 1	3,0000	21,7000
10 - 1	3,0000	21,7000
11 - 1	3,0000	21,7000
12 - 1	2,8000	21,7000

Name	Max_Force N	Max_Disp mm
1 - 1	73,0625	,41750
Mean	73,0625	,41750
Standard Deviation	,00000	,00000
2 - 1	84,1250	,40000
Mean	84,1250	,40000
Standard Deviation	,00000	,00000
3 - 1	81,3438	,43800
Mean	81,3438	,43800
Standard Deviation	,00000	,00000
4 - 1	83,0313	,40200
Mean	83,0313	,40200
Standard Deviation	,00000	,00000
5 - 1	85,0313	,45600
Mean	85,0313	,45600
Standard Deviation	,00000	,00000
6 - 1	81,0938	,35700
Mean	81,0938	,35700
Standard Deviation	,00000	,00000
7 - 1	93,6563	,54000
Mean	93,6563	,54000
Standard Deviation	,00000	,00000
8 - 1	86,2500	,40700
Mean	86,2500	,40700
Standard Deviation	,00000	,00000
9 - 1	70,9688	,38700
Mean	70,9688	,38700
Standard Deviation	,00000	,00000
10 - 1	79,5313	,47300
Mean	79,5313	,47300
Standard Deviation	,00000	,00000

11 - 1	76,7188	,40600
Mean	76,7188	,40600
Standard Deviation	,00000	,00000
12 - 1	93,4063	,41350
Mean	93,4063	,41350
Standard Deviation	,00000	,00000
Total Mean	81,6355	,41713
Total Standard Deviation	7,66733	,03311

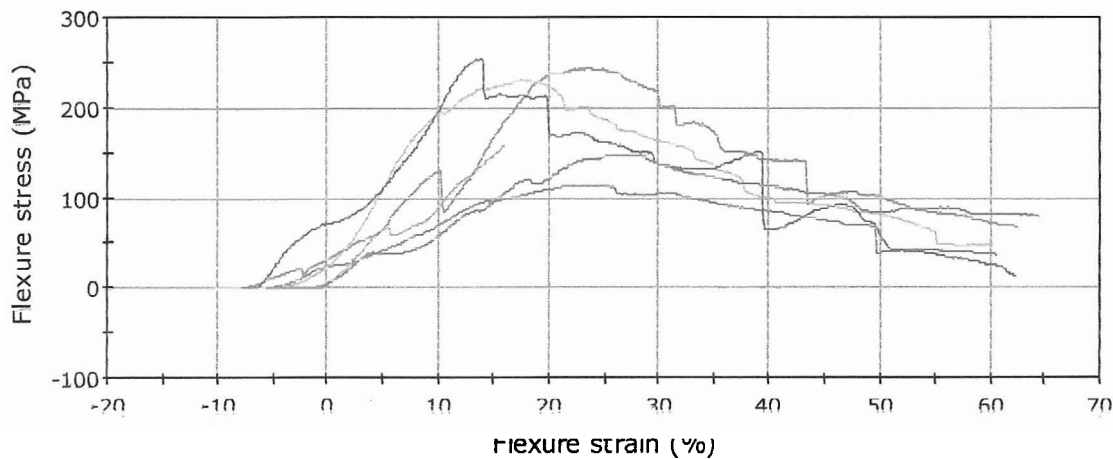


Comment

ANEXO E

Instituição	Instituto de Macromoléculas/UFRJ
Lab.	LAPTEC
Data do teste	02/10/06
Operador	Victor Pita
Temperatura	23
Umidade	50%
Nome	G1 Controle
Span	6.00000 mm
Diametro	2.00000 mm

Flexão 3 pontos



	Maximum Flexure stress (MPa)	Max. Flex Strain (%)	Modulus of Elasticity (MPa)	Load at Maximum Flexure stress (N)
1	243.97258	62.58	1776.94	-127.74
2	114.28523	60.49	-----	-131.47
3	159.45198	16.04	-----	-83.49
4	230.31285	60.15	-----	-120.59
5	254.96718	62.35	-----	-133.50
6	148.10422	64.36	1032.38	-103.22
Mean	191.84901	54.33	1404.66	-116.67
Standard Deviation	58.58251	18.81893	526.48515	19.60744
Minimum	114.28523	16.04	1032.38	-133.50
Maximum	254.96718	64.36	1776.94	-83.49
Range	140.68195	48.32	744.56	50.01

	Extension at Maximum Flexure stress (mm)	Flexural Strength (MPa)	Flexure strain at Break (Standard) (mm/mm)	Energy at Break (Standard) (J)
1	-0.94	68.31	0.62535	0.13729
2	-0.73	37.31	0.60345	0.12321
3	-2.11	159.45	0.16045	0.02013
4	-0.84	48.00	0.60152	0.12685

