

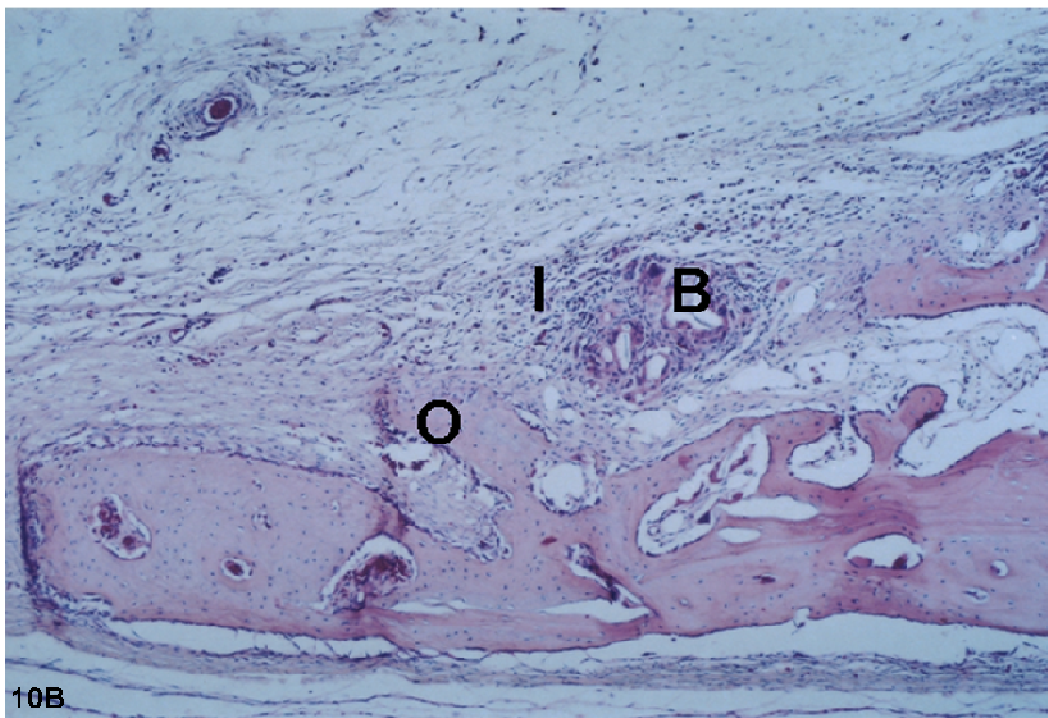


Figura 10B (medular): Área da lesão grupo medular observada em HE, evidenciando resíduos do biomaterial (**B**) associados a células gigantes de corpo estranho e infiltrado inflamatório (**I**) 77X.

