

**Ana Cristina Ferreira Bassit**

**Ação de fração do hormônio paratireóideo no  
metabolismo ósseo: estudo experimental em ratos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
Título de Doutor em Ciências.

Programa de: Ortopedia e Traumatologia

Orientador: Prof. Olavo Pires de Camargo

**SÃO PAULO**

**2010**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Bassit, Ana Cristina Ferreira

Ação de fração do hormônio paratireóideo no metabolismo ósseo : estudo experimental em ratos / Ana Cristina Ferreira Bassit. -- São Paulo, 2010.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Ortopedia e Traumatologia.

Orientador: Olavo Pires de Camargo.

Descritores: 1.Hormônio do crescimento 2.Fator de crescimento insulín-like I  
3.Osso e ossos/metabolismo 4.Osteogênese 5.Ratos

USP/FM/DBD-473/10

## **Dedicatória**

Aos meus filhos,  
Rodrigo e Ricardo

## Sumário

### Resumo

### Summary

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b>	7
<b>3 METODOS</b>	16
3.1 Desenho experimental	17
3.2 Modelo animal	18
3.3 Grupos experimentais	19
3.4 Tratamentos	20
3.4.1 Tratamento placebo	20
3.4.2 Tratamento com PTH	21
3.4.3 Marcadores histológicos	22
3.5 Eutanásia	22
3.6 Exame necroscópico e anatomopatológico	23
3.6.1 Distribuição de tecidos e amostras por ocasião da necropsia	23
3.7 Avaliação das amostras	24
3.7.1 Avaliação do peso corpóreo e comprimento femoral	24
3.7.2 Tomografia óssea quantitativa periférica computadorizada (pQCT)	25
3.7.3 Análise histomorfométrica	26
3.7.3.1 Vértebras lombares	27
3.7.3.2 Tibias	29
3.7.4 Dosagem sérica de IGF-I	31
3.8 Critérios de exclusão	32
3.9 Análise estatística	32
<b>4 RESULTADOS</b>	33
4.1 Avaliação do peso corpóreo e comprimento femoral	34
4.2 Tomografia óssea quantitativa periférica computadorizada (pQCT)	36
4.3 Análise histomorfométrica	46
4.4 Dosagem sérica de IGF-I	55

<b>5 DISCUSSÃO</b>	<b>58</b>
<b>6 CONCLUSÕES</b>	<b>66</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICA</b>	<b>68</b>

## RESUMO

BASSIT, A.C.F. **Ação de fração do hormônio paratireóideo no metabolismo ósseo: estudo experimental em ratos** [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2010.

O hormônio da paratireóide (PTH) tem sido utilizado como um agente anabólico ósseo para o tratamento de condições de osteopenia / osteoporose, prevenção e consolidação de fraturas. O papel do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I), como um potencial mediador dos efeitos anabólicos do PTH, é controverso. O rato dwarf pode ser adequado para o estudo dessas interações *in vivo*, uma vez que a os níveis séricos de hormônio do crescimento (GH) encontram-se reduzidos a cerca de 6% dos valores normais em fêmeas e os níveis séricos de IGF-I, a cerca de 10% dos valores normais, mas estes animais são saudáveis e sem malformações esqueléticas. Os objetivos deste estudo foram: 1 - Avaliar o rato dwarf ( $dw/dw$ ) como um modelo animal para o estudo dos efeitos da deficiência do GH e do IGF-I sobre o esqueleto e o metabolismo ósseo; 2 - Comparar os efeitos do tratamento com PTH sobre o esqueleto e formação óssea em ratos dwarf e em ratos Lewis, sua linhagem de origem. A partir de 9 semanas de idade, ratas Lewis e dwarf receberam injeções por via subcutânea, diariamente, por duas semanas, com medicamento placebo ou fragmento de hormônio paratireóideo humano, hPTH 1-34, na dose de 50  $\mu\text{g}$  / kg de peso corpóreo (N = 7-13/grupo). Foram

realizadas avaliações do peso corpóreo semanalmente e, por ocasião da eutanásia, na 11<sup>a</sup> semana, foram coletadas amostras de sangue para realização de dosagens séricas de IGF-I (ELISA). As vértebras lombares e as metáfises proximais das tíbias foram avaliadas por meio de histomorfometria óssea. Os fêmures direitos foram mensurados e analisados por tomografia quantitativa periférica computadorizada (pQCT). Os níveis séricos de IGF-I mostraram-se três vezes menores nas ratas dwarf quando comparados aos observados nas ratas Lewis, a despeito do tratamento com PTH, que não provocou aumento de IGF-I em nenhum dos dois grupos. No entanto, o PTH aumentou significativamente o volume ósseo trabecular em ambos os grupos, dwarf ( $p < 0.003$ ) e Lewis ( $p < 0.0001$ ) comparados aos seus respectivos grupos controle, efeito associado ao aumento da espessura e da distância trabeculares. As ratas dwarf tratadas com PTH também exibiram aumentos de 7 a 13 vezes na superfície de mineralização e na taxa de formação óssea respectivamente, quando comparadas às ratas dwarf tratadas com placebo, enquanto as ratas Lewis tratadas com PTH mostraram aumentos de 3 e 4 vezes quando comparadas as ratas Lewis tratadas com placebo. A taxa de aposição mineral, indicativa de atividade osteoblástica, estava aumentada nas ratas dwarf e Lewis tratadas com PTH ( $p < 0.0001$ ) comparadas aos seus respectivos grupos controle. As análises pela pQCT das metáfises femorais distais revelaram que todos os parâmetros estruturais do osso trabecular (BMC total, BMD total, BMC trabecular e BMD trabecular) também apresentaram valores significativamente aumentados nas ratas, Lewis e dwarf, tratadas com