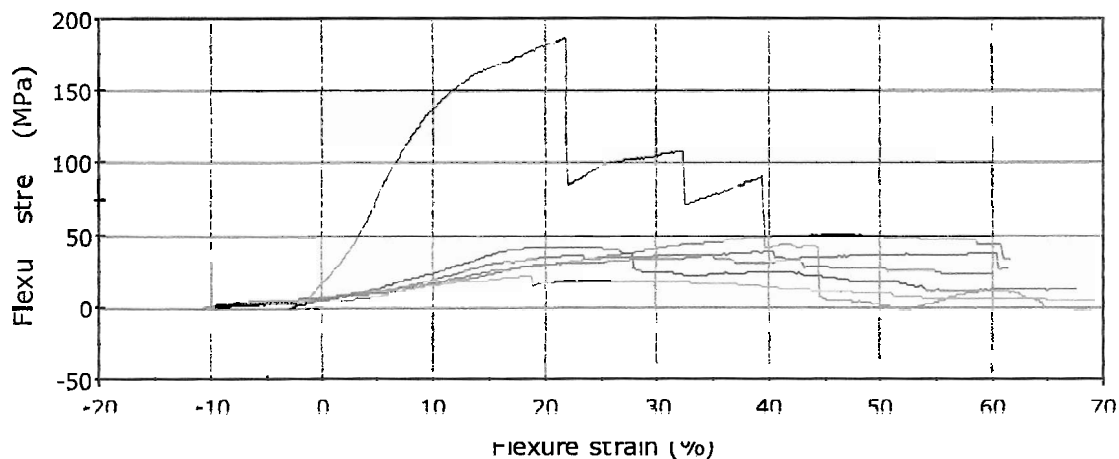
	Extension at Maximum Flexure stress (mm)	Flexural Strength (MPa)	Flexure strain at Break (Standard) (mm/mm)	Energy at Break (Standard) (J)
5	-0.65	13.30	0.62295	0.12324
6	-0.88	80.99	0.64362	0.11761
Mean	-1.02	67.89	0.54289	0.10805
Standard Deviation	0.54168	50.72780	0.18800	0.04357
Minimum	-2.11	13.30	0.16045	0.02013
Maximum	-0.65	159.45	0.64362	0.13729
Range	1.46	146.15	0.48317	0.11717

G3R1

Flexão de Mandíbula (3 pt)

Instituição	Instituto de Macromoléculas/UFRJ
Lab.	LAPTEC
Data do teste	02/10/06
Operador	Victor Pita
Temperatura	23
Umidade	50%
Nome	G1 Controle
Span	5.00002 mm
Diametro	2.00000 mm

Flexão 3 pontos



	Maximum Flexure stress (MPa)	Max. Flex Strain (%)	Load at Maximum Flexure stress (N)	Extension at Maximum Flexure stress (mm)
1	50.56641	61.63	-107.23	-0.78
2	39.28421	61.47	-83.30	-0.69
3	186.28654	68.89	-117.05	-0.49
4	22.05142	69.50	-42.24	-0.28
5	42.23004	67.46	-65.28	-0.37
6	36.97278	59.89	-95.15	-0.44
Mean	62.89857	64.81	-85.04	-0.51
Standard Deviation	61.15903	4.26994	27.72832	0.19180
Minimum	22.05142	59.89	-117.05	-0.78
Maximum	186.28654	69.50	-42.24	-0.28
Range	164.23512	9.62	74.81	0.50

	Flexure stress at Break (Standard) (MPa)	Flexure strain at Break (Standard) (mm/mm)	Modulus (Automatic) (MPa)
1	33.29254	0.61540	155.48501
2	26.90815	0.61465	167.64668
3	-2.19544	0.68783	1530.09642
4	5.35369	0.69456	161.97965

	Flexure stress at Break (Standard) (MPa)	Flexure strain at Break (Standard) (mm/mm)	Modulus (Automatic) (MPa)
5	12.56794	0.67456	242.31701
6	22.96929	0.59873	192.90080
Mean	16.48269	0.64762	408.40426
Standard Deviation	13.57490	0.04257	550.43210
Minimum	-2.19544	0.59873	155.48501
Maximum	33.29254	0.69456	1530.09642
Range	35.48798	0.09583	1374.61141

		Flexure stress at Break (Standard) (MPa)	Flexure strain at Break (Standard) (mm/mm)	Modulus (Automatic) (MPa)
	5	12.56794	0.67456	242.31701
	6	22.96929	0.59873	192.90080
Mean		16.48269	0.64762	408.40426
Standard		13.57490	0.04257	550.43210
Deviation				
Minimum		-2.19544	0.59873	155.48501
Maximum		33.29254	0.69456	1530.09642
Range		35.48798	0.09583	1374.61141

	Extension at Maximum Flexure stress (mm)	Flexural Strength (MPa)	Flexure strain at Break (Standard) (mm/mm)	Energy at Break (Standard) (J)
3	-1.51	206.13	0.12544	0.02389
4	-0.70	74.21	0.37312	0.07378
5	-0.80	20.20	0.38194	0.05243
6	-1.42	231.10	0.41346	0.11139
7	-1.02	28.53	0.51982	0.07829
8	-0.50	20.69	0.64280	0.07791
Mean	-0.96	95.06	0.36748	0.06475
Standard Deviation	0.37254	81.98696	0.19176	0.03530
Minimum	-1.51	20.20	0.06027	0.00621
Maximum	-0.50	231.10	0.64280	0.11139
Range	1.01	210.90	0.58253	0.10518