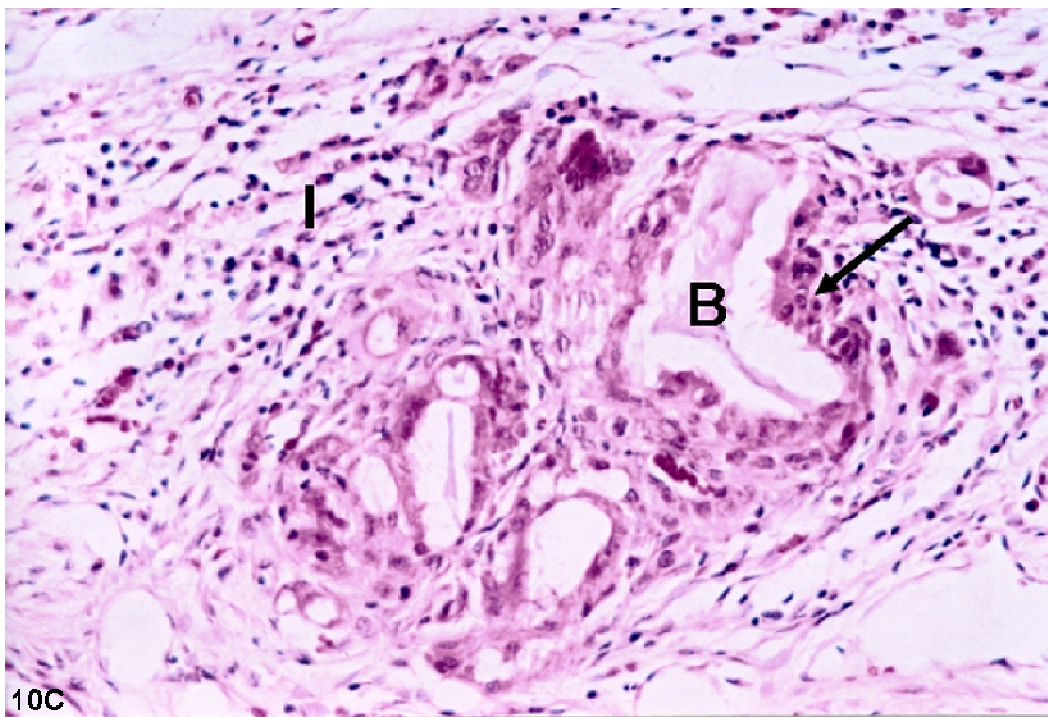


Figura 10C (medular): Detalhe grupo medular evidenciando resíduos do biomaterial (**B**) associado às células gigantes de corpo estranho (seta) e infiltrado inflamatório (**I**). HE 310X.

6. DISCUSSÃO

Neste estudo foi realizada análise histológica do reparo ósseo em coelhos, utilizando enxertos ósseos autógenos e de matriz orgânica bovina. Os coelhos são modelos experimentais que apresentam baixa morbidade, fácil acessibilidade à calvária, com reduzida interferência de forças musculares (Alberius *et al.*, 1990).

O processo de reparo ósseo em coelhos é cerca de três vezes mais rápido do que em seres humanos (Roberts *et al.*, 1987). Portanto, o período utilizado neste estudo corresponderia a 3 meses em humanos, período intermediário à cicatrização óssea de áreas enxertadas, onde são recomendados 6 meses para instalação de implantes osseointegrados (Tong & Buchman, 2000).

O substituto ósseo ideal deve permitir a regeneração óssea sendo completamente reabsorvido simultaneamente à formação de novo osso (Fonseca, 1997; Le Guéhennec *et al.*, 2004); bem como estar disponível em grande quantidade, apresentar ausência de resposta imunológica, risco zero de transmissão de doenças e baixo custo (Fonseca, 1997; Figueiredo *et al.*, 2004; Eppeley *et al.*, 2005).

O enxerto de osso autógeno é considerado “padrão ouro” para os casos de necessidade de enxertia óssea (Becker *et al.*, 1996; Fonseca, 1997; Nary & Ilg, 2001; Cury *et al.*, 2002; Eppeley *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2006). Entretanto, diversos tipos de enxertos como os homógenos, heterógenos e materiais aloplásticos têm sido testados como substitutos ósseos.

A matriz óssea bovina é muito utilizada como substituto ósseo, e apresenta grande aplicabilidade na prática clínica. O seu uso tem sido indicado na regeneração de defeitos periodontais (Mellonig, 2006), recobrimento de fenestrações em implantodontia (Hall *et al.*, 1999), elevação do seio maxilar (Xu *et al.*, 2003; Cammack *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2006), bem como no preenchimento de pequenos defeitos ósseos decorrentes de procedimentos cirúrgicos, traumas, infecções ou reabsorções que causam problemas estéticos

e funcionais (Okamoto *et al.*, 1994; Fonseca, 1997; Sicca *et al.*, 2000; Figueiredo *et al.*, 2004; Eppley *et al.*, 2005).

Estudos têm mostrado que a matriz óssea desmineralizada é biocompatível (Restrepo *et al.*, 1998; Braz *et al.*, 2003; Cammack *et al.*, 2005). Entretanto, Glowacki *et al.*, (1981); Pinholt *et al.*, (1992), observaram reação de corpo estranho associado a infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e célula gigante. Aspecto semelhante foi observado no presente trabalho, onde os poucos fragmentos de biomaterial restantes estavam circundados por células gigantes de corpo estranho e células inflamatórias.

