



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA**



**Leidys Rodríguez Perdomo**

**Título: Avaliação de diferentes modelos experimentais para análise da regeneração óssea.**

**UBERLÂNDIA**

**2021**

**Leidys Rodríguez Perdomo**

**Título: Avaliação de diferentes modelos experimentais para análise da regeneração óssea.**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos para obtenção da Revalidação do título de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira.

**UBERLÂNDIA  
2021**

**Leidys Rodríguez Perdomo**

**Avaliação de diferentes modelos experimentais para análise da regeneração óssea.**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos para obtenção da Revalidação do título de Bacharel em Odontologia. Sobre orientação do Prof. Dr. Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira.

Aprovado o \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira. - Orientador.

---

Prof.<sup>a</sup> Ma. Laís Rani Sales Oliveira. - Convidada.

---

Prof.<sup>a</sup> Germana de Villa Camargos. - Convidada.

## **AGRADECIMENTOS.**

A Deus, em primeiro lugar, que nunca me a deixado desamparada em esta longa caminhada.

A meu filho Nelson Alejandro por ser o motor impulsor da minha vida.

A meu esposo pela paciência, carinho e compreensão. Por estar sempre presente em todos meus novos começos e me alentar a continuar.

A meu orientador Prof. Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira, pelo maravilhoso trabalho que faz e por fazer o possível acontecer.

A meus amigos os novos e os velhos, os que estão presentes e aqueles que já não estão, mais sempre vamos a recordar.

A minha família mesmo longe mais sempre perto por não me deixar desistir.

Agradeço imensamente ao grupo de pesquisa pelo maravilhoso trabalho que fazem.

E não por último menos importante a Banca examinadora pela disponibilidade.

***"Sonhos determinam o que você quer.  
Ação determina o que você conquista."  
Aldo Novak.***

## RESUMO

Esse estudo foi executado para comparar dois modelos pré-clínicos em ratos (Defeitos críticos em calvária e regeneração óssea guiada em mandíbulas) utilizados para avaliação de reparo ósseo em áreas enxertadas por meio de análise histomorfométrica. Dez ratos foram utilizados para avaliar o reparo de áreas enxertadas com osso bovino desproteínizado, sendo que 5 ratos foram submetidos a confecção de defeitos críticos em calvárias (5 mm) e 5 ratos foram submetidos a acesso do ramo da mandíbula onde foi instalado uma membrana de teflon em forma de domo que foi preenchido com o substituto ósseo que foi mantido em contato com o osso. Após 60 dias os animais foram eutanasiados e as amostras obtidas foram submetidas a análise histomorfométrica onde foram avaliados a quantidade relativa de osso, remanescente de substituto ósseo e tecido mole dentro das áreas enxertadas. Foi verificado que não houve diferenças entre os modelos pré-clínicos testados em relação a quantidade de formação de tecido ósseo ( $19.93 \pm 4.55\%$  em calvária vs.  $21.00 \pm 8.20\%$  em mandíbula). Entretanto, foi verificado uma menor quantidade de tecidos moles ( $43.20 \pm 10.97\%$  vs.  $57.79 \pm 7.61\%$  -  $p < 0.01$ ) e uma maior quantidade de remanescente de substituto ósseo ( $35.80 \pm 5.52\%$  vs.  $22.28 \pm 4.36\%$  -  $p < 0.05$ ) nas áreas enxertadas na mandíbula do que nos defeitos críticos em calvária. Os modelos pré-clínicos para análise de reparo ósseo em áreas enxertadas em mandíbula e de defeitos críticos em calvária apresentam respostas diferentes em relação a quantidade de tecidos mole e de remanescentes de substitutos ósseos.

**Palavras-Chaves:** Enxerto ósseo, histologia, tomografia

## ABSTRACT

This study was carried out to compare two preclinical models in rats (Critical sized calvaria defects and guided bone regeneration in mandibles) used to assess bone repair in grafted areas by means of histomorphometric analysis. Ten rats were used to evaluate the repair of areas grafted with deproteinized bovine bone, 5 rats were submitted to critical defects calvaria defects (5 mmØ) and 5 rats were submitted to access to the mandibular branch where a teflon-dome shaped membrane was filled with the bone substitute and place on the bone tissue. After 60 days, the animals were euthanized and the samples obtained were submitted to histomorphometric analysis, where the relative amount of bone, bone substitute and soft tissue within the grafted areas were evaluated. It was verified that there were no differences between the preclinical models tested in relation to the amount of bone tissue formation ( $19.93 \pm 4.55\%$  in calvaria vs.  $21.00 \pm 8.20\%$  in mandible). However, it was verified a smaller amount of soft tissue ( $43.20 \pm 10.97\%$  vs.  $57.79 \pm 7.61\%$  -  $p < 0.01$ ) and a greater amount of bone substitute remnant ( $35.80 \pm 5.52\%$  vs.  $22.28 \pm 4.36\%$  -  $p < 0.05$ ) in areas grafted on the mandible than in critical defects in calvaria. Preclinical models for analyzing bone repair in areas grafted on the mandible and critical defects in calvaria present different responses regarding the amount of soft tissue and bone substitute remnants.