PTH, quando comparadas às ratas tratadas com placebo ( $p < 0.0001$ ). Ao se considerar os parâmetros para o osso cortical, praticamente todos os valores obtidos nas diáfises femorais (BMC total, BMD total, BMC cortical, BMD cortical, área cortical, espessura cortical, circunferência periosteal e endosteal) não mostraram qualquer efeito do tratamento com PTH nos dois grupos. Em conclusão, o PTH induziu efeitos anabólicos altamente significativos no tecido ósseo trabecular das tíbias e vértebras lombares, a despeito dos baixos níveis circulantes de IGF-I em animais da linhagem dwarf. A resposta positiva ao tratamento com PTH confirma a sua utilização terapêutica como potente agente anabólico ósseo mesmo em face à deficiência no eixo GH/IGF-I.



## SUMMARY

BASSIT, A.C.F. **Effect of human parathyroid hormone fragment on bone metabolism: experimental study in rats** [thesis]. São Paulo: University of São Paulo, College of Medicine, 2010.

The parathyroid hormone (PTH) has been used as a bone anabolic agent to treat osteopenic/osteoporotic conditions, prevention and healing of fractures. The role of insulin-like growth factor I (IGF-I) as a potential mediator for the bone anabolic effects of PTH is controversial. The dwarf rat (*dw<sup>-</sup>/dw<sup>-</sup>*) may be suitable to study these interactions *in vivo*, since GH synthesis is selectively reduced to about 6% of normal in females, and serum IGF-I levels are about 10% of normal, but these animals are healthy without skeletal malformations. The objectives of this study were: 1- Evaluate the dwarf rat (*dw<sup>-</sup>/dw<sup>-</sup>*) as an animal model for studies of the effects of GH and IGF-I deficiency on the skeleton and bone metabolism; 2- Compare the skeletal effects of PTH treatment in dwarf rats and their background strain, Lewis rats. At 9 weeks of age, female Lewis and dwarf rats were injected SC daily for 2 weeks with vehicle or human parathyroid hormone fragment, hPTH 1-34, at a dose of 50 µg/kg body weight (N=7-13/group). The body weight was evaluated weekly and at the time of euthanasia, at 11 weeks, blood samples were collected. Serum IGF-I was

measured by ELISA, and cancellous bone histomorphometry was performed in the lumbar vertebral body and tibial proximal metaphysis. The right femurs were measured, scanned and analyzed by peripheral quantitative computed tomography (pQCT). Serum levels of IGF-I were nearly 3-fold lower in dwarf rats compared with Lewis rats regardless of treatment, but PTH treatment did not increase serum IGF-I in either Lewis or dwarf rats. However, PTH significantly increased cancellous bone volume in both dwarf ( $P<0.003$ ) and Lewis rats ( $P<0.0001$ ) when compared to vehicle-treated rats, which was associated with increased trabecular width and decreased trabecular separation. PTH-treated dwarf rats also exhibited 7- and 13-fold increases in mineralizing surface and bone formation rate respectively, compared to vehicle-treated dwarf rats, while PTH-treated Lewis rats showed 3- and 4-fold increases when compared to vehicle-treated Lewis rats. Mineral apposition rate, an index of osteoblast activity, was increased in PTH-treated dwarf rats ( $P<0.0001$ ) and in Lewis rats ( $P<0.0001$ ) compared to their respective control groups. The pQCT analyses of the distal femoral metaphysis revealed that cancellous bone structural parameters (total BMC, total BMD, trabecular BMC, and trabecular BMD) also presented significantly higher values in PTH-treated dwarf and Lewis rats, when compared to vehicle treated rats ( $P<0.0001$ ). When considering cortical bone parameters, almost all the values obtained at the femoral shafts (total BMC, total BMD, cortical BMC, cortical area, cortical thickness, periosteal and endocortical circumferences) did not show any PTH treatment effect in either groups. In conclusion, PTH induced highly significant anabolic effects in vertebral and tibial

## Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