Betti (2004) utilizando matriz orgânica desmineralizada considerou este biomaterial um espaçador biológico eficiente no período de 30 dias, apesar do grupo não enxertado (coágulo) ter apresentado o mesmo desempenho. No nosso estudo, a matriz orgânica também foi semelhante ao grupo coágulo indicando que o biomaterial não contribuiu significativamente com o reparo da lesão.

O grupo coágulo apresentou lâmina óssea delgada formada a partir das bordas do defeito, devido à ausência de algum componente estrutural que mantivesse a espessura original da calvária. Nos grupos enxertados com matriz bovina orgânica (cortical e medular) o mesmo foi observado, sugerindo que estes enxertos não funcionaram como componente estrutural, provavelmente devido à rápida reabsorção (Becker *et al.*, 1998).

O potencial osteocondutor observado por alguns estudos (Glowacki *et al.*, 1981; Becker *et al.*, 1996; Garcia, 1999; Betti, 2004; Silva *et al.*, 2006) não foi confirmado no presente trabalho, pois o biomaterial foi reabsorvido parcialmente antes de concluído o reparo do defeito. Igualmente, caso a matriz orgânica bovina possua propriedade osteoindutora, (Glowacki *et al.*, 1981; Isaksson & Alberius, 1992; Rabie & Lie Ken Jie, 1996), este fato pode não ter sido significativo devido à rápida reabsorção (Becker *et al.*, 1998).

A análise histológica revelou que nos grupos de enxerto bovino cortical e medular cerca de ¼ do defeito estava preenchido por tecido ósseo, formado a partir das bordas, e a maior parte região central estava ocupada por tecido conjuntivo fibroso. Partindo do pressuposto que ao final do reparo ósseo, quanto maior for a quantidade de tecido conjuntivo entremeado às partículas do biomaterial, menor é sua capacidade osteocondutora, os resultados

histológicos indicam que a reabsorção precoce do biomaterial reduziu significativamente o seu potencial osteocondutor.

No presente estudo não foi evidenciado diferenças de comportamento biológico entre os enxertos bovinos cortical ou medular. Este fato era esperado tendo em vista que, a despeito das diferenças entre osso cortical e medular *in vivo*, o enxerto bovino em estudo é constituído apenas do componente orgânico da matriz óssea bovina. Portanto, neste caso, independente da natureza cortical ou medular, a composição química dos enxertos é a mesma.

Segundo os resultados obtidos, a matriz óssea bovina cortical ou medular, não se mostrou um substituto ósseo ideal (Fonseca, 1997; Eppley *et al.*, 2005; Jensen *et al.*, 2006), pois foi reabsorvida precocemente não sendo acompanhada de neoformação óssea.

O estudo apresentado traz contribuição para o entendimento do reparo ósseo utilizando enxerto bovino orgânico. Este parece ser um campo de estudo bastante promissor, que certamente trará benefícios aos indivíduos que porventura necessitem procedimentos de reconstrução óssea.

7. CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia utilizada e com os resultados obtidos neste estudo foi possível concluir que o uso de osso bovino orgânico medular ou cortical, utilizado de forma isolada, não favoreceu o processo de reparo ósseo.

REFERÊNCIAS *

Alberius P, Isaksson S, Klinge B, Sjogren S, Jonsson J. Regeneration of cranial suture and bone plate lesions in rabbits. Implications for positioning of osteotomies. **J Craniomaxillofac Surg.** 1990;18(6):271-279.

Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone in the rabbit cranium. A pilot study. **Clin. Oral Impl. Res.** 2005;16:250-257.

Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: Histomorphometric evaluation at 9 months. **J Periodont.** 2000;71(6):1015-23.

Becker W, Urist M, Becker BE, Jackson W, Parry DA, Bartold M, *et al.*,. Clinical and histologic observations of sites implanted with intraoral autologous bone grafts or allografts. 15 human case reports. **J Periodontol.** 1996;67(10):1025-1033.

