

GISELE FÓFANO

**MATRIZ ÓSSEA BOVINA MINERALIZADA NA
REPARAÇÃO ALVEOLAR DA MANDÍBULA DE
CÃES E SUA ASSOCIAÇÃO COM MEMBRANA DE
COLÁGENO. ESTUDO EXPERIMENTAL.**

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária,
para obtenção do título de “Magister
Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

CONTEÚDO

RESUMO	iv
ABSTRACT	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xi

CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5

CAPÍTULO 2. MATRIZ ÓSSEA BOVINA MINERALIZADA NA REPARAÇÃO ALVEOLAR DA MANDÍBULA DE CÃO. ASPECTOS CLÍNICO-CIRÚRGICOS E RADIOGRÁFICOS

RESUMO	8
ABSTRACT	8
INTRODUÇÃO	9
MATERIAL E MÉTODOS	10
RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
CONCLUSÕES	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20

CAPÍTULO 3. ASSOCIAÇÃO DE MATRIZ ÓSSEA BOVINA MINERALIZADA E MEMBRANA DE COLÁGENO NA REPARAÇÃO ALVEOLAR DA MANDÍBULA DE CÃO. ASPECTOS CLÍNICO-CIRÚRGICOS E RADIOGRÁFICOS

RESUMO	23
ABSTRACT	24
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

CAPÍTULO 4. MATRIZ ÓSSEA BOVINA MINERALIZADA NA REPARAÇÃO ALVEOLAR DA MANDÍBULA DE CÃO. ASPECTOS HISTOLÓGICOS

RESUMO	38
ABSTRACT	38
INTRODUÇÃO	39
MATERIAL E MÉTODOS	40
RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

CAPÍTULO 5. ASPECTOS HISTOLÓGICOS DA ASSOCIAÇÃO DE MATRIZ ÓSSEA BOVINA MINERALIZADA COM MEMBRANA DE COLÁGENO NA REPARAÇÃO ALVEOLAR DA MANDÍBULA DE CÃO

RESUMO	51
ABSTRACT	52
INTRODUÇÃO	52
MATERIAL E MÉTODOS	54
RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
CONCLUSÕES GERAIS	64

RESUMO

FÓFANO, Gisele, M.S., Universidade Federal de Viçosa, Abril de 2004. **Matriz óssea bovina mineralizada na reparação alveolar da mandíbula de cães e sua associação com membrana de colágeno. Estudo experimental.** Orientadora: Andréa Pacheco Batista Borges. Conselheiros: Marlene Isabel Vargas Vilorio e Cláudio César Fonseca.

As terapias periodontais têm como objetivos não apenas estacionar a progressão da doença, pela interrupção da ação inflamatória da placa bacteriana, mas também possibilitar a restauração das estruturas perdidas, especialmente quanto à manutenção da arquitetura e estado funcional dessas. Assim, os tratamentos tidos como regenerativos ou reconstrutivos apresentam como finalidade a formação de novos tecidos de inserção (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar) na área envolvida pela periodontopatia. Exemplos de terapias periodontais regenerativas incluem enxertos ósseos e regeneração tecidual guiada (RTG). O objetivo deste trabalho foi avaliar a matriz óssea bovina mineralizada como substituto ósseo na reparação alveolar da mandíbula de cães e sua associação com uma membrana de colágeno seguindo a técnica da regeneração tecidual guiada (RTG). Para tal, foram utilizados 48 cães, divididos em três grupos. Defeitos de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm foram criados entre as raízes do quarto pré-molar direito na superfície vestibular do osso alveolar. Em um grupo, esses defeitos foram totalmente preenchidos com o xenoenxerto, em outro grupo, o defeito foi totalmente preenchido com o xenoenxerto e coberto pela membrana, enquanto no último grupo, permaneceram sem tratamento, sendo utilizados como controle. Foram realizadas avaliações clínicas diárias por uma semana, assim como radiográficas logo após a cirurgia e aos 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 dias. A cicatrização da ferida cirúrgica ocorreu de forma satisfatória e semelhante entre os cães dos três grupos. O exame radiográfico revelou uma reparação mais lenta no grupo controle, onde aos 120 dias o defeito ainda foi visualizado, em comparação ao grupo tratado com a matriz óssea bovina mineralizada, que aos 60 dias não foi mais observado e em comparação ao grupo tratado com a associação matriz óssea bovina mineralizada e membrana de colágeno, que aos 90 dias a falha não foi mais visualizada. Portanto, pode-se concluir que os materiais utilizados apresentam características desejáveis como biocompatibilidade e propriedade osteocondutora, sendo alternativas viáveis no auxílio da reparação óssea

alveolar. Foi coletado, de dois animais de cada grupo, material para biópsia do sítio operado aos 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 dias e foram realizadas avaliações histológicas. No grupo controle, o processo de formação óssea se iniciou aos 14 dias e evoluiu progressivamente até os 120 dias, quando não foi mais distinguível o limite entre a periferia da falha e o novo osso formado. No grupo tratado somente com a matriz óssea bovina mineralizada, logo ao sétimo dia observou-se abundante celularidade ao redor do material e o início do processo de reparação, que aos 60 dias já havia preenchido todo o defeito produzido. Além disso, nenhuma reação do tipo corpo estranho foi observada e, portanto, pode-se concluir que o material utilizado apresenta características desejáveis a um substituto ósseo como biocompatibilidade e propriedade osteocondutora, sendo uma alternativa para o auxílio da reparação óssea alveolar. No grupo tratado com a associação matriz óssea bovina mineralizada e membrana de colágeno, observou-se o processo de reparação mais avançado em relação ao grupo controle até os 42 dias. Depois, observou-se um processo inflamatório crônico, até os 120 dias, levando a uma estagnação dessa reparação óssea. Apesar disso, nenhuma reação do tipo corpo estranho foi observada e, portanto, pode-se concluir que os materiais utilizados apresentam biocompatibilidade, característica desejável a substitutos ósseos e que a membrana, a partir dos 42 dias, provoca reação indesejável.

ABSTRACT

FÓFANO, Gisele, M.S., Universidade Federal de Viçosa, April of 2004. **Mineralized bovine bone matrix in the alveolar repairing of the jaw of dogs and its association with collagen membrane. Experimental study.** Adviser: Andréa Pacheco Batista Borges. Committee members: Marlene Isabel Vargas Vilorio e Cláudio César Fonseca.

The periodontal therapies have as objectives not only to stop the progression of the disease, by the interruption of the inflammatory action of the bacterial plate, but also to make possible the restoration of the lost structures, especially as for the maintenance of the architecture and the functional state of those. Thus, the obtained treatments as regenerative or reconstitutive present as a purpose the formation of new insertion tissues (cement, periodontal linking and alveolar bone) in the involved area by the periodontopathy. Examples of regenerative periodontal therapies include bone grafts and guided tissue regeneration (GTR). The objective of this work was to evaluate the mineralized bovine bone matrix as a substitute bone in the alveolar repairing of the jaw of dogs and its association with a collagen membrane following the technique of the guided tissue regeneration (GTR). For such, 48 dogs were used, divided in three groups. Defects of approximately 6 x 5 x 5 mm were created among the roots of the fourth right premolar in the vestibular surface of the alveolar bone. In a group, those defects were totally filled out with the xenograft, and in another group, the defect was totally filled out with the xenograft and covered by the membrane, while in the last group, they stayed without treatment, being used as control. Daily clinical evaluations were accomplished for one week, as well as radiographic soon after the surgery and to the 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 and 120 days. The cicatrization of the surgical wound happened in a satisfactory and similar way among the dogs of the three groups. The radiographic exam revealed a slower repairing in the control group, where to the 120 days the defect was still visualized, in comparison with the group treated with the mineralized bovine bone matrix, than to the 60 days was not observed anymore and in comparison with the group treated with the mineralized bovine bone matrix and collagen membrane, than to the 90 days the failure was not visualized anymore. Therefore, it can be concluded that the used materials presented desirable characteristics as biocompatibility and property osteoconductor, being viable alternatives in the aid of the alveolar bone repairing. It was

collected, from two animals of each group, material for biopsy of the operated ranch at the 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 and 120 days and histological evaluations were accomplished. In the control group, the bone formation process began at the 14th day and it developed progressively until the 120th day, when the limit between the periphery of the flaw and the new formed bone was not more distinguishable. In the group treated only with the mineralized bovine bone matrix, right at seventh it was observed abundant cellularity around the material and the beginning of the repairing process, that it had already filled out the whole produced defect at the 60th day. Besides, no reaction of the strange body type was observed and, therefore, it can be concluded that the used material presents desirable characteristics to a substitute bone as biocompatibility and property osteoconductor, being an alternative for the aid of the alveolar bone repairing. In the group treated with the mineralized bovine bone matrix and collagen membrane, a more advanced repairing process was observed in relation to the control group until the 42th day. Then, a chronic inflammatory process was observed, until the 120th day, taking it to a repairing bone stagnation. In spite of that, no reaction of the strange body type was observed and, therefore, it can be concluded that the used materials present biocompatibility, desirable characteristic to substitute bone and that the membrane, starting from the 42th day, provokes undesirable reaction.

LISTA DE FIGURAS

- Capítulo 2 - Figura 1.** Defeito ósseo provocado entre as raízes do quarto pré-molar 13
mandibular direito em cão submetido à cirurgia experimental. A - Falha óssea com
aproximadamente 6x5x5 mm. B - Preenchimento com matriz óssea bovina
mineralizada. C – Posicionamento para radiografia da região operada com filme
intra-oral colocado na face lingual do quarto pré-molar direito utilizando a técnica
do paralelismo com posicionamento oblíquo ventrolateral-dorsomedial.
- Capítulo 2 - Figura 2.** Exame radiográfico utilizando filme intra-oral seguindo a 18
técnica do paralelismo em radiografia da mandíbula de um cão submetido à
cirurgia experimental para a realização de um defeito ósseo entre as raízes do
quarto pré-molar direito. A - Grupo controle aos 7 dias após a cirurgia
experimental. Ausência de radiopacidade do defeito em relação ao osso vizinho
normal (grau 0). B – Grupo tratado aos 7 dias do pós-operatório. Falha com
radiopacidade superior a do osso adjacente (grau 4). C - Grupo tratado, aos 21 dias.
Radiopacidade do defeito superior a do osso adjacente (grau 4) e a presença de um
halo menos radiopaco ao redor do mesmo (grau 1). D - Grupo controle, aos 21 dias.
Aumento da radiopacidade do defeito.
- Capítulo 2 – Figura 3.** Exame radiográfico utilizando filme intra-oral seguindo a 19
técnica do paralelismo em radiografia da mandíbula de um cão submetido à
cirurgia experimental para a realização de um defeito ósseo entre as raízes do
quarto pré-molar direito. A - Aos 30 dias, no grupo tratado. Decréscimo na
radiopacidade do defeito (grau 2). B - No grupo controle, aos 42 dias. Defeito ainda
foi perceptível. C - No grupo tratado, aos 90 dias. Defeito ósseo não foi mais
visualizado (grau 3).
- Capítulo 3 - Figura 1.** Produção de um defeito no osso alveolar mandibular em 28
cão submetido à cirurgia experimental. A - Criação de um retalho mucoperiosteal
na gengiva correspondente ao quarto pré-molar direito. Incisão no sulco gengival.
B - Retalho mucoperiosteal deslocado apicalmente expondo a superfície óssea
vestibular. C - Defeito ósseo de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm entre as raízes do
quarto pré-molar direito. D - Retalho mucoperiosteal reposicionado e suturado com
pontos simples separados utilizando fio absorvível de poliglactina 4-0.