**Keywords:** Bone graft, histology, tomography

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>10</b>
<b>3</b>	<b>HIPOTESES</b> .....	<b>11</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>12</b>
<b>4.1</b>	<b>Grupo</b> .....	<b>12</b>
<b>4.2</b>	<b>Procedimento cirúrgico</b> .....	<b>12</b>
<b>4.3</b>	<b>Análise histomorfométrica</b> .....	<b>14</b>
<b>4.4</b>	<b>Análise estatística</b> .....	<b>14</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>16</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>20</b>
	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>21</b>
	<b>ANEXO - Certificado da comissão de ética na utilização de animais</b> .....	<b>24</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é caracterizado pelo seu potencial de remodelação que é importante para manutenção de suas características biomecânicas e funcionais (Claes et al., 2012; Sculean et al., 2019). Alterações no processo de remodelação induzidas por lesões traumáticas, doenças infecciosas, ou tumores podem levar a formação de defeitos que ultrapassam a capacidade regenerativa do tecido ósseo resultados em perda e formação de defeitos ósseos (Grubor et al., 2015; Chang & Hanasono, 2016; Sculean et al., 2019). A ocorrência desses defeitos pode levar a formação de nichos que perpetuam o processo inflamatório, perda de função e comprometimento estético que podem comprometer a convivência social do seu portador (Chang & Hanasono, 2016; Sculean et al., 2019). Dessa forma, a busca por materiais ou associação de materiais que podem tratar os defeitos ósseos de forma previsível tem sido uma abordagem cada vez mais pesquisada pela comunidade científica (Bohner et al., 2020; Valtanen et al., 2021).

Embora existam muitos métodos de reconstrução óssea, todos eles têm indicações e limitações específicas (Busch et al., 2021). Enxertos ósseos ou biomateriais substitutos são comumente usados como estratégias terapêuticas para preencher defeitos ósseos e reconstruir grandes segmentos de defeitos ósseos (Busch et al., 2021; Valtanen et al., 2021). Dentre os materiais propostos para técnicas de reconstrução óssea, os autoenxertos são considerados o tratamento padrão ouro devido as suas propriedades biológicas, entretanto a utilização desse tipo de enxerto está associado a limitações tais como a morbidade da área doadora, hemorragias, aumento de tempo cirurgico e perda de volume de área enxertadas especialmente quando utilizado na forma particulada (Nkenke & Neukam, 2014). A fim de superar as limitações associadas a utilização do enxerto de osso autógeno, substitutos ósseos de outras origens (eg.xenoenxertos; enxertos sintéticos) tem sido constantemente aplicados ou desenvolvidos com intuito de permitir o reparo adequado das áreas enxertadas associados a técnicas de regeneração óssea guiada (Pang et al., 2017; Oh et al., 2019). O constante surgimento de novos substitutos ósseos requer que os mesmos sejam testados previamente a sua aplicação em seres humanos por meio de estudos pré-clínicos (Bigham-Sadegh & Oryan, 2015).

Os modelos animais para avaliação de regeneração óssea permitem a avaliação da biocompatibilidade e potencial regenerativo induzido por diferentes tipos de substitutos de tecido ósseo (Batoool et al., 2018). Entretanto, a miríade de tipos de defeitos ósseos associadas a sua localização, tamanho e fontes de células mesenquimais indiferenciadas tornam importante a escolha do tipo de modelo experimental que mais se aproxime com a aplicação clinica prevista

para o substituto ósseo em questão (Donos et al., 2015; Batoool et al., 2018). Dentre os modelos aplicados, os defeitos críticos em calvária são talvez o modelo experimental pré-clínico mais utilizado para avaliação dos substitutos ósseos (Spicer et al., 2012; Donos et al., 2015). Esse modelo é caracterizado pela confecção de um defeito circular com diâmetro suficiente para impedir a cicatrização espontânea do defeito de tal forma que o substituto ósseo é testado em uma condição biológica de cicatrização de difícil resolução (Spicer et al., 2012; Vajgel et al., 2014). Outro modelo experimental utilizado para análise de substitutos ósseos é a regeneração óssea guiada na face lateral da mandíbula na qual o substituto ósseo é acomodado sobre uma superfície óssea e isolada dos tecidos vizinhos por uma membrana, o que mimetiza uma condição clínica de regeneração óssea guiada comumente utilizada em Odontologia (Stavropoulos et al., 2015; Oliveira et al., 2018).

A caracterização do potencial desses modelos oferece informações úteis para previsão do que poderá ocorrer em tratamento de defeitos ósseos em seres humanos se faz necessária para entender que tipo de modelo experimental deve ser utilizado a depender da previsão de como o substituto ósseo deverá ser utilizado.

## **2 OBJETIVO GERAL.**

Comparar diferentes métodos de modelos pré-clínicos (Defeitos críticos em calvária e regeneração óssea guiada em mandíbulas de ratos).