Becker W, Clokie C, Sennerby L, Urist MR, Becker BE. Histologic findings after implantation and evaluation of different grafting materials and titanium micro screws into extraction sockets: case reports. **J Periodontol.** 1998;69(4):414-421.

Betti LV. **Análise Microscópica e Radiográfica do Reparo de Defeitos Confeccionados em Fêmures de Coelhos Preenchidos com Matriz Óssea Bovina Medular em Bloco ou Cortical em Microgrânulos.** [tese] Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo; 2004.

* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver. Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).

Braz F, Rahal SC, Rocha NS, Taga E, Biasi F. Emprego de matriz óssea orgânica bovina e hidroxiapatita no reparo de defeito induzido em crânio de ratos. **Acta Cir Bras**. 2003;18(1) [serial online]

Cammack GV, Nevins M, Clem DS, Hatch JP, Mellonig JT. Histologic evaluation of mineralized and demineralized freeze-dried bone allograft for ridge and sinus augmentations. **Int J Periodontics Restorative Dent**. 2005;25(3):231-237.

Callan DP, Rohrer MD. Use of bovine derived hydroxiapatite in the treatment of edentulous ridge defects: a human clinical and histologic case report. **J Periodontol**. 1993;64:575-582.

Carmagnola D, Adriaens P, Berglundh T. Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss®. **Clin Oral Impl Res**. 2003;14(2):137-43

Coradazzi LF. Avaliação dos enxertos ósseos autógenos triturados manualmente ou coletados durante osteotomia. Análises histológica e histométrica em coelhos. 2003. **Dissertação de mestrado em Odontologia** - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba.

Cury AA, Querido MRM, Pegoraro M, Tranquilletta FB. Reconstrução das maxilas atroficas com enxerto autógeno de crista ilíaca. In: Gomes LA. **Implantes osseointegrados: técnica e arte**. São Paulo: Editora Santos;2002.p.123-42.

Ellis III E. Manejo de pacientes com fisuras orofaciais. In: Peterson LJ. Ellis III E, Hupp JR, Tucker MR. **Cirurgia Oral e Maxillofacial Contemporânea**. Rio de Janeiro: Guanabara; 1996. p.583-605

Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton MW. Allograft and alloplastic bone substitutes: a review of science and technology for the craniomaxillofacial surgeon. **J Craniofac Surg**. 2005;16(6):981-989.

Figueiredo AS, Fagundes DJ, Novo NF, Inouye CM, Takita LC, Sassioto MCP. Osteointegração de osso bovino desvitalizado, hidroxiapatita de coral, poliuretana de mamona e enxerto ósseo autógeno em coelhos. **Acta Cir Bras** [serial online]; v.19.n.4, Jul-Aug 2004. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>. [também em CD-ROM].

Fonseca RJ. **Oral and maxillofacial trauma**. Philadelphia: WB Saunders, second edition. 1997.

Garcia RR. **Comparação de matrizes ósseas desmineralizadas sobre o processo de regeneração óssea. Estudo Histológico em calvárias de coelhos**. [dissertação] Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piraciaba – Universidade Estadual de Campinas; 1999.

Gartner LP, Hiatt JL. Cartilagem e Osso. In: **Tratado de Histologia**. 1 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1999. p.104-123.

Glowacki J, Altobelli D, Mulliken JB. Fate of mineralized and demineralized osseous implants in cranial defects. *Calcif Tissue Int*. 1981;33(1):71-76.

Goldberg VM, Stevenson S: Natural history of autografts and allografts. **Clin Orthop**. 1987;7:225.

Grosss JS. Bone grafting materials for dental applications: a practical guide. **Comp. Continuing Educ. Dent**. 1997;18(10):1013-36.

Gulaldi NC, Shahlafar J, Makhsoosi M, Caner B, Araz K, Erben G. Scintigraphic evaluation of healing response after heterograft usage for alveolar extraction cavity. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. 1998;85(5):520-525.

Hall EE, Meffert RM, Hermann JS, Mellonig JT, Cochran DL. Comparison of bioactive glass to demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intra bony defects around implants in the canine mandible. **J Periodontol.** 1999;70(5):526-35.

Isaksson S, Alberius P. Comparison of regeneration capacity elicited by demineralized bone matrix of different embryonic origins. **J Craniomaxillofac Surg.** 1992;20:73.

Jensen SS, Broggini N, Hjorting-Hansen E, Schenk R, Buser D. Bone healing and graft resorption of autograft, anorganic bovine bone and β -tricalcium phosphate. A histologic and histomorphometric study in the mandible of minipigs. **Clin Oral Impl Res.** 2006;17:237-243.

Junqueira LC, Carneiro J. **Histologia básica.** 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

Kim ES, Park EJ, Choung PH. Platelet concentration and its effect on bone formation in calvarial defects: An experimental study in rabbits. **J Prosthet Dent.** 2001;86(4):428-433.

Le Guéhennec L, Layrolle P, Daculsi G. A review of Bioceramics and Fibrin Sealant. **European Cells and Materials.** 2004;8:1-11.

Marins LV, Cestari TM, Sottovia AD *et al.* Estudo radiográfico e histológico do reparo de defeito ósseo perene em calvária de rato após o tratamento com material de enxerto orgânico bovino poroso. **J. Appl. Oral Sci.** 2004;12(1):62-69.

Marx RE, Stevens MR. Reconstruction of avulsive maxillofacial injuries. In: Fonseca RJ, Walker RV. **Oral and Maxillofacial Trauma.** Philadelphia: W.B. Saunders; 1997. p. 1101-203.

Mellonig JT, Bowers GM, Bailey RC: Comparison of bone graft materials. Part I. New bone formation with autografts and allografts determined by Strontium-85. **J Periodont.** 1981;52:291.

Mulliken JB, Glowacki J: Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. **Plast Reconstr Surg.** 1980;65:553.

Nary FH, Ilg JP. Atrofia severa da maxila. In: Dinato Jc, Polido WD. **Implantes osseointegrados: cirurgia e prótese.** São Paulo: Artes Médicas;2001.p.343-72.

Norton MR, Odell EW, Thompson ID, Cook RJ. Efficacy of bovine bone mineral for alveolar augmentation: a human histologic study. **Clin Oral Impl Res.** 2003;14:775-783.

Okamoto T, Garcia Júnior IR, Magro Filho O. Implante de osso anorgânico em cavidade óssea: estudo histológico em ratos. **Rev Odontol Unesp.** 1994;23(2):213-219.

Pallesen L, Schou S, Aaboe M, Hjorting-Hansen, E, Nattestad A, Melsen F. Influence of particle size of autogenous bone grafts on the early stages of bone regeneration: a histologic and stereologic study in rabbit calvarium. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 2002;17:498-506.

Piattelli A, Scarano A, Corigliano M. Comparison of bone regeneration with the use of mineralized and demineralized freeze-dried bone allografts: a histological and histochemical study in man. **Biomaterials.** 1996;17:1127.

Pinholt E, Haanaes H, Roervik M, Donath K, Bang G. Alveolar ridge augmentation by osteoinductive materials in goats. **Scand J Dent Res.** 1992;100(6):361-365.

Rabie ABM, Lie Ken Jie RKP. Integration of endochondral bone grafts in the presence of demineralized bone matrix. **Int J Oral Maxillofac Surg.** 1996;25:311-318.

Rabie ABM, Wong RWK, Hägg U. Bone induction using autogenous bone mixed with demineralized bone matrices. **Aust. Orthodont. J.** 1999;15(5):269-75.

Reddi AG, Huggins C. Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescent rats. **Proc Natl Acad Sci USA.** 1972; 69:1601.

Restrepo L, Marzola C, Consolaro A, Costa Pereira AA, Toledo Filho J, Andreo JC. Avaliação de implantes de osso bovino liofilizado e membrana reabsorvível de osso bovino liofilizado. **Rev Bras Implant.** 1998;4:8.

Rodan GA, Martin TJ. Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption: a hypothesis. **Calcif. Tiss. Int.,** 1981;33(4):349-351.