Capítulo 3 - Figura 2. Exame radiográfico utilizando filme intra-oral seguindo a 33
técnica do paralelismo em radiografia da mandíbula de um cão submetido à
cirurgia experimental para a realização de um defeito ósseo entre as raízes do
quarto pré-molar direito. Imediatamente após a cirurgia. A - Grupo controle.
Observa-se a ausência de radiopacidade do defeito em relação ao osso vizinho
normal (grau 0). B – Grupo tratado com associação de matriz óssea bovina
mineralizada e membrana de colágeno. Visualização de uma falha com
radiopacidade maior do que a do osso adjacente (grau 4).

Capítulo 3 - Figura 3. Exame radiográfico utilizando filme intra-oral seguindo a 34
técnica do paralelismo em radiografia da mandíbula de um cão submetido à
cirurgia experimental para a realização de um defeito ósseo entre as raízes do
quarto pré-molar direito. Grupo tratado com associação de matriz óssea bovina e
membrana de colágeno. A - Aos 14 dias. Observar halo com radiopacidade grau 1
ao redor de toda a falha, com radiopacidade maior que o osso vizinho (grau 4). B -
Aos 21 dias, a radiopacidade do defeito manteve-se superior a do osso adjacente na
área central (grau 4), com aumento no tamanho do halo em relação ao halo aos 14
dias.

Capítulo 3 - Figura 4. Exame radiográfico utilizando filme intra-oral seguindo a 34
técnica do paralelismo em radiografia da mandíbula de um cão submetido à
cirurgia experimental para a realização de um defeito ósseo entre as raízes do
quarto pré-molar direito. A – Grupo controle, aos 42 dias, o defeito ainda foi
perceptível. B – Grupo tratado com associação de matriz óssea bovina e membrana
de colágeno. Aos 90 dias, a falha não foi mais visualizada, pois o defeito
apresentou radiopacidade semelhante ao osso vizinho (grau 3). C - Aos 120 dias, no
grupo tratado, não visualização do defeito que apresentou radiopacidade
semelhante a do osso adjacente (grau 3).

Capítulo 4 - Figura 1. Defeito ósseo provocado entre as raízes do quarto pré-molar 43
mandibular direito em cão submetido à cirurgia experimental. A - Falha óssea com
aproximadamente 6 x 5 x 5 mm. B – Total preenchimento com matriz óssea bovina
mineralizada. C – Retalho mucoperiosteal reposicionado sobre o osso alveolar e
suturado com ponto simples separados utilizando fio absorvível de poliglactina 4-0.

Capítulo 4 - Figura 2. Histologia da região do defeito provocado em cães 46 submetidos à cirurgia experimental. Animais do grupo controle. A – Aos 7 dias. Preenchimento do defeito com um tecido de granulação pouco vascularizado. 170X. B - Aos 42 dias. Aumento na formação de osso trabecular na periferia do defeito, sem a organização em osso lamelar. 50X. C – Aos 90 dias. No centro da falha pôde-se observar osso trabecular e tecido conjuntivo. 45X.

Capítulo 4 - Figura 3. Histologia da área do defeito provocado em cães 47 submetidos à cirurgia experimental. Grupo tratado. A – Aos 7 dias. Vascularização abundante nas bordas do defeito. 270X. B – Aos 7 dias. Detalhe para a abundante celularidade (seta). 700X. C – Aos 14 dias. Observou-se início da formação óssea. 70X. D - Aos 14 dias. Partículas do material enxertado e evidente angiogênese. 270X.

Capítulo 4 - Figura 4. Histologia da área do defeito provocado em cães 48 submetidos à cirurgia experimental. Grupo tratado. A - Aos 21 dias. Presença de um tecido conjuntivo mais organizado e de trabéculas ósseas. Visualização de duas etapas do processo de cicatrização. 30X. B – Aos 21 dias. Formação óssea e vascularização abundante. 60X. C – Aos 42 dias. Evidente processo de formação óssea. 60X. D –Aos 60 dias. Entre as trabéculas ósseas visualização de um tecido conjuntivo frouxo mais celular. 270X.

Capítulo 5 - Figura 1. Produção de um defeito no osso alveolar mandibular em 57 cão submetido à cirurgia experimental. A - Criação de um retalho mucoperiosteal na gengiva correspondente ao quarto pré-molar direito. B - Falha óssea de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm entre as raízes do quarto pré-molar direito. C - Retalho mucoperiosteal reposicionado sobre o osso alveolar e suturado com pontos simples separados utilizando fio absorvível de poliglactina 4-0.

Capítulo 5 - Figura 2. Histologia da região do defeito provocado em cães 60 submetidos à cirurgia experimental. Animais do grupo controle. A – Aos 7 dias. Preenchimento do defeito com um tecido de granulação pouco vascularizado. 180X. B - Aos 21 dias. Formação de novo tecido ósseo sob a forma de trabéculas espessas. 180X.

Capítulo 5 - Figura 3. Histologia da região do defeito provocado em cães 61 submetidos à cirurgia experimental. Animais do grupo tratado. A – Aos 7 dias.

Observou-se infiltrado inflamatório e partículas do enxerto xenógeno (100X). B – Aos 7 dias. Visualizou-se abundante celularidade e partículas do xenoenxerto (200X). C - Aos 14 dias. Região mais vestibular (superficial) do defeito, próxima à membrana. Observou-se reabsorção óssea e intensa vascularização (100X). D – Aos 14 dias. Reabsorção óssea (200X).

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2 - Tabela 1. Resultado do exame clínico nos sete primeiros dias após o 14
procedimento cirúrgico para a colocação da matriz óssea bovina mineralizada (GT)
no processo alveolar da mandíbula de cães e no grupo controle (GC). Classificação
da dor no pós-operatório.

Capítulo 3 - Tabela 1. Resultado do exame clínico nos primeiros sete dias após o 29
procedimento cirúrgico para a colocação da matriz óssea bovina mineralizada
associada com a membrana de colágeno (GT) em defeito provocado
experimentalmente no osso alveolar mandibular de cães e no grupo controle (GC).
Classificação da dor no pós-operatório.

CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

A placa bacteriana relaciona-se com a maioria dos problemas bucais sendo capaz de danificar as estruturas que protegem e sustentam o dente (periodonto), podendo levar à inflamação e, posteriormente, à reabsorção dessas estruturas, principal causa de perdas do osso alveolar e dentárias. A esse processo denominou-se doença periodontal, que atinge cerca de 80 a 85 % dos cães e gatos com mais de três anos de idade (EMILY et al., 1999; GIOSO & CORREA, 2003).

As terapias periodontais têm como objetivo não apenas estacionar a progressão da doença, pela interrupção da ação inflamatória da placa bacteriana, mas também possibilitar a restauração das estruturas perdidas, especialmente quanto à manutenção da arquitetura e estado funcional dessas (DYER et al., 1993; SONOHARA & GREGHI, 1994; MATSUURA, et al., 1995; GIANNOBILE et al., 1998). Assim, os tratamentos tidos como regenerativos ou reconstitutivos apresentam como finalidade a formação de novos tecidos de inserção (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar) na área envolvida pela periodontopatia (FONSECA et al., 1994; SONOHARA & GREGHI, 1994; ISAKA et al., 2001). Exemplos de terapias periodontais regenerativas incluem enxertos ósseos e regeneração tecidual guiada (RTG) (GIANNOBILE et al., 1998).

Após tratamento periodontal, o processo de cicatrização é marcado por uma invasão celular de modo a ocupar os espaços existentes. Nessas circunstâncias, materiais biocompatíveis passam a ser boa opção e têm sido estudados, especialmente em relação ao osso alveolar, por induzir, promover ou tornar mais rápida sua reparação (MAGALHÃES et al., 2002; JUNG et al., 2003). Relativamente poucos trabalhos sobre reparo ósseo têm sido publicados na literatura odontológica, apesar do elevado número de publicações sobre esse tópico na literatura ortopédica. Porém, os resultados de estudos ortopédicos não podem ser simplesmente transferidos para a mandíbula, pois sua biomecânica peculiar exerce grande influência no processo de reparação óssea (TRISI & RAO, 1998).

Os substitutos ósseos podem ser classificados, principalmente, como osteoindutores e osteocondutores. Os osteoindutores são capazes de induzir a

diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos, aumentando a formação de osso no local ou mesmo estimular a formação óssea em um sítio heterotópico. Os osteocondutores permitem a aposição de um novo tecido ósseo na sua superfície, orientando a proliferação celular. Outras características desejáveis para um substituto ósseo incluem biocompatibilidade, biodegradação, aplicação clínica sem riscos transoperatórios e seqüelas pós-operatórias mínimas. Apesar de não se ter, ainda, um material que preencha todos esses requisitos, atualmente há uma grande variedade de opções associada a um avanço crescente no desenvolvimento e aperfeiçoamento destes (OLIVEIRA et al., 1999; SICCA et al., 2000; MAGALHÃES et al., 2002; SANADA et al., 2003).

Uma reparação óssea inconsistente é, em grande parte, causada pela rápida invaginação do tecido conjuntivo na ferida, o que retarda ou, até mesmo, impede a osteogênese. Algumas invaginações podem ser prevenidas pela colocação de uma membrana biológica, processo denominado de regeneração tecidual guiada (RTG) (BASDRA et al., 1995; DONOS et al., 2004). Assim, as barreiras mecânicas têm sido propostas com função seletiva, excluindo os tecidos indesejáveis durante a cicatrização, ou seja, elas buscam impedir que fibroblastos proliferem para dentro da região defeituosa em detrimento aos osteoblastos, que têm proliferação mais lenta (OLIVEIRA et al., 1999; SICCA et al., 2000; MAGALHÃES et al., 2002; SANADA et al., 2003).