### **Objetivo específico:**

- Definir a quantidade de osso neoformado, tecido mole e remanescente do substituto ósseo em ambos modelos.
- Avaliar sentido de formação óssea em ambos modelos.

### **3 HIPOTESES**

H0- Não existem diferenças no reparo ósseo em áreas enxertadas com osso bovino desproteinizado em modelo pré-clínico de defeito crítico na calvária e em modelos de preenchimento de domos de teflon em mandíbulas de ratos.

H1- Existem diferenças no reparo ósseo em áreas enxertadas com osso bovino desproteinizado em modelo pré-clínico de defeito crítico na calvária e em modelos de preenchimento de domos de teflon em mandíbulas de ratos.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo foi aprovado junto ao Comitê de ética de utilização de animais da Universidade Federal de Uberlândia - UFU, Faculdade de Odontologia de Uberlândia, Brasil (091/18). Para esse estudo foram utilizados 10 ratos (*Rattus norvegicus*, variação Wistar) com 3 meses de idade, com peso entre 250–300 g que foram mantidos em um ambiente com temperatura ( $21\pm 1^\circ\text{C}$ ), humidade (65-70%), e ciclos de luz (12 horas) controlado. Os animais foram alimentados com ração apropriada e foi oferecido água e ração ad libitum. Esse estudo foi conduzido de acordo com o protocolo ARRIVE para conduta de estudos pré-clínicos.

### 4.1 Grupo.

Os animais foram selecionados aleatoriamente e divididos em 2 grupos com 5 animais cada, que foram no período experimental de 60 dias após o procedimento cirúrgico. Cinco ratos foram submetidos a confecção de defeitos críticos em calvárias (5 mm) e 5 ratos foram submetidos a acesso do ramo da mandíbula onde foi instalado uma membrana de teflon em forma de domo que foi preenchido com o substituto ósseo que foi mantido em contato com o osso.

### 4.2 Procedimento cirúrgico.

Após uma semana de aclimação ao ambiente do biotério, os animais foram anestesiados por uma combinação de Quetamina com Xilazina, na proporção de 8mg/Kg de massa corporal (Cloridrato de Quetamina – Francotar – Virbac do Brasil Ind. Com. Ltda.) e 4mg/KG massa corporal (Cloridrato de Xilazina - Virbaxyl 2% - Virbac do Brasil Ind. E Com. Ltda.), respectivamente. Posteriormente, os animais foram submetidos à tricotomia na região massetérica e submandibular ou na calvária e foi realizada antissepsia do campo cirúrgico com gaze estéril, embebida em solução de povidine.

O procedimento de defeito em calvária foi iniciado por meio de acesso cirúrgico à porção posterior da calvária por uma incisão bicoronal cutânea e muscular, com aproximadamente 3cm de extensão, permitindo a exposição do tecido ósseo. Em seguida, os tecidos foram divulsionados até a exposição do perióstio, sendo este incisado e deslocado para expor o tecido ósseo. Foram então confeccionados um defeito crítico ósseo circular em um dos ossos parietais da calvária imediatamente após o vértice da sutura coronal do animal, com 5 mm de diâmetro e aproximadamente 1,5 mm de espessura, dada pela remoção total do tecido ósseo (Figura 1). Os defeitos foram confeccionados com auxílio de uma fresa trefina (3i – 3i implantes do Brasil) com 5 mm de diâmetro externo, montada em contra - ângulo (Anthogyr –

Injecta – Diadema, Brasil) com redução de 16:1, acoplado a um motor para instalação de implantes (BML 600 Plus Driller - CK Driller – Brasil), com 1500 rpm, sob irrigação constante com solução salina. Em seguida, as duas perfurações circulares foram marcadas a 2 mm da margem dos defeitos e preenchidas com guta-percha que serviram como guia para marcar a metade do defeito e orientar os cortes histológicos. Os defeitos foram preenchidos com osso bovino desproteínizado (Bio-Oss®, Geistlich AG, Wolhusen, Switzerland) (Figura 1). Em seguida, todos os defeitos foram recobertos com o perióstio, e suturados em planos, o perióstio com fio de sutura Vicryl 4.0 (Ethicon, Johnson Prod., São Paulo, SP, Brasil) e o tecido cutâneo com fio de seda 4.0 (Ethicon, Johnson Prod., São Paulo, SP, Brasil). Os animais foram medicados no período pós-operatório com uma dose única de pentabiótico (Pentabiótico veterinário pequeno porte, Zoetis Dodge, São Paulo, Brasil, Subcutâneo:0,03/g) e de cetoprofeno (Ketoflex; Mundo Animal, São Paulo, Brasil, IM: 0,03ml/g).