Ross MH, Reith EJ, Romrell LJ. Osso. In: **Histologia Texto e Atlas.** 2 edição. São Paulo: Editora Panamericana; 1993. p.141-179.

Sampath TK, Reddi AH. Dissociative extraction and reconstitution of extracellular matrix components involved in local bone differentiation. **Proc Nat Acad Sci USA;** 1981;78(12):7599-603.

Schwartz Z. et al. Ability of Commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation. **J Periodont.** 1996;67(9):918-926.

Schepers EJG, Ducheyne P. Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particle sizes and size ranges. **J Oral Rehab.** 1997;24:171-181.

Sicca CM, Oliveira RC, Silva TL, Cestari TM, Oliveira DT, Buzalaf MAR, et al. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular a enxertos de osso cortical bovino em subcutâneo de ratos. Efeito tamanho da partícula. **Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB**, 2000v.8n.1-2p.1-10.

Silva FM, Albergaria-Barbosa JR, Mazzone R. Clinical Evaluation of Association of Bovine Organic Osseous Matrix and Bovine Bone Morphogenetic Protein Versus Autogenous Bone Graft in Sinus Floor Augmentation. **J Oral Maxillofac Surg**. 2006;64:931-935.

Sogal A, Tofe AJ. Risk assessment of bovine spongiform encephalopathy transmission through bone graft material derived from bovine bone used for dental applications. **J Periodontol**. 1999;70:1053-1063.

Skoglund A, Hising P, Young C. A clinical and histological examination in humans of the osseous response to implanted natural bone mineral. **Int J Oral Maxillofac Implants**. 1997;12(2):194-199.

Taga EM. Biomateriais para uso em clínica médico-odontológica. **BCI**. 1996;3(1):59-70.

Taga R et al. Reparo de defeito perene em crânio de cobaia pela aplicação de osseobon. **Rev. Bras. Implant**. 1997;3(1):13-20.

Takikawa S, Bauer TW, Kambic H, Togawa D. Comparative evaluation of the osteoinductivity of two formulations of human demineralized bone matrix. **J Biomed Mater. Res**. 2003;65(1):37-42

Ten Cate AR. **Histologia Bucal**. Rio de Janeiro:Guanabara; 2001.

Tong L, Buchman SR. Facial bone grafts: contemporary science and thought. **J Craniomaxillofac Trauma**. 2000;6(1):31-41.

Torricelli P. et al. Characterization of bone defect repair in young and aged rat femur induced by xenogenic demineralized bone matrix **J Periodont.** 2002;73(9):1003-9.

Urist MR, Strates ES. Bone morphogenetic protein. **J. Dent. Res.**, 1971;50(6):1392-406.

Xu H, Shimizu Y, Asai S, Ooya, K. Experimental sinus bone grafting with the use of deproteinized bone particles of different sizes. **Clin Oral Impl Res.** 2003;14:548-555.

Wenz B, Oesch B, Horst M. Analysis of the risk of transmitting bovine spongiform encephalopathy through bone grafts derived from bovine bone. **Biomaterials.** 2001;22:1599-1606.

Zitzmann NU. Alveolar ridge augmentation with Bio-Oss: a histologic study in humans. **Int J Periodont Rest Dent.** 2001;21(3):289-295.

ANEXO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Faculdade de Medicina Veterinária

DECLARAÇÃO

Afirmo que o protocolo proposto para uso dos animais no estudo **“REPARO ÓSSEO UTILIZANDO ENXERTO DE MATRIZ ORGÂNICA BOVINA. ANÁLISE HISTOLÓGICA EM CALVÁRIA DE COELHOS”**, sob a responsabilidade do mestrando Rubens Jorge Silveira, sob a Orientação da **Prof^a. Dra. Paula Dechichi**, está de acordo com as determinações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), para o procedimento experimental e *American Veterinary Medical Association* para sacrifício dos animais.

Uberlândia, 30 de março de 2007.

Prof. Dr. Cirilo Antonio de Paula Lima

Disciplina de Prática Anestésica