É necessário que as membranas permitam um ajuste e estabilidade adequados, mantenham espaço suficiente ao coágulo, estabilizem os tecidos circunvizinhos durante a cicatrização, apresentem fácil manuseio e baixo custo (MAGALHÃES et al., 2002).

Diferentes materiais têm sido testados como barreira mecânica, existindo dois tipos básicos: membranas reabsorvíveis e não reabsorvíveis. A utilização das membranas não reabsorvíveis apresenta os aspectos negativos da necessidade de um segundo tempo cirúrgico para sua remoção futura, implicando em perda de estruturas decorrentes do processo de cicatrização, e da existência do risco de contaminação de sua porção coronária que fica exposta à cavidade bucal (TAL et al., 1996; MAGALHÃES et al., 2002).

O enxerto autógeno é o melhor material para preenchimento dos defeitos ósseos por apresentar características ideais como biocompatibilidade, osteoindução e osteocondução, além de potencial osteogênico (OLIVEIRA et al., 1999; ARAUJO et al.,

2000; SANADA et al., 2003). Ainda assim, apresenta inconvenientes como cirurgia adicional, aumento do custo, necessidade e morbidade da fonte doadora, tempo operatório e hospitalização aumentados, maior período de convalescença, complicações pós-operatórias como infecção e hemorragia, quantidade limitada de osso autógeno disponível, contornos irregulares com enxerto ósseo angulados e reabsorção óssea tardia não prognosticável (MARZOLA et al., 1996; OLIVEIRA et al., 1999; ARAUJO et al., 2000). Com a finalidade de superar tais limitações, têm-se pesquisado diferentes materiais em substituição ao enxerto autógeno (SICCA et al., 2000).

O material homogêneo ou alógeno, retirado de indivíduos diferentes, contudo da mesma espécie, apesar de eliminar os inconvenientes do enxerto autógeno, apresenta características indesejáveis como a possibilidade de contaminação, necessidade de armazenamento especial e de controle rígido de infecções, além do potencial efeito imunogênico (MAGALHÃES et al., 2002; SANADA et al., 2003).

O material heterógeno, também designado como xenógeno, é obtido de espécies diferentes, sendo seu mecanismo de ação dependente de sua origem e constituição (OLIVEIRA et al., 1999). Esse tipo de enxerto ósseo busca evitar os aspectos desfavoráveis apresentados pelos autógenos e homogêneos, como intervenção em um segundo leito cirúrgico com riscos de contaminação e custo elevado devido a exames laboratoriais, respectivamente (MAGALHÃES et al., 2002; SANADA et al., 2003).

O enxerto heterógeno, extraído principalmente do feto bovino, demonstra ser uma fonte quase inesgotável, livre de possíveis contaminações ou transtornos, especialmente no Brasil onde o rebanho está livre da doença da vaca-louca, tudo isso a um baixo custo (MAGALHÃES et al., 2002; SANADA et al., 2003). Seu processamento pode resultar em dois tipos distintos de material: o inorgânico e o orgânico. Enquanto o inorgânico é classicamente descrito como livre de proteínas e células, com elevado conteúdo de hidroxapatita, o orgânico é caracterizado pela permanência de um arcabouço protéico constituído basicamente de colágeno tipo I. Para isso, o material sofre tratamento com solventes orgânicos, álcalis e ácidos com concentração e temperatura controlados que levam à remoção de células, detritos celulares e várias proteínas não colágenas (SANADA et al., 2003).

Os materiais xenógenos, assim como os homogêneos, podem ser submetidos a desmineralização ou não, tornando-se osteoindutores ou osteocondutores, e

conseqüentemente, uma boa opção para os procedimentos de regeneração tecidual guiada (RTG) (MAGALHÃES et al., 2002). O xenoenxerto desmineralizado apresenta uma maior exposição das proteínas osteoindutoras, enquanto o mineralizado é apenas um substituto ósseo para preenchimento do defeito (SICCA et al., 2000; MAGALHÃES et al., 2002).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUJO, A. C., MACHADO, I. G., ISOLAN, T. M. P. Avaliação histológica de implantes de osso liofilizado bovino (BIO BONE® laminado) em mandíbula de cão. Revista Brasileira de Cirurgia e Implantodontia, v. 7, n. 25, p. 36-39, 2000.
- BASDRA, E. K., MAYER, T., KOMPOSCH, G. Guided tissue regeneration precedes tooth movement and crossbite correction. Angle Orthodontist, v. 65, n. 5, p. 307-310, 1995.
- DONOS, N., LANG, N. P., KAROUSSIS, I. K. et al. Effect of GBR in combination with deproteinized bovine bone mineral and/or enamel matrix proteins on the healing of critical-size defects. Clinical Oral Implants Research, v. 15, n. 1, p. 101-111, 2004.
- DYER, B. L., CAFFESSE, R. G., NASJLETI, C. E. et al. Guided tissue regeneration with dentin biomodification. Journal of Periodontology, v. 64, n. 11, p. 1052-1060, 1993.
- EMILY, P., SAN ROMÁN, F., TROBO, J. I. et al. Periodontia. Enfermidade periodontal. In: RÓMAN, F. S. Atlas de Odontologia de Pequenos Animais. 1ª ed. São Paulo: Manole, 1999. p. 111 – 112.
- FONSECA, M. G., CAMPOS JUNIOR, A., RUIZ, L. F. N. Tratamento de lesões de furca pela técnica da regeneração tecidual guiada associada ou não ao enxerto ósseo em neo-formação. Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru, v. 2, n. 4, p. 51-60, 1994.
- GIANNOBILE, W. V., RYAN, S., SHIH, M. et al. Recombinant human osteogenic protein-1 (OP-1) stimulates periodontal wound healing in class III furcation defects. Journal of Periodontology, v. 69, n. 2, p. 129-137, 1998.

- GIOSO, M. A. & CORREA, H. L. Odontologia veterinária. Revista Brasileira de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais de Estimação, v. 1, n. 1, p. 1-76, 2003.
- ISAKA, J., OHAZAMA, A., KOBAYASHI, M. et al. Participation of periodontal ligament cells with regeneration of alveolar bone. Journal of Periodontology, v. 72, n. 3, p. 314-323, 2001.
- JUNG, R. E., GLAUSER, R., SCHÄRER, P. et al. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. Clinical Oral Implants Research, v. 14, n. 5, p. 556-568, 2003.
- MAGALHÃES, D., MENEZES, H. H. M., TAGA, M. Perspectivas atuais na utilização dos biomateriais em regeneração periodontal. Revista do Conselho Regional de Odontologia de Minas Gerais, v. 8, n. 1, p. 9-15, 2002.
- MARZOLA, C., TOLEDO FILHO, J. L., ZORZETTO, D. L. G. et al. Implantes de bioapatita + osseobond + membrana reabsorvível dentoflex + aglutinante dentoflex. Apresentação de casos clínico – cirúrgicos. Revista Brasileira das Ciências Estomatológicas, v. 1, n. 2, p. 51-63, 1996.
- MATSUURA, M., HERR, Y., HAN, K. et al. Immunohistochemical expression of extracellular matrix components of normal and healing periodontal tissues in the beagle dog. Journal of Periodontology, v. 66, n. 7, p. 579-593, 1995.
- OLIVEIRA, R. C., SICCA, C. M., SILVA, T. L. et al. Efeito da temperatura de desproteinização no preparo de osso cortical bovino microgranular. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular em subcutâneo de ratos. Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru, v. 7, n. 3/4, p. 85-93, 1999.

- SANADA, J. T., CANOVA, G. C., CESTARI, T. M. et al. Análise histológica, radiográfica e do perfil de imunoglobulinas após implantação de enxerto de osso esponjoso bovino desmineralizado em bloco em músculo de ratos. *Journal of Applied Oral Science*, v. 11, n. 3, p. 209-215, 2003.
- SICCA, C. M., OLIVEIRA, R. C., SILVA, T. L. et al. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular a enxertos de osso cortical bovino em subcutâneo de ratos. Efeito do tamanho da partícula. *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*, v. 8, n. 1/2, p. 1-10, 2000.
- SONOHARA, M. K.; GREGHI, S. L. A. Avaliação da resposta biológica a diferentes barreiras mecânicas, utilizadas na técnica de regeneração tecidual guiada (RTG). *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*, v. 2, n. 4, p. 96-102, 1994.
- TAL, H., PITARU, S., MOSES, O. et al. Collagen gel and membrane in guided tissue regeneration in periodontal fenestration defects in dogs. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 23, n. 1, p. 1-6, 1996.
- TRISI, P.; RAO, W. The bone growing chamber: a new model to investigate spontaneous and guided bone regeneration of artificial defects in the human jawbone. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, v. 18, n. 2, p. 151-159, 1998.

CAPÍTULO 2. MATRIZ ÓSSEA BOVINA MINERALIZADA NA REPARAÇÃO ALVEOLAR DA MANDÍBULA DE CÃO. ASPECTOS CLÍNICO-CIRÚRGICOS E RADIOGRÁFICOS

FÓFANO, Gisele; Universidade Federal de Viçosa.

RESUMO

Vários fatores, entre eles a doença periodontal, podem levar à reabsorção do osso alveolar. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a matriz óssea bovina mineralizada como substituto ósseo na reparação alveolar da mandíbula de cães. Para tal, foram utilizados 32 cães adultos, divididos aleatoriamente em dois grupos. Defeitos de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm foram criados entre as raízes do quarto pré-molar direito na superfície vestibular do osso alveolar. Em um grupo, o defeito foi totalmente preenchido com o xenoenxerto, enquanto no outro, permaneceu sem tratamento, sendo utilizado como controle. Foram realizadas avaliações clínicas diárias por uma semana, assim como radiográficas logo após a cirurgia e aos 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 dias. A cicatrização da ferida cirúrgica ocorreu de forma satisfatória e semelhante entre os cães dos dois grupos. O exame radiográfico revelou uma reparação mais lenta no grupo controle, onde aos 120 dias o defeito ainda foi visualizado, em comparação ao grupo tratado, que aos 60 dias não foi mais observado. Portanto, pode-se concluir que o material utilizado apresentou características desejáveis como biocompatibilidade e propriedade osteocondutora, sendo uma alternativa viável no auxílio da reparação óssea alveolar.

Palavras-chave: xenoenxerto, osso alveolar, cão.