Em relação ao procedimento cirúrgico para o modelo de regeneração guiada em mandíbulas, incisões horizontais foram executadas na região inferior do ramo da mandíbula e foi descolado o tecido muscular e o perióstio para expor a face lateral do ramo ascendente da mandíbula dos animais. Quatro perfurações de 0.5mm de diâmetro foram executadas através de uma broca esférica. Essas perfurações foram paralelas a base da mandíbula e foram executadas a 6mm de distância uma da outra formando as arestas de um quadrado. Uma cápsula de teflon customizada no formato de um domo possuindo diâmetro externo de 5mm, altura de 2.5mm e colar periférico de 1mm foi inserida com sua porção aberta de encontro a face lateral da mandíbula, sendo que o espaço dessa cápsula foi preenchido com osso bovino desproteínizado (Bio-Oss®, Geistlich AG, Wolhusen, Switzerland), e a cápsula foi posteriormente fixada na mandíbula por meio de suturas com fio de seda 4.0 que transpassaram a própria cápsula e as perfurações executadas no ramo da mandíbula (Figura 1). Os tecidos moles foram reposicionados sobre a cápsula e suturado com fio vicryl 4.0. A medicação pós-operatória utilizada foi a mesma que o animais submetidos ao procedimento de defeito crítico em calvária.

Após o período de 60 dias após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram eutanaziados com uma sobredose de anestésico. As peças da região da calvária e de mandíbula foram obtidas e fixadas em paraformaldeído a 4% por 48 horas e foram descalcificadas por 8 semanas em solução de EDTA a 7%.