ABSTRACT

Several factors, among them the periodontal disease, they can take to the alveolar bone reabsorption. The objective of this work was to evaluate the mineralized bovine bone matrix as bone substitute in the alveolar repairing of the jaw of dogs. For

such, 32 adult dogs were used, randomly divided in two groups. Defects of approximately 6 x 5 x 5 mm were created among the roots of the fourth right premolar in the vestibular surface of the alveolar bone. In a group, those defects were totally filled out with the xenograft, while in the other, without treatment, being used as control. Daily clinical evaluations were accomplished for one week, as well as radiographic soon after the surgery and to the 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 and 120 days. The cicatrization of the surgical wound happened in a satisfactory and similar way among the dogs of the two groups. The radiographic exam revealed a slower repairing in the control group, where to the 120 days the defect was still visualized, in comparison with the group treated with the mineralized bovine bone matrix, than to the 60 days was not observed anymore. . Therefore, it can be concluded that the used material presented desirable characteristics as biocompatibility and property osteoconductor, being viable alternatives in the aid of the alveolar bone repairing.

Key words: xenograft, alveolar bone, dog.

INTRODUÇÃO

Dentre as afecções bucais que acometem os pequenos animais pode-se citar, especialmente, a doença periodontal, que prejudica a saúde animal como um todo e atinge cerca de 80 a 85 % dos cães e gatos adultos. A placa bacteriana é sua principal causadora, danificando as estruturas que protegem e sustentam o dente (periodonto), levando à inflamação e, posteriormente, à reabsorção dessas (EMILY et al., 1999; GIOSO & CORREA, 2003).

A terapia periodontal inclui o controle do processo mórbido e a restauração dos tecidos periodontais perdidos (DYER et al., 1993; MAGALHÃES et al., 2002). Assim, os procedimentos tidos como regenerativos ou reconstrutivos têm como objetivo a formação de novos tecidos de inserção (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar) na área envolvida pela periodontopatia (FONSECA et al., 1994; SONOHARA & GREGHI, 1994; ISAKA et al., 2001). Os enxertos ósseos constituem, dentre outros, exemplos de tratamentos regenerativos (GIANNOBILE et al., 1998). O enxerto heterógeno ou xenógeno é obtido de espécies diferentes, sendo seu mecanismo de ação

dependente de sua origem e constituição (SANADA et al., 2003). Pode ser extraído do feto bovino, fonte livre de possíveis contaminações ou transtornos, tudo isso a um baixo custo. A opção por esse material se deve à sua composição a base de apatita, semelhante a hidroxiapatita, além da sua capacidade de ser reabsorvido e substituído por novo osso sem desencadear reações imunológicas (MAGALHÃES et al., 2002).

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da matriz óssea bovina mineralizada na reparação do osso alveolar por meio de análises clínico-cirúrgicas e radiográficas.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados 32 cães, clinicamente saudáveis, pesando de 8 a 16 kg, provenientes do canil experimental do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos iguais e receberam ivermectina ¹ (0,3 mg/kg) como medicação antiparasitária. Um grupo não recebeu tratamento, sendo utilizado como controle, enquanto o outro grupo foi tratado com matriz óssea bovina mineralizada ², com granulação média na faixa de 450 a 750 microns.

Os cães foram medicados com uma associação de espiromicina (23,5 mg/kg) e metronidazol (12,5 mg/kg) ³ por via oral, a cada 24 horas, durante os três dias que precederam o procedimento cirúrgico e no dia do mesmo. Após jejum hídrico e sólido de 12 horas, os animais foram sedados com acepromazina ⁴ (0,1 mg/kg), por via intravenosa, receberam indução e manutenção anestésica com pentobarbital sódico 3% ⁵ (dose total de 15 mg/kg) e foram intubados com sonda endotraqueal. Sequencialmente, foram posicionados em decúbito lateral esquerdo, a cavidade oral higienizada com solução de clorexidina 2% e foi colocado um abre-boca.

A área correspondente ao quarto pré-molar inferior direito, a ser operada, foi infiltrada com lidocaína 2% com vasoconstritor ⁶ com a finalidade de diminuir o

¹ - Ivomec 1 % - Merial Ltda.

² - Pro – Bone Matriz Mineral Óssea Bovina Granulada – Proline Biomédica.

³ - Stomorgyl 10 ® – Merial Ltda.

⁴ - Acepran ® 1% - Univet.

⁵ - Pentobarbital sódico 3% - Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda.

⁶ - Lidovet – Bravet Ltda.

sangramento. Um retalho mucoperiosteal na gengiva correspondente ao quarto pré-molar mandibular direito foi criado. Para isso, foi feita uma incisão no sulco gengival no sentido rostrocaudal, que se estendeu ventralmente partindo das suas bordas rostral e caudal. O retalho foi então deslocado apicalmente expondo a superfície vestibular do osso alveolar.

Um defeito ósseo de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm foi provocado no osso alveolar entre as raízes do quarto pré-molar (Fig.1A) com o auxílio de uma broca esférica número 8 ⁷ acoplada a um motor de baixa rotação ⁸ sob irrigação constante de solução salina isotônica ⁹.

Em um grupo o defeito permaneceu sem tratamento, servindo como controle, e no outro foi completamente preenchido com matriz óssea bovina mineralizada (Fig.1B). Para tal procedimento, o material foi colocado dentro do sítio da falha, contendo sangue, e prensado levemente com um instrumento de ponta romba ¹⁰ com o objetivo de preencher todos os espaços. Em todos os cães, o retalho mucoperiosteal foi reposicionado e suturado com pontos simples separados utilizando fio absorvível de poliglactina 4-0 ¹¹.

No pós-operatório, os animais receberam tratamento com uma associação de espiramicina (23,5 mg/kg) e metronidazol (12,5 mg/kg) por via oral e ketoprofeno 1% ¹² (0,1 mg/kg) injetável, por via subcutânea, a cada 24 horas durante três dias. O local operado foi higienizado diariamente com solução de clorexidina a 2%, por quatorze dias, e os cães, durante uma semana, foram mantidos em baias individuais, alimentados duas vezes ao dia com ração comercial ¹³ amolecida e água à vontade. Posteriormente, passaram para baias coletivas com quatro animais cada, alimentados com a mesma ração comercial, porém em sua forma sólida, até o término do experimento.

O exame clínico local constou de observação diária da ferida cirúrgica nos primeiros sete dias do pós-operatório. Foram avaliados os graus de reação inflamatória baseado na presença de edema e dor. Avaliou-se, ainda, a presença de hemorragia, de

⁷ - KG Sorensen ®.

⁸ - Microdent ® Aparelhos Odontológicos.

⁹ - Solução fisiológica ARBORETO ®.

¹⁰ - Brunidor para amálgama – Golgran.

¹¹ - Vicryl 4-0 ® - Ethicon.

¹² - Ketofen 1 % ® - Rhodia – Mérieux.

¹³ - Selection Special Croc ® – Royal Canin Ltda.

secreção purulenta e de deiscência de suturas. As variáveis, exceto a secreção purulenta e a deiscência de suturas, foram graduadas em ausente, discreta, moderada e intensa. A secreção purulenta e a deiscência de suturas foram classificadas em ausente ou presente.

O edema discreto foi caracterizado apenas por um ligeiro aumento de volume no local da incisão cirúrgica, o edema moderado como um aumento de volume atingindo a região ventral do hemiarco mandibular e o edema intenso por estender-se a toda gengiva do hemi-arco mandibular direito.

Na ausência de dor houve manifestação de apetite imediatamente após o completo retorno anestésico. A dor foi considerada discreta quando manifestada após o toque digital no local operado, moderada quando ocorreu relutância em permitir a manipulação para a higienização e a não aceitação do alimento mesmo o animal manifestando apetite. Com dor intensa, além dos sinais apresentados acima, os cães apresentaram-se prostados.

A hemorragia foi considerada discreta quando ocorreu pequeno sangramento somente após manipulação do local operado, durante higienização desse com gaze embebida em solução de clorexidina a 2%. Hemorragia moderada foi quando ocorreu um sangramento de pequeno volume e de maneira espontânea. A hemorragia foi considerada intensa quando o volume do sangramento foi grande e ocorreu de forma espontânea, demorando mais que dois minutos para cessar por compressão local utilizando gaze cirúrgica.

Exames radiográficos da região operada foram realizados com filme intra-oral ¹⁴ posicionado na região lingual do quarto pré-molar direito utilizando a técnica do paralelismo com posicionamento oblíquo ventrolateral-dorsomedial (Fig.1C), imediatamente após a cirurgia e nos dias 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 do pós-operatório, visando avaliar o processo de reparação óssea. A cada data supracitada foram descartados do experimento dois animais. As radiografias foram analisadas quanto a radiopacidade em diferentes graus, no centro e na periferia do defeito, comparando a falha provocada com o osso vizinho, considerado normal. A radiopacidade do defeito acima da radiopacidade do osso vizinho foi atribuído grau 4. A radiopacidade semelhante à do osso adjacente foi graduada como 3. Foi considerada grau 2 quando discretamente abaixo da radiopacidade do osso vizinho e graus 1 e 0

¹⁴ - Filme radiográfico Kodak DF 58.

quando intensamente abaixo da radiopacidade do osso adjacente e ausência de radiopacidade, respectivamente.

Foi feita uma análise descritiva dos resultados e comparação entre os dois grupos.

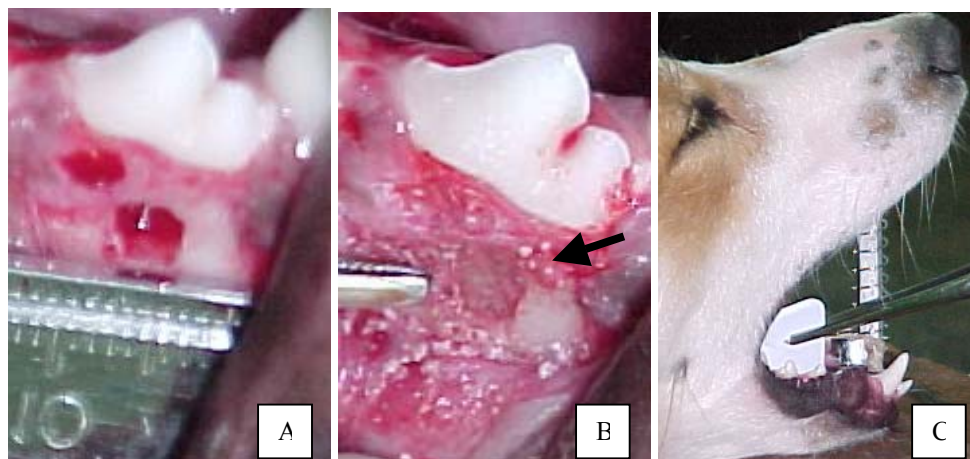


Figura 1 – Defeito ósseo provocado entre as raízes do quarto pré-molar mandibular direito em cão submetido à cirurgia experimental. A - Falha óssea com aproximadamente 6x5x5 mm (seta). B - Preenchimento do defeito ósseo com matriz óssea bovina mineralizada (seta). C – Posicionamento para radiografia da região operada com filme intra-oral colocado na face lingual do quarto pré-molar direito utilizando a técnica do paralelismo com posicionamento oblíquo ventrolateral-dorsomedial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença perceptível entre os cães dos dois grupos quanto ao edema apresentado nos primeiros sete dias do pós-operatório, classificado como discreto. Apenas um animal do grupo tratado manifestou dor moderada no primeiro dia do pós-operatório (Tab.1). No segundo dia, três animais do mesmo grupo apresentaram dor moderada. Ao terceiro dia, um animal do grupo tratado manifestou dor intensa. Ao quarto dia, um animal de cada grupo apresentou dor moderada, enquanto no quinto e

sexto dias, um animal do grupo tratado manifestou dor moderada. Ao sétimo dia, somente um animal do grupo tratado apresentou dor discreta.

Tabela 1 – Resultado do exame clínico nos sete primeiros dias após o procedimento cirúrgico para a colocação da matriz óssea bovina mineralizada no processo alveolar da mandíbula de cães. Classificação da dor no pós-operatório.

Dias	Ausente nº de cães		Discreta nº de cães		Moderada nº de cães		Intensa nº de cães	
	GT	GC	GT	GC	GT	GC	GT	GC
01	9	8	6	8	1	0	0	0
02	11	11	2	5	3	0	0	0
03	12	14	3	2	0	0	1	0
04	12	14	3	1	1	1	0	0
05	14	14	1	2	1	0	0	0
06	15	14	0	2	1	0	0	0
07	15	16	1	0	0	0	0	0

GT - grupo tratado

GC - grupo controle

Acredita-se que a utilização, no período pós-operatório, de antiinflamatórios auxiliou no controle do edema e da dor. Mesmo assim, todos os animais receberam a mesma medicação, pelo mesmo período de tempo, e a maioria apresentou algum grau de edema e dor. Apesar de Alliot et al. (1999) atribuírem a inflamação observada em seus experimentos à placa bacteriana, decorrente da ausência de escovação, a resposta inflamatória encontrada nos cães do presente trabalho foi atribuída à manipulação dos tecidos moles bucais durante a cirurgia experimental e, especialmente, à resposta individual de cada animal. Corrobora para tal atribuição, ainda, a higienização diária da ferida cirúrgica visando o controle da placa bacteriana realizada com clorexidine a 2 %, conforme realizou Matsuura et al. (1995). Possivelmente, essa higienização contribuiu

para a ausência de infecção e, conseqüentemente, de secreção purulenta nos animais dos dois grupos. Portanto, sugere-se que o produto utilizado não foi responsável por esses sinais e sintomas inflamatórios, uma vez que não foram constatadas diferenças perceptíveis entre os dois grupos avaliados, concordando com os achados de Duarte (2003).

Enquanto os animais do grupo controle apresentaram discreta hemorragia com duração máxima de dois dias após a cirurgia experimental, em um cão do grupo tratado esta hemorragia discreta permaneceu até o quinto dia do pós-operatório. Acredita-se ser normal a hemorragia discreta que foi atribuída ao trauma cirúrgico sofrido por todos os cães de ambos os grupos. O fato de que em somente um animal do grupo tratado essa hemorragia prolongou-se, sugere uma resposta intrínseca desse animal.

No grupo controle, seis animais apresentaram deiscência de suturas antes do oitavo dia de pós-operatório, sendo que um cão não apresentou qualquer grau de edema ou dor. Em um animal essa deiscência ocorreu no quinto dia, apesar de já existirem sinais de cicatrização parcial da ferida cirúrgica. No grupo tratado, houve deiscência de suturas em dois cães ao segundo dia do pós-operatório e em um animal no terceiro dia. A causa da deiscência não pode ser atribuída à alimentação, que foi amolecida nos primeiros sete dias para todos os animais de ambos os grupos, e sim à tensão no local de sutura, associada à presença de edema e hemorragia, conforme sugeriu Duarte et al. (2003).

Os materiais utilizados como enxerto ósseo xenógeno, dentre eles o utilizado neste trabalho, foram considerados inviáveis durante algum tempo, principalmente pela possibilidade de reações imunológicas (MAGALHÃES et al., 2002). Porém, nos achados clínico-cirúrgicos deste experimento, a reação inflamatória encontrada, mensurada principalmente através do edema e da dor, foi atribuída como resposta ao trauma cirúrgico e não ao produto utilizado. Isso sugere que o xenoenxerto foi bem tolerado, apresentando uma aplicação clínica sem riscos transoperatórios, algumas das características desejadas para um substituto ósseo, conforme citado por Oliveira et al. (1999) e Sicca et al. (2000). Portanto, os resultados encontrados confirmam as afirmações de Magalhães et al. (2002) e Sanada et al. (2003) sobre a possível obtenção de um xenoenxerto biocompatível por meio de um correto processamento e purificação do osso bovino.

Logo após a cirurgia experimental e no sétimo dia de pós-operatório, os exames radiográficos do grupo controle revelaram escore 0, ou seja, ausência de radiopacidade, uma vez que a falha produzida não recebeu qualquer material de preenchimento (Fig.2A). Borges (1998) afirmou que no processo espontâneo de cicatrização do tecido ósseo inicialmente se desenvolve tecido fibrovascular no foco da lesão, que apresenta radiopacidade insuficiente para percepção ao exame radiográfico, não se podendo, portanto, descartar a possibilidade de estar ocorrendo reparação óssea.

No grupo tratado, imediatamente após a cirurgia e aos 7 dias, o defeito mostrou radiopacidade discretamente superior a do osso vizinho, sendo classificada como grau 4 (Fig.2B). Tal achado radiográfico foi condizente com o esperado após o preenchimento total da falha produzida com um substituto ósseo mineralizado.

No grupo controle, aos 14 dias, houve um aumento gradativo da densidade e, conseqüentemente, da radiopacidade, sugestivo de formação de novo osso.

Aos 14 dias, em 10 dos 16 animais do grupo tratado (62,5%), um halo de radiopacidade intensamente inferior a do osso vizinho (grau 1) foi visualizado ao redor de todo o defeito, cuja radiopacidade apresentou sinais de diminuição em relação aos 7 dias, apesar de ainda ter sido classificada como grau 4. Esse halo radioluscente (grau 1) sugere a presença de um tecido não mineralizado, possivelmente tecido conjuntivo, primeiro tecido formado na reparação óssea, e reabsorção da matriz óssea bovina mineralizada. Em um único cão, a falha foi visualizada com radiopacidade menor (grau 2), sugerindo perda de parte do biomaterial enxertado, possivelmente devido a discreta hemorragia que ocorreu no pós-operatório.

No grupo tratado, aos 21 dias, a radiopacidade da falha continuou diminuindo, com manutenção do halo menos radiopaco (grau 1) em torno desta (Fig.2C). A redução da radiopacidade observada, principalmente nas bordas do defeito, pode sugerir a degradação ou reabsorção do xenoenxerto e formação de tecido conjuntivo, indicando o início da reparação óssea. Isto porque a formação de novo osso é um processo que inclui a organização de um tecido conjuntivo; a diferenciação deste tecido em tecido ósseo e posterior maturação desse tecido ósseo em osso lamelar ou trabecular (ARAÚJO et al., 1997) e, que de acordo com Borges (1998), o tecido fibrovascular desenvolvido inicialmente apresenta radiopacidade insuficiente para percepção ao exame radiográfico.

Aos 21 dias, no grupo controle, seguiu-se o aumento gradativo da densidade devido à formação de novo osso e, conseqüentemente, da radiopacidade, conforme acontece no processo normal de reparação óssea, concordando com Borges (1998). Assim, visualizou-se um aumento da radiopacidade dos defeitos, sendo classificada como grau 1 (Fig.2D).

Aos 30 dias, no grupo tratado, continuou se observando um decréscimo na radiopacidade do defeito, que foi classificada como grau 2 (Fig.3A). Aos 42 dias, nos animais do grupo tratado, o quadro se repetiu (grau 2), porém o defeito foi mais radiopaco que aos 30 dias. Assim, nos animais do grupo tratado, observou-se uma diminuição gradual na radiopacidade da falha óssea produzida até os 30 dias após a cirurgia experimental. Acredita-se que essa diminuição seja sugestiva da absorção da matriz óssea bovina mineralizada enxertada. A partir dos 42 dias, um aumento dessa radiopacidade foi observada nesses cães do grupo tratado.

No grupo controle, aos 42 dias, o defeito ainda foi perceptível, com radiopacidade grau 2 na periferia e grau 1 no centro, demonstrando que o crescimento ósseo acontece primeiramente na periferia da falha (Fig.3B), concordando com os achados experimentais de Matsuura et al. (1995) em que a formação de osso aconteceu paralelamente às superfícies radiculares de maneira mais rápida que na área interradicular central da lesão. Portanto, o aumento da radiopacidade sugere um processo normal de reparação óssea, com início da periferia para o centro do defeito.

No grupo controle, os defeitos ainda foram visíveis aos 60 dias, por apresentarem radiopacidade discretamente menor que a do osso vizinho (grau 2), o mesmo acontecendo aos 90 e 120 dias. Assim, acredita-se que o período de observação deste experimento (120 dias) não foi suficiente para que ocorresse a completa mineralização do novo osso formado.

No grupo tratado, aos 60 dias, o defeito ósseo não foi mais visualizado (grau 3), o que aconteceu também aos 90 (Fig.3C) e 120 dias, devido à radiopacidade semelhante a do osso adjacente. Dessa forma, pode-se afirmar que o processo de reparação do osso alveolar mandibular de cão foi mais rápido no grupo tratado com matriz óssea bovina mineralizada, confirmando seu potencial osteocondutor, concordando com os achados de Jung et al. (2003).

Os resultados obtidos foram os esperados para um substituto ósseo com características osteocondutoras, supondo-se uma reabsorção do xenoenxerto simultânea à deposição de tecido conjuntivo, quando se começou a visualização de regiões menos radiopacas (grau 1), e a medida que este tecido conjuntivo foi se diferenciando em tecido ósseo, visualizou-se um aumento gradual da radiopacidade até que o novo osso formado apresentou-se da mesma maneira que o tecido ósseo adjacente considerado normal.