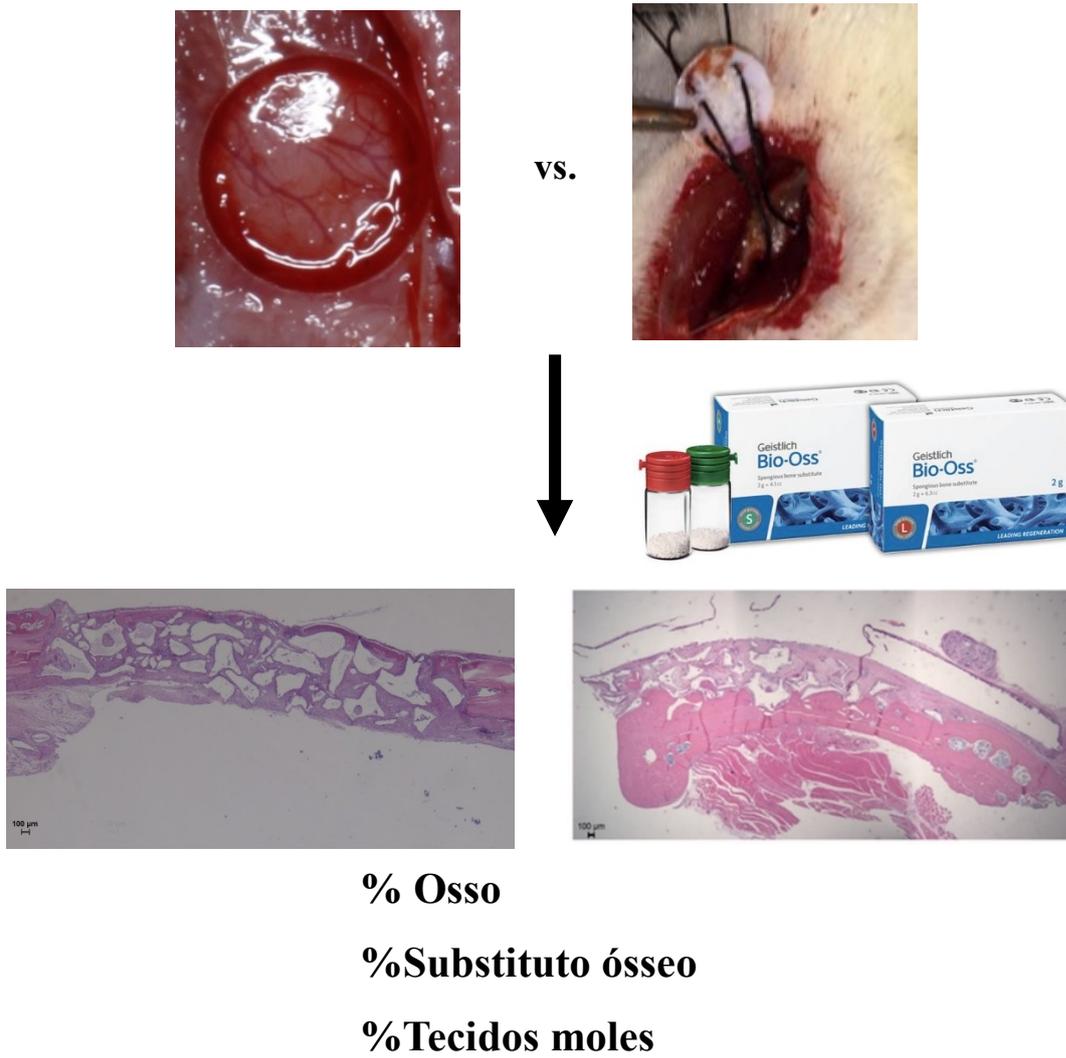
### **4.3 Análise histomorfométrica.**

A peças histológicas foram seccionadas na sua porção central com espessura de 5  $\mu\text{m}$  sendo posteriormente coradas por meio da técnica de hematoxilina e eosina. Três cortes foram utilizados para análise histométrica, sendo que o primeiro corte foi sorteado (proveniente da primeira ou da segunda lâmina) e o segundo selecionado que tal forma que distasse 40  $\mu\text{m}$  de distância do subsequente. As imagens foram fotografadas em um microscópio óptico DIASTAR (Leica Reichert & Jung products, Wetzlar, Germany), com objetiva para aumento de 25x, através do qual as imagens foram capturadas e enviadas para um microcomputador através de uma câmera (Leica Microsystems DFC-300-FX; Leica Reichert & Jung Products, Wetzlar, Germany). As mensurações foram feitas utilizando um software analisador de imagens (Image J, Jandel Scientific, San Rafael, CA, USA). Foi avaliado a composição do tecido reparado dentro dos defeitos (osso, remanescente de substituto ósseo e tecido mole) e esses valores foram fornecidos em % em relação a área total envolvida no procedimento de enxertia (Figura 1).

### **4.4 Análise estatística.**

Os dados da análise histométrica desse estudo se distribuíram de acordo com a normalidade tal como determinado pelo teste de Kolgomorov-Smirnov. O teste t-não pareado foi utilizado para comparar os dados histométricos provenientes das áreas enxertadas em defeitos críticos em calvarias ou na face lateral das mandíbulas dos ratos. O software Graphpad Prism 6 (San Diego, CA, USA) foi utilizado para a aplicados dos testes estatísticos. Todos os testes foram aplicados com nível de confiança de 95%.

**Figura 1** - Resumo dos modelos experimentais e análises executadas nesse estudo



Fonte: Autoria própria.

## 5 RESULTADOS

Os resultados desse estudo demonstraram que o modelo de avaliação pré-clínica de regeneração óssea guiada em mandíbula apresentou a mesma quantidade de osso neoformado do que o defeito crítico em calvária. Entretanto, o modelo de análise de regeneração óssea guiada em mandibular apresentou maior quantidade de substituto ósseo e menor quantidade de tecido mole do que o modelo de defeito crítico em calvária ( $p < 0.05$ ) (Tabela 1). Além disso foi percebido que houve uma diferença no sentido de formação óssea entre os modelos experimentais onde o osso neoformado se formou nas margens dos defeitos críticos em calvaria e na porção lateral associado ao ramo da mandíbula no modelo de regeneração óssea guiada (Figura 2).

**Tabela 1** - Média e desvio padrão dos dados da análise histomorfométrica em cada modelo experimental.

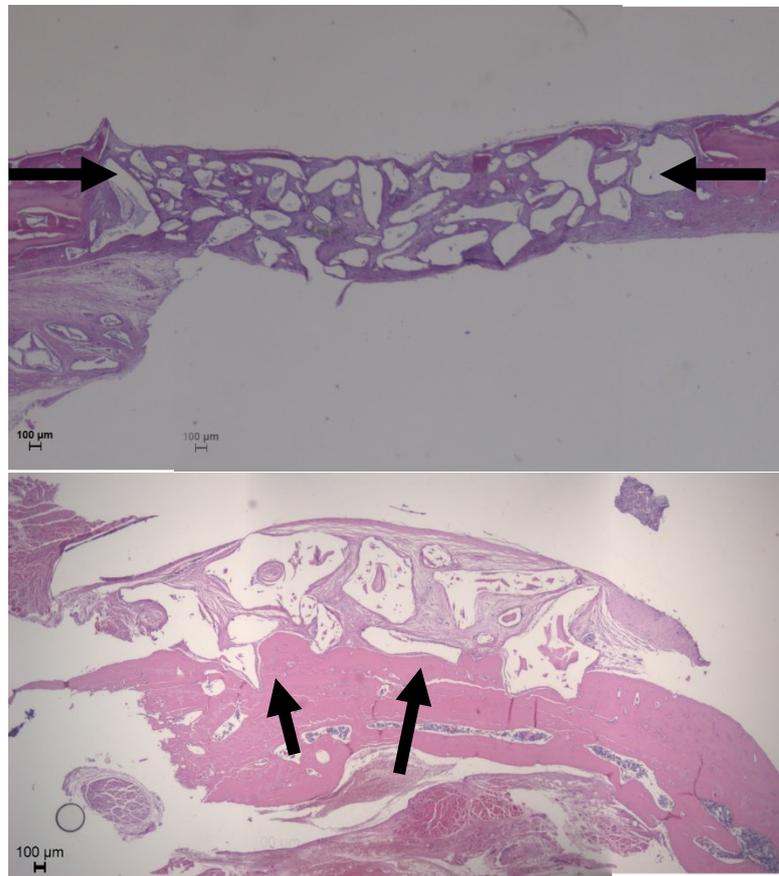
<b>Histometria%</b>	<b>Calvária</b>	<b>Mandíbula</b>
<b>Ossos</b>	19.93 ± 4.55	21.00 ± 8.20
<b>Substituto ósseo</b>	22.28 ± 4.36	35.80 ± 5.52*
<b>Tecido mole</b>	57.79 ± 7.61	43.20 ± 10.97#

Fonte: Autoria própria.