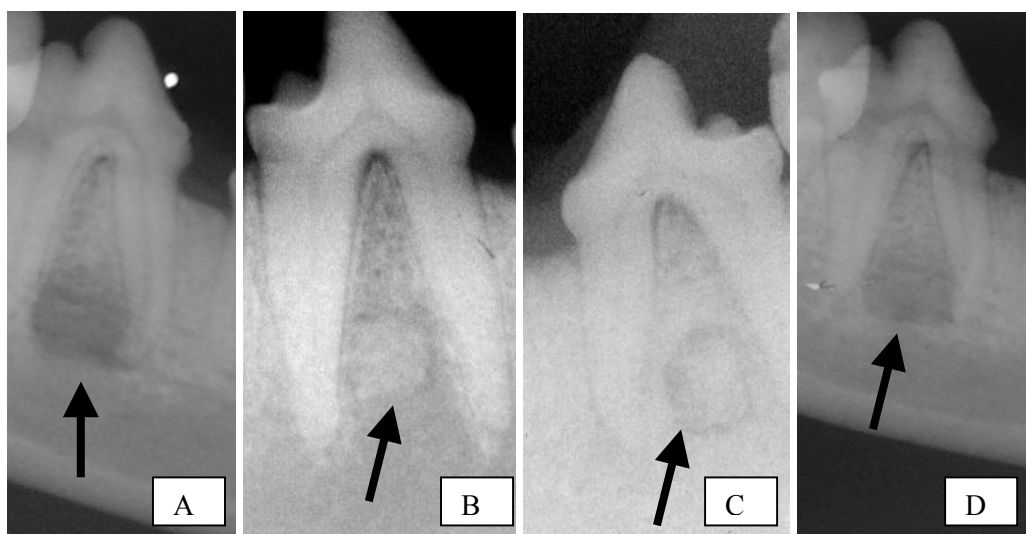


Figura 2 – Exame radiográfico utilizando filme intra-oral seguindo a técnica do paralelismo em radiografia da mandíbula de um cão submetido à cirurgia experimental para a realização de um defeito ósseo entre as raízes do quarto pré-molar direito. A - Grupo controle aos 7 dias após a cirurgia experimental. Ausência de radiopacidade do defeito em relação ao osso vizinho normal (grau 0) (seta). B – Grupo tratado aos 7 dias do pós-operatório. Falha com radiopacidade superior a do osso adjacente (grau 4) (seta). C - Grupo tratado, aos 21 dias. Radiopacidade do defeito superior a do osso adjacente (grau 4) e a presença de um halo menos radiopaco ao redor do mesmo (grau 1) (seta). D - Grupo controle, aos 21 dias. Aumento da radiopacidade do defeito (seta).

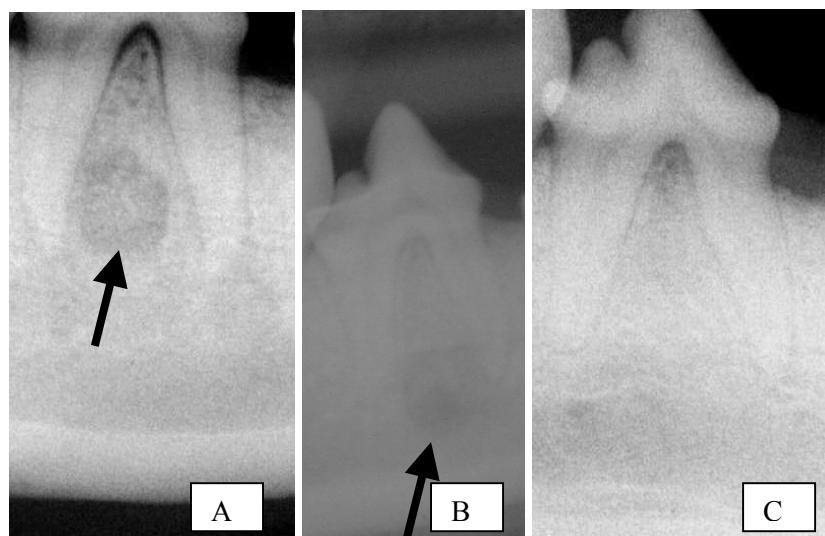


Figura 3 – Exame radiográfico utilizando filme intra-oral seguindo a técnica do paralelismo em radiografia da mandíbula de um cão submetido à cirurgia experimental para a realização de um defeito ósseo entre as raízes do quarto pré-molar direito. A - Grupo tratado, aos 30 dias. Decréscimo na radiopacidade do defeito (grau 2) (seta). B - Grupo controle, aos 42 dias. Defeito ainda perceptível. C - Grupo tratado, aos 90 dias. Defeito ósseo não mais visualizado (grau 3).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados clínico-cirúrgicos e radiográficos obtidos e nas condições empregadas neste trabalho, foi possível chegar às seguintes conclusões:

- 1 - A matriz óssea bovina mineralizada comporta-se de maneira biocompatível quando enxertada no processo alveolar da mandíbula de cão, podendo ser utilizada com segurança para auxiliar no reparo alveolar mandibular desta espécie;
- 2 - O preenchimento do defeito ósseo com material de radiopacidade semelhante a do osso acontece de maneira mais rápida quando se utiliza a matriz óssea bovina mineralizada no osso alveolar mandibular de cão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLIOT, B., PIOTROWSKI, B., MARIN, P. et al. Regeneration procedures in immediate transmucosal implants: an animal study. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, v. 14, n. 6, p. 841-848, 1999.
- ARAÚJO, M. G., BERGLUNDH, T., LINDHE, J. On the dynamics of periodontal tissue formation in degree III furcation defects. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 24, n. 10, p. 738-746, 1997.
- BORGES, A. P. B. O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço distal da tíbia de cães (Canis familiares). Estudo clínico-cirúrgico, radiográfico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodispersão. Belo Horizonte: UFMG, Escola de Veterinária, 1998, 111p. (Tese, Doutorado).
- DUARTE, T. S. Osseointegração da hidroxiapatita sintética no processo alveolar da mandíbula de cães. Viçosa: UFV, Departamento de Veterinária, 2003, 58 p. (Tese, Mestrado).
- DYER, B. L., CAFFESSE, R. G., NASJLETI, C. E. et al. Guided tissue regeneration with dentin biomodification. *Journal of Periodontology*, v. 64, n. 11, p. 1052-1060, 1993.
- EMILY, P., SAN ROMÁN, F., TROBO, J. I. et al. Periodontia. Enfermidade periodontal. In: RÓMAN, F. S. *Atlas de Odontologia de Pequenos Animais*. 1ª ed. São Paulo: Manole, 1999. p. 111 – 112.
- FONSECA, M. G., CAMPOS JUNIOR, A., RUIZ, L. F. N. Tratamento de lesões de furca pela técnica da regeneração tecidual guiada associada ou não ao enxerto ósseo em neo-formação. *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*, v. 2, n. 4, p. 51-60, 1994.

- GIANNOBILE, W. V., RYAN, S., SHIH, M. et al. Recombinant human osteogenic protein-1 (OP-1) stimulates periodontal wound healing in class III furcation defects. *Journal of Periodontology*, v. 69, n. 2, p. 129-137, 1998.
- GIOSSO, M. A. & CORREA, H. L. Odontologia veterinária. *Medvetp – Revista Brasileira de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais de Estimação*, v. 1, n. 1, p. 1-76, 2003.
- ISAKA, J., OHAZAMA, A., KOBAYASHI, M. et al. Participation of periodontal ligament cells with regeneration of alveolar bone. *Journal of Periodontology*, v. 72, n. 3, p. 314-323, 2001.
- JUNG, R. E., GLAUSER, R., SCHÄRER, P. et al. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. *Clinical Oral Implants Research*, v. 14, n. 5, p. 556-568, 2003.
- MAGALHÃES, D., MENEZES, H. H. M., TAGA, M. Perspectivas atuais na utilização dos biomateriais em regeneração periodontal. *Revista do Conselho Regional de Odontologia de Minas Gerais*, v. 8, n. 1, p. 9-15, 2002.
- MATSUURA, M., HERR, Y., HAN, K. et al. Immunohistochemical expression of extracellular matrix components of normal and healing periodontal tissues in the beagle dog. *Journal of Periodontology*, v. 66, n. 7, p. 579-593, 1995.
- OLIVEIRA, R. C., SICCA, C. M., SILVA, T. L. et al. Efeito da temperatura de desproteinização no preparo de osso cortical bovino microgranular. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular em subcutâneo de ratos. *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*, v. 7, n. 3/4, p. 85-93, 1999.

SANADA, J. T., CANOVA, G. C., CESTARI, T. M. et al. Análise histológica, radiográfica e do perfil de imunoglobulinas após implantação de enxerto de osso esponjoso bovino desmineralizado em bloco em músculo de ratos. *Journal of Applied Oral Science*, v. 11, n. 3, p. 209-215, 2003.

SICCA, C. M., OLIVEIRA, R. C., SILVA, T. L. et al. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular a enxertos de osso cortical bovino em subcutâneo de ratos. Efeito do tamanho da partícula. *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*, v. 8, n. 1/2, p. 1-10, 2000.

SONOHARA, M. K. & GREGHI, S. L. A. Avaliação da resposta biológica a diferentes barreiras mecânicas, utilizadas na técnica de regeneração tecidual guiada (RTG). *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*, v. 2, n. 4, p. 96-102, 1994.

**CAPÍTULO 3. ASSOCIAÇÃO DE MATRIZ ÓSSEA BOVINA
MINERALIZADA E MEMBRANA DE COLÁGENO NA REPARAÇÃO
ALVEOLAR DA MANDÍBULA DE CÃO. ASPECTOS CLÍNICO-CIRÚRGICOS
E RADIOGRÁFICOS**

FÓFANO, Gisele; Universidade Federal de Viçosa.

RESUMO

Vários fatores, dentre eles a doença periodontal, podem levar à reabsorção do osso alveolar. O objetivo deste trabalho foi avaliar a matriz óssea bovina mineralizada em associação com uma membrana de colágeno seguindo a técnica da regeneração tecidual guiada (RTG) na reparação alveolar da mandíbula de cães. Para tal, foram utilizados 32 animais, divididos aleatoriamente em dois grupos. Defeitos de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm foram criados entre as raízes do quarto pré-molar direito na superfície vestibular do osso alveolar. Em um grupo, esse defeito foi totalmente preenchido com o xenoenxerto e coberto pela membrana, enquanto no outro, a falha permaneceu sem tratamento, sendo utilizado como controle. Foram realizadas avaliações clínicas diárias por uma semana, assim como radiográficas logo após a cirurgia e aos 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 dias. Em ambos os grupos, houve boa cicatrização da ferida cirúrgica, de maneira semelhante e satisfatória. O exame radiográfico revelou uma reparação mais lenta no grupo controle, onde aos 120 dias o defeito ainda foi observado, em comparação ao tratado, que aos 90 dias a falha não foi mais visualizada. Portanto, pode-se concluir que os materiais utilizados apresentam características desejáveis como biocompatibilidade e propriedade osteocondutora, sendo alternativas viáveis no auxílio da reparação óssea alveolar.

Palavras-chave: regeneração tecidual guiada, xenoenxerto, membrana reabsorvível, osso alveolar.

ABSTRACT

Several factors, among them the periodontal disease, can take to the reabsorption of the alveolar bone. The objective of this work was to evaluate the mineralized bovine bone matrix in association with a collagen membrane following the technique of the guided tissue regeneration in the alveolar reparation of the jaw of dogs. For such, 32 animals were used, divided in two groups. Defects of approximately 6 x 5 x 5 mm were created among the roots of the fourth right premolar in the vestibular surface of the alveolar bone. In a group, that defect was totally filled out with the xenograft and covered by the membrane, while in the other, the failure stayed without treatment, being used as control. Daily clinical evaluations were accomplished by one week. Radiographies were taken soon after the surgery and to the 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 and 120 days. The cicatrization of the surgical wound happened in a satisfactory and similar way among the dogs of the two groups. The radiographic exams revealed a slower repairing in the group control, where to the 120th day the defect was still observed, in comparison with the treaty, where to the 90th day the failure was not visualized anymore. Therefore, it can be concluded that the used materials present desirable characteristics as biocompatibility and property osteoconductor, being viable alternative in the aid of the alveolar bone repairing.

Key words: guided tissue regeneration, xenograft, reabsorption membrane, alveolar bone.

INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma das principais afecções bucais que acometem os pequenos animais, atingindo cerca de 80 a 85 % dos cães e gatos adultos. Pode-se dizer que a placa bacteriana é sua causadora, danificando as estruturas que protegem e sustentam o dente (periodonto), levando à inflamação e, posteriormente, à reabsorção dessas (EMILY et al., 1999; GIOSO & CORREA, 2003).

Após tratamento periodontal, o processo de cicatrização é marcado por uma efetiva invasão celular de modo a ocupar os espaços existentes. Nessas circunstâncias,

materiais biocompatíveis passam a ser uma opção por induzir, promover ou tornar mais rápida a reparação (MAGALHÃES et al., 2002). Muitos métodos têm sido descritos para a reparação do osso alveolar perdido. Destacam-se a utilização de materiais de preenchimento que servem como suporte para o crescimento de novo tecido ósseo e da regeneração tecidual guiada (RTG) que permite a manutenção de espaços, por meio do uso de barreiras mecânicas, que serão ocupados com novo osso (JUNG et al., 2003).

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da associação de uma membrana de colágeno, seguindo a RTG, com uma matriz óssea bovina mineralizada no processo reparativo do osso alveolar da mandíbula de cão, por meio de análises clínico-cirúrgicas e radiográficas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 32 cães, clinicamente saudáveis, pesando de 8 a 16 kg, provenientes do canil experimental do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos iguais e receberam ivermectina ² (0,3 mg/kg) como medicação antiparasitária. Um grupo foi utilizado como controle, enquanto o outro grupo recebeu tratamento com matriz óssea bovina mineralizada ² em associação com uma membrana de colágeno ³.

Os cães receberam, como antibioticoterapia profilática, uma associação de espiramicina (23,5 mg/kg) e metronidazol (12,5 mg/kg) ⁴ por via oral, a cada 24 horas, durante os três dias que precederam o procedimento cirúrgico e no dia do mesmo. Após jejum hídrico e sólido de 12 horas, os animais foram sedados com acepromazina ⁵ (0,1 mg/kg), por via intravenosa, receberam indução e manutenção anestésica com pentobarbital sódico 3% ⁶ (dose total de 15 mg/kg) e foram intubados com sonda endotraqueal. Sequencialmente, foram posicionados em decúbito lateral esquerdo, a cavidade oral higienizada com solução de clorexidine 2% e foi colocado um abre-boca.

² Ivomec 1% - Merial Ltda.

² Pro – Bone - Matriz Mineral Óssea Bovina Granulada – Proline Biomédica.

³ Pro – Guided – Membrana de Colágeno – Proline Biomédica.

⁴ Stomorgyl 10 ® - Merial Ltda.

⁵ Acepran ® 1% - Univet.

⁶ Pentobarbital sódico 3% - Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda.

A área correspondente ao quarto pré-molar inferior direito, a ser operada, foi infiltrada com lidocaína 2% com vasoconstritor ⁷ com a finalidade de diminuir o sangramento. Um retalho mucoperiosteal na gengiva correspondente ao quarto pré-molar mandibular direito foi criado. Para isso, com uma lâmina de bisturi número 11, foi feita uma incisão no sulco gengival no sentido rostrocaudal (Fig.1A), que se estendeu ventralmente partindo das suas bordas rostral e caudal. O retalho foi então deslocado apicalmente expondo a superfície vestibular do osso alveolar (Fig.1B). Um defeito ósseo de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm foi provocado no osso alveolar entre as raízes do quarto pré-molar (Fig.1C) com o auxílio de uma broca esférica número 8 ⁸ acoplada a um motor de baixa rotação ⁹ sob irrigação constante de solução salina isotônica ¹⁰.

Em um grupo o defeito não recebeu tratamento, enquanto a falha no outro grupo foi completamente preenchida com matriz óssea bovina mineralizada com granulação média na faixa de 450 a 750 microns. Para tal procedimento, o material foi colocado dentro do sítio da falha, contendo sangue, e prensado levemente com um instrumento de ponta romba ¹¹ com o objetivo de preencher todos os espaços. Depois, a área foi abundantemente lavada com solução fisiológica e uma membrana de colágeno fibrilado do tipo I modificado ligeiramente maior do que o defeito produzido foi colocada recobrando toda a região do mesmo. Em todos os cães, o retalho mucoperiosteal foi reposicionado e suturado com pontos simples separados utilizando fio absorvível de poliglactina 4-0 ¹² (Fig.1D).

No pós-operatório, os animais receberam tratamento com uma associação de espiramicina (23,5 mg/kg) e metronidazol (12,5 mg/kg) por via oral e ketoprofeno 1% ¹³ (0,1 mg/kg) injetável, por via subcutânea, a cada 24 horas durante três dias. O local operado foi higienizado diariamente com solução de clorexidine a 2%, por quatorze dias, e os cães, durante uma semana, foram mantidos em baias individuais e alimentados duas vezes ao dia com ração comercial ¹⁴ amolecida e água à vontade. Posteriormente,

⁷ Lidovet – Bravet Ltda.

⁸ KG Sorensen ®.

⁹ Microdent ® Aparelhos Odontológicos.

¹⁰ Solução fisiológica ARBORETO ®.

¹¹ Brunidor para amálgama – Golgran.

¹² Vicryl 4-0 ® - Ethicon.

¹³ Ketofen 1 % ® - Rhodia – Mérieux.

¹⁴ Selection Special Croc ® – Royal Canin Ltda.

passaram para baias coletivas com quatro animais cada, alimentados com a mesma ração comercial, porém em sua forma sólida, até o término do experimento.

O exame clínico local constou de observação diária da ferida cirúrgica nos primeiros sete dias do pós-operatório. Foi avaliado o grau de reação inflamatória baseado na presença de edema e dor. Foi avaliado o grau de hemorragia, de secreção purulenta e de deiscência de suturas. Todas as variáveis, exceto a secreção purulenta e a deiscência de suturas, foram graduadas em ausente, discreta, moderada e intensa. A secreção purulenta e a deiscência de suturas foram classificadas em ausente ou presente.

O edema discreto foi caracterizado apenas por um ligeiro aumento de volume no local da incisão cirúrgica, o edema moderado como um aumento de volume atingindo a região ventral do hemiarco mandibular e o edema intenso por estender-se a toda gengiva do hemi-arco mandibular direito.

Na ausência de dor houve manifestação de apetite imediatamente após o completo retorno anestésico. A dor foi considerada discreta quando manifestada após o toque digital no local operado, moderada quando ocorreu relutância em permitir a manipulação para a higienização e a não aceitação do alimento mesmo o animal manifestando apetite. Com dor intensa, além dos sinais apresentados acima, os cães apresentaram-se prostados.

A hemorragia foi considerada discreta quando ocorreu pequeno sangramento somente após manipulação do local operado, durante higienização desse com gaze embebida em solução de clorexidine a 2%. Hemorragia moderada foi quando ocorreu um sangramento de pequeno volume e de maneira espontânea. A hemorragia foi considerada intensa quando o volume do sangramento foi grande e ocorreu de forma espontânea, demorando mais que dois minutos para cessar por compressão local utilizando gaze cirúrgica.

Exames radiográficos da região operada foram realizados com filme intra-oral ¹⁵ posicionado na região lingual do quarto pré-molar direito utilizando a técnica do paralelismo com posicionamento oblíquo ventrolateral-dorsomedial, imediatamente após a cirurgia e nos dias 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 do pós-operatório, visando avaliar o processo de reparação óssea. As radiografias foram analisadas quanto a radiopacidade em diferentes graus, no centro e na periferia do defeito, comparando a

¹⁵ - Filme radiográfico Kodac DF 58.

falha provocada com o osso vizinho, considerado normal. A radiopacidade do defeito acima da radiopacidade do osso vizinho foi atribuído grau 4. A radiopacidade semelhante à do osso adjacente foi graduada como 3. Foi considerada grau 2 quando discretamente abaixo da radiopacidade do osso vizinho e graus 1 e 0 quando intensamente abaixo da radiopacidade do osso adjacente e ausência de radiopacidade, respectivamente.

Foi feita análise descritiva dos resultados e comparação entre os dois grupos.