\* $p < 0.05$  - Maior quantidade de substituto ósseo do que o modelo de defeito crítico em calvária – Teste t-não pareado;

\* $p < 0.05$  - Menor quantidade de tecido mole do que o modelo de defeito crítico em calvária – Teste t-não pareado.

**Figura 2** - Imagens representativas dos cortes histológicos em modelos de defeito críticos em calvária e de regeneração óssea guiada em mandíbula. As setas negras mostram o sentido da formação óssea nesses modelos experimentais.



**Fonte:** autoria própria.

## 6 DISCUSSÃO

No presente estudo foi verificado que em forma geral os modelos testados para avaliação do potencial dos substitutos ósseos em técnicas de regeneração apresentam diferentes características. Apesar do osso neoformado não ter sido diferente entre os modelos testados, a localização de osso neoformado ocorreram em regiões distintas. Além disso, o modelo em calvária apresentou menor quantidade de remanescente de substituto ósseo e maior quantidade de tecidos moles do que o modelo de regeneração óssea guiada em mandíbula. Sendo nossa hipótese rejeitada.

A formação óssea entre os modelos experimentais não foi diferente, porém, ao se avaliar o sentido da formação óssea foi verificado que o osso neoformado no modelo de defeito crítico em calvaria se formou nas margens do defeito indo em direção ao centro do defeito enquanto que a formação de osso no modelo de regeneração na face lateral da mandíbula a formação de osso segue no sentido da face lateral da mandíbula ao topo da área enxertada. Esse padrão de formação de tecido ósseo já foi identificado em estudos pré-clínicos anteriores (Oliveira et al., 2018; Aroni et al., 2019) e isso ocorre porque o sentido de formação óssea ocorre onde existe reservatório de células mesenquimais indiferenciadas que são provenientes da medula óssea. Essa formação em regiões diferentes dos defeitos nos leva a crer que os diferentes modelos experimentais podem trazer informações relevantes para diferentes tipos de procedimentos clínicos.

Em Odontologia, os procedimentos de regeneração óssea guiada ocorrem com aplicação de substituto ósseo em contato com a superfície óssea isoladas dos defeitos por uma membrana (Chappuis et al., 2018; Benic et al., 2019), o que é bem distante do que ocorre no teste em defeitos críticos em calvaria onde o substituto ósseo repousa sobre o tecido cerebral, separado dos mesmos pelas meninges. Esse tipo de condição local oferecido pelo modelo de defeitos críticos em calvária pode gerar informações que podem limitar o entendimento de como o substituto ósseo poderá se comportar em uma situação clínica na qual o objetivo seja, por exemplo, a instalação de implante ou a regeneração de um defeito ósseo periodontal (Stavropoulos et al., 2015; Sculean et al., 2019)

Foi verificado que os modelos experimentais testados foram diferentes em relação a quantidade de tecido mole e de substitutos ósseos dentro da área enxertada, onde foi verificado que no modelo de defeito crítico de calvária houve maior quantidade de tecidos moles provavelmente devido ao fato dos substitutos ósseos serem revestidos por tecido mole especialmente no centro dos defeitos (Spicer et al., 2012; Vajgel et al., 2014; Aroni et al., 2019). Com a área de formação óssea em defeitos críticos em calvaria é menor em relação ao modelo

da mandíbula, e a distância das partículas de biomaterial no centro do defeito crítico é maior do que as partículas localizadas no topo da área enxertada em modelo de mandíbula, é provável que isso influencie na osteocondução dos materiais e que exista o desprendimento dos substitutos ósseos em defeitos críticos de calvária que acaba sendo ocupado por tecido mole.

O modelo da cavaria mostraria grande utilidade na avaliação inicial de novas terapias osteoindutivas, ou seja quando a intenção é de se avaliar um substituto ósseo que estimule formação de novo osso por estimular células mesenquimais a distância a se diferencias em osteoblastos (Fountain et al., 2016; Zeiter et al., 2020). Este modelo também mostra utilidade para estudar o comportamento e processo de regeneração óssea em defeitos críticos em humanos onde se esperasse que o substituto ósseo induza a cicatrização repousado acomodado sob tecido mole tal como fraturas de ossos longos onde houve perda de substância já que para a recuperação dessas lesões é necessário se colocar um anel de biomaterial revestido por perióstio mas que esperasse que boa parte da integração desse material ocorra nas margens do material tal como ocorre no modelo de defeito crítico em calvária.

O modelo da mandíbula mostra maior utilidade em casos onde a intenção da pesquisa seja de avaliar condições e características do processo de neoformação óssea em na correção de defeitos críticos na cavidade bucal, pois esse modelo apresenta maiores semelhanças com a forma pela qual os substitutos ósseos são utilizados na resolução de defeitos ósseos do sistema estomatognático de uma forma geral onde o biomaterial repousa sobre a paredes de tecido ósseo remanescente.

## **7 CONCLUSÃO**

Os modelos pré-clínicos para análise de reparo ósseo em áreas enxertadas em mandíbula e de defeitos críticos em calvária apresentam respostas diferentes em relação a quantidade de tecidos mole e de remanescentes de substitutos ósseos.

## REFERENCIAS

- ARONI, M.A.T *et al.* Loading deproteinized bovine bone with strontium enhances bone regeneration in rat calvarial critical size defects. **Clin Oral Investig** ., [s. l.], v. 23, ed. 4, p. 1605-1614, abr. 2019. DOI 10.1007/s00784-018-2588-6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30143902/>. Acesso em: 11 maio 2021.
- BATOOL, F. et al. Periodontal Tissues, Maxillary Jaw Bone, and Tooth Regeneration Approaches: From Animal Models Analyses to Clinical Applications. **Nanomaterials**, [s. l.], ano 2018, v. 8, ed. 337, p. 1-16, 16 maio 2018. DOI 10.3390/nano8050337. Disponível em: [www.mdpi.com/journal/nanomaterials](http://www.mdpi.com/journal/nanomaterials). Acesso em: 16 jul. 2021.
- BENIC, G.I *et al.* Hard tissue changes after guided bone regeneration of peri-implant defects comparing block versus particulate bone substitutes: 6-month results of a randomized controlled clinical trial. **Clin Oral Implants Res.**, [s. l.], v. 30, n. 10, p. 1016-1026, 30 out. 2019. DOI 10.1111/clr.13515. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31332835/>. Acesso em: 5 ago. 2021
- BIGHAM-SADEGH, A; ORYAN, A. Selection of animal models for pre-clinical strategies in evaluating the fracture healing, bone graft substitutes and bone tissue regeneration and engineering. **Connect Tissue Res**, [s. l.], v. 56, ed. 3, p. 175-194, 4 dez. 2015. DOI 10.3109/03008207.2015.1027341. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/03008207.2015.1027341>. Acesso em: 13 jul. 2021.
- BOHNER, M; SANTONI, B.L.G; DÖBELIN , N.  $\beta$ -tricalcium phosphate for bone substitution: Synthesis and properties. **Acta Biomater** ., [s. l.], v. 113, p. 23-41, 1 set. 2020. DOI 10.1016/j.actbio.2020.06.022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32565369/>. Acesso em: 5 jul. 2021.
- BUSCH , A *et al.* Bone Substitutes in Orthopaedic Surgery: Current Status and Future Perspectives. **Z Orthop Unfall**, [s. l.], v. 159, n. 3, p. 304-313, 1 jun. 2021. DOI 10.1055/a-1073-8473. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32023626/>. Acesso em: 11 ago. 2021.
- CHANG, E.I; HANASONO, M.M. State-of-the-art reconstruction of midface and facial deformities. **Journal of Surgical Oncology.**, [s. l.], v. 113, n. 8, p. 962-970, 25 maio 2016. DOI <https://doi.org/10.1002/jso.24150>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jso.24150>. Acesso em: 11 ago. 2021.
- CHAPPUIS, V. *et al.* Effectiveness of Contour Augmentation with Guided Bone Regeneration: 10-Year Results.. **J Dent Res** , [s. l.], v. 97, n. 3, p. 266-274, 1 mar. 2018. DOI 10.1177/0022034517737755. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29073362/>. Acesso em: 21 jul. 2021.
- CLAES, L.; RECKNAGEL , S.; IGNATIUS , A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. **Nat Rev Rheumatol**, [s. l.], v. 8, ed. 3, p. 133-143, 31 jan. 2012. DOI 10.1038/nrrheum.2012.1. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22293759/>. Acesso em: 15 jun. 2021.

DONOS, N.; DEREKA, X.; MARDAS, N. Experimental models for guided bone regeneration in healthy and medically compromised conditions. **Periodontol** 2000, [s. l.], ano 2015, n. 1, ed. 68, p. 99-121, 9 jun. 2015. DOI 10.1111/prd.12077. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25867982/>. Acesso em: 10 jul. 2021.

FOUNTAIN, S. *et al.* Monitoring Healing Progression and Characterizing the Mechanical Environment in Preclinical Models for Bone Tissue Engineering. **Tissue Engineering Part B**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 47-57, 3 dez. 2015. DOI <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2015.0123>. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ten.TEB.2015.0123>. Acesso em: 23 jul. 2021.

GRUBOR, P. *et al.* Treatment of Bone Defects in War Wounds: Retrospective Study. **Med Arh**, [s. l.], v. 69, n. 4, p. 260-264, 15 jul. 2015. DOI 10.5455/medarh.2015.69.260-264. Disponível em: <https://www.bibliomed.org/mnsfulltext/10/10-1438693090.pdf?1632270058>. Acesso em: 7 jun. 2021.

NKENKE, E; NEUKAM, F.W. Autogenous bone harvesting and grafting in advanced jaw resorption: morbidity, resorption and implant survival. **Eur J Oral Implantol**, [s. l.], v. 7, n. Suppl 2, p. 203-217, Summer. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24977256/>. Acesso em: 8 jul. 2021.

OH, J.s *et al.* A Comparative Study with Biphasic Calcium Phosphate to Deproteinized Bovine Bone in Maxillary Sinus Augmentation: A Prospective Randomized and Controlled Clinical Trial. **Int J Oral Maxillofac Implants**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 233–242, January/February. 2019. DOI 10.11607/jomi.7116. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30521656/>. Acesso em: 26 jul. 2021

OLIVEIRA, G.J.P.L *et al.* Effect of low-level laser therapy on the healing of sites grafted with coagulum, deproteinized bovine bone, and biphasic ceramic made of hydroxyapatite and  $\beta$ -tricalcium phosphate. In vivo study in rats. **Lasers Surg Med**, [s. l.], v. 50, n. 6, p. 651-660, 13 jan. 2018. DOI <https://doi.org/10.1002/lsm.22787>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/lsm.22787>. Acesso em: 13 jul. 2021.

PANG, K.M *et al.* Autogenous demineralized dentin matrix from extracted tooth for the augmentation of alveolar bone defect: a prospective randomized clinical trial in comparison with anorganic bovine bone. **Clin Oral Implants Res**., [s. l.], v. 28, n. 7, p. 809-815, jul. 2017. DOI 10.1111/clr.12885. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27279547/>. Acesso em: 10 ago. 2021.

SCULEAN, A; STAVROPOULOS, A; BOSSHARDT, D.D. Self-regenerative capacity of intra-oral bone defects. **J Clin Periodontol** . [s. l.], v. 46, n. Suppl 21, p. 70-81, 1 jun. 2019. DOI 10.1111/jcpe.13075. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30697789/>. Acesso em: 2 ago. 2021.

SPICER, P.P *et al.* Evaluation of bone regeneration using the rat critical size calvarial defect. **Nat Protoc** , [s. l.], v. 7, n. 10, p. 1918-1929, 1 out. 2012. DOI 10.1038/nprot.2012.113. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23018195/>. Acesso em: 11 ago. 2021.

STAVROPOULOS, A. *et al.* Pre-clinical in vivo models for the screening of bone biomaterials for oral/craniofacial indications: focus on small-animal models. **Periodontol 2000**, [s. l.], v. 68, n. 1, p. 55-65, 26 jun. 2021. DOI 10.1111/prd.12065. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25867979/>. Acesso em: 20 jul. 2021.

VAJGEL, A. *et al.* A systematic review on the critical size defect model. **Clin Oral Implants Res**, [s. l.], v. 25, n. 8, p. 879-93, 23 ago. 2014. DOI 10.1111/clr.12194. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23742162/>. Acesso em: 15 jul. 2021.

VALTANEN, R.S. *et al.* Synthetic and Bone tissue engineering graft substitutes: What is the future?. **Injury**, [s. l.], v. 52, n. 2, p. 72-77, 6 jun. 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.injury.2020.07.040>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020138320306215>. Acesso em: 23 ago. 2021

ZEITER, S. *et al.* Evaluation of Preclinical Models for the Testing of Bone Tissue-Engineered Constructs. **Tissue Eng Part C Methods**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 107-117, 5 fev. 2020. DOI 10.1089/ten.TEC.2019.0213. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31808374/>. Acesso em: 30 jul. 2021.

## ANEXO - Certificado da comissão de ética na utilização de animais



Universidade Federal de Uberlândia

– Comissão de Ética na Utilização de Animais –



### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Associação da laserterapia em baixa intensidade e das proteínas derivadas da matriz do esmalte com biomateriais osteocondutores: Estudo pré-clínico em ratos", protocolo nº 091/18, sob a responsabilidade de **Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADA pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião 23 de novembro de 2018.

(We certify that the project entitled intitulado "Associação da laserterapia em baixa intensidade e das proteínas derivadas da matriz do esmalte com biomateriais osteocondutores: Estudo pré-clínico em ratos", protocol 091/18, under the responsibility of Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of november 23th, 2018).

Vigência do Projeto	Início: 01/02/2019 Término: 30/12/2021
Espécie/Linhagem/Grupos Taxonômicos	Rato heterogênico/ Wistar
Número de animais	48
Peso/Idade	300g/ 18 semanas
Sexo	Macho
Origem/Local	Centro de Bioterismo e Experimentação Animal (CBEA) da Universidade Federal de Uberlândia
Local onde serão mantidos os animais:	Centro de Bioterismo e Experimentação Animal (CBEA) da Universidade Federal de Uberlândia

Uberlândia, 30 de novembro de 2018

**Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão**  
Coordenador da CEUA/UFU

Fonte: Autoria própria.