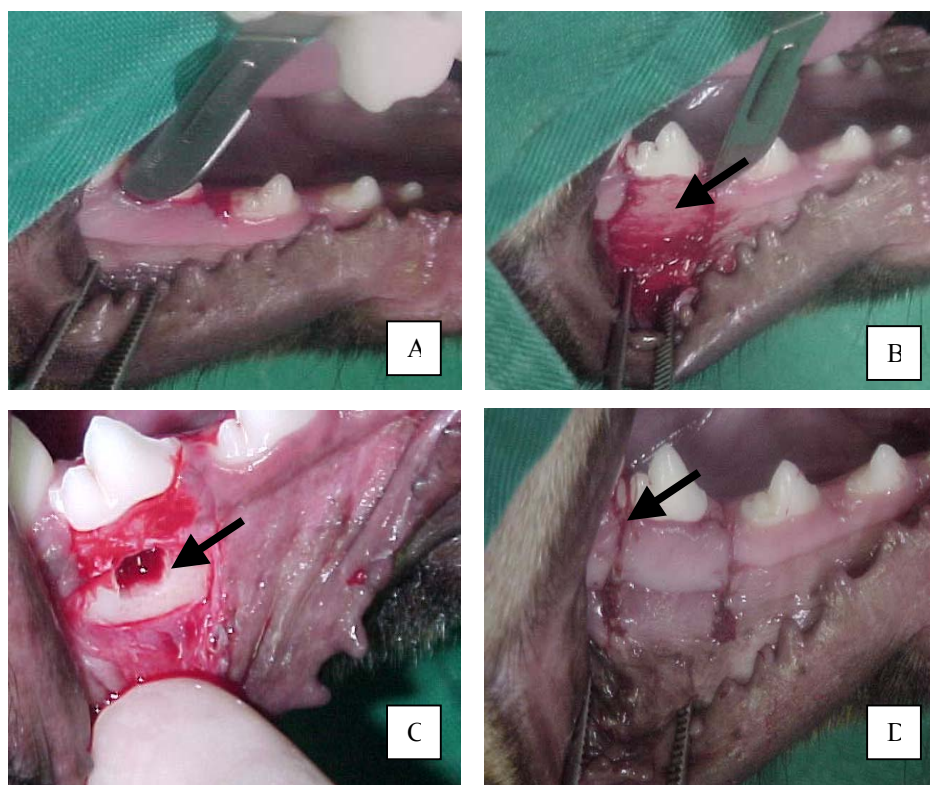


Figura 1 – Produção de um defeito no osso alveolar mandibular em cão submetido à cirurgia experimental. A - Retalho mucoperiosteal na gengiva correspondente ao quarto pré-molar direito. B - Retalho mucoperiosteal deslocado apicalmente expondo a superfície óssea vestibular (seta). C - Defeito ósseo de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm entre as raízes do quarto pré-molar direito (seta). D - Retalho mucoperiosteal reposicionado e suturado com pontos simples separados utilizando fio absorvível de poliglactina 4-0 (seta).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença perceptível entre os animais do grupo tratado e do grupo controle quanto ao edema apresentado nos sete primeiros dias do pós-operatório, que foi classificado como discreto. Apenas dois cães do grupo tratado manifestaram dor moderada no primeiro dia do pós-operatório (Tab.1). No segundo dia, quatro animais do grupo tratado e cinco do grupo controle apresentaram dor discreta. Ao terceiro dia, três animais do grupo tratado e dois do grupo controle manifestaram dor discreta. Ao quarto dia, dois animais do grupo tratado apresentaram dor discreta, ao passo que um animal do grupo controle apresentou dor moderada. No quinto e sexto dias, um animal do grupo tratado e dois do grupo controle manifestaram dor discreta. Ao sétimo dia, um cão do grupo tratado manifestou dor discreta.

Tabela 1 – Resultado do exame clínico nos sete primeiros dias após o procedimento cirúrgico para a colocação da matriz óssea bovina mineralizada associada com membrana de colágeno no processo alveolar da mandíbula de cães. Classificação da dor no pós-operatório.

Dias	Ausente nº de cães		Discreta nº de cães		Moderada nº de cães		Intensa nº de cães	
	GT	GC	GT	GC	GT	GC	GT	GC
01	8	8	6	8	2	0	0	0
02	12	11	4	5	0	0	0	0
03	13	14	3	2	0	0	1	0
04	14	14	2	1	0	1	0	0
05	15	14	1	2	0	0	0	0
06	15	14	1	2	0	0	0	0
07	15	16	1	0	0	0	0	0

GT - grupo tratado

GC - grupo controle

Acredita-se que o uso de antiinflamatórios, nesse período pós-cirúrgico, auxiliou no controle do edema e da dor. Mesmo assim, embora todos os cães tenham recebido a mesma medicação, pelo mesmo período de tempo, alguns apresentaram algum grau de dor. Apesar de Alliot et al. (1999) atribuírem a inflamação observada em seus experimentos à ausência de escovação e, conseqüentemente, presença de grande quantidade de placa bacteriana, esses sinais e sintomas da resposta inflamatória encontrados (edema e dor) nos cães do presente trabalho foram atribuídos à manipulação dos tecidos moles bucais durante a cirurgia experimental e, especialmente, à resposta individual de cada animal, concordando com os achados de Duarte (2003). Concorre para tal atribuição, ainda, a higienização diária da ferida cirúrgica e conseqüente controle da placa bacteriana, conforme realizou Matsuura et al. (1995). A ausência de secreção purulenta nos animais de ambos os grupos possivelmente deveu-se a higienização diária da ferida cirúrgica com clorexidine a 2 %, com conseqüente controle da placa bacteriana, o que, acredita-se, evitou processos infecciosos nos dois grupos.

Enquanto os animais do grupo controle apresentaram hemorragia discreta durando, no máximo, dois dias após a cirurgia experimental, em três cães do grupo tratado essa discreta hemorragia permaneceu até o terceiro dia do pós-operatório. Em um animal do grupo tratado houve hemorragia moderada no primeiro dia após a cirurgia. Acredita-se ser normal essa hemorragia discreta, atribuída ao trauma cirúrgico sofrido por todos os cães de ambos os grupos, e o fato de que em somente um animal do grupo tratado essa hemorragia ter se apresentado de intensidade maior (moderada) sugere uma resposta intrínseca desse animal.

No grupo controle, seis animais apresentaram deiscência de suturas antes do oitavo dia de pós-operatório, sendo que um deles não apresentou qualquer grau de edema ou dor. Em um cão esta deiscência ocorreu no quinto dia, apesar de já existirem sinais de cicatrização parcial da ferida cirúrgica. No grupo tratado, houve deiscência de sutura em dois animais ao segundo dia. Apesar das diferenças entre os dois grupos, conforme sugeriu Duarte et al. (2003), a causa da deiscência foi atribuída à tensão local, associada à presença de edema e/ou hemorragia, não sendo atribuída à alimentação, uma vez que foi amolecida nos primeiros sete dias para todos os animais de ambos os grupos.

Todos os sinais e sintomas de reação inflamatória observados foram atribuídos ao trauma cirúrgico sofrido, e não aos materiais utilizados, que não desencadearam reação inflamatória intensa. Assim, os achados clínico-cirúrgicos deste experimento concordam com aqueles citados por Moon et al. (1996), Magalhães et al. (2002) e Donos et al. (2004). Portanto, sugere-se que os produtos são bem tolerados pelos tecidos bucais, sendo considerados biocompatíveis, e com aplicação clínica sem riscos transoperatórios, características desejadas conforme citado por Oliveira et al. (1999) e Sicca et al. (2000).

Os animais do grupo controle obtiveram logo após a cirurgia experimental e nas radiografias do sétimo dia pós-cirúrgico grau 0, ou seja, ausência de radiopacidade (Fig.2A). Borges (1998) afirma que no processo de cicatrização do tecido ósseo inicialmente se desenvolve tecido fibrovascular no foco da lesão, que apresenta radiopacidade insuficiente para percepção ao exame radiográfico, não se podendo, portanto, descartar a possibilidade de estar ocorrendo reparação óssea.

No grupo tratado, imediatamente após a cirurgia, o defeito mostrou-se radiopaco, sendo classificado como grau 4 (Fig.2B). Aos sete dias, uma diminuição na radiopacidade foi visualizada quando comparada com a radiopacidade imediatamente após a cirurgia experimental, porém ainda classificada como grau 4.

No grupo controle, aos 14 dias, houve um aumento gradativo da densidade e, conseqüentemente, da radiopacidade, sugestivo de formação de osso novo.

Nos animais do grupo tratado, aos 14 dias, um halo com radiopacidade inferior a do osso vizinho (grau 1) foi visualizado ao redor de toda a falha, com radiopacidade central ainda classificada como grau 4 (Fig.3A). A redução da radiopacidade observada nas bordas do defeito pode sugerir a degradação ou reabsorção dos materiais e formação de tecido conjuntivo, indicando o início da reparação óssea. Isto porque a formação de novo osso é um processo que inclui a organização de um tecido conjuntivo; diferenciação deste tecido em tecido ósseo e posterior maturação desse tecido ósseo em osso lamelar ou trabecular (ARAÚJO et al., 1997) e, de acordo com Borges (1998), o tecido fibrovascular desenvolvido inicialmente apresenta radiopacidade insuficiente para percepção em radiografias.

No grupo controle continuou ocorrendo um aumento da densidade devido à formação de novo osso e, conseqüentemente, da radiopacidade, conforme acredita

Borges (1998). Assim, aos 21 dias, no grupo controle, visualizou-se um aumento da radiopacidade dos defeitos, sendo classificada como grau 1.

Aos 21 dias, no grupo tratado, a radiopacidade do defeito manteve-se superior a do osso adjacente na área central (grau 4), com manutenção do halo em torno dela, de radiopacidade grau 1, de tamanho maior em relação ao halo observado aos 14 dias (Fig.3B).

No grupo tratado, aos 30 dias, em alguns animais não se distinguiu a região do defeito produzido (grau 3), enquanto na maioria dos cães, continuou um aumento do halo de radiopacidade grau 1 circunscrevendo a área defeituosa. Acredita-se que esse aumento no halo ao redor da falha seja sugestivo da reabsorção da matriz óssea bovina mineralizada enxertada.

Aos 42 dias, nos animais do grupo tratado, o defeito apresentou radiopacidade semelhante a do osso vizinho à falha (grau 3) na maioria dos cães, apesar do defeito ainda ter sido perceptível.

No grupo controle, aos 42 dias, o defeito ainda foi perceptível, com radiopacidade grau 2 na periferia e grau 1 no centro (Fig.4A), sugerindo que o crescimento ósseo aconteceu primeiramente na periferia da falha, concordando com os achados experimentais de Matsuura et al. (1995) onde a formação de osso aconteceu paralelamente às superfícies radiculares de maneira mais rápida que na área interradicular central da lesão. O aumento da radiopacidade sugere um processo normal de reparação óssea, com início da periferia para o centro do defeito.

No grupo controle, aos 60 dias, os defeitos ainda foram radiograficamente visíveis, apresentando radiopacidade grau 2, o mesmo acontecendo aos 90 e 120 dias após o ato cirúrgico. Assim, acredita-se que o período de observação deste experimento (120 dias) não foi suficiente para que ocorresse a completa mineralização do novo osso formado.

No grupo tratado, aos 60 dias, o defeito se encontrou pequeno e central. Aos 90 dias, a falha não foi mais visualizada (Fig.4B), pois o defeito apresentou radiopacidade semelhante ao osso vizinho (grau 3), o mesmo acontecendo aos 120 dias (Fig.4C). Dessa forma, radiograficamente pode-se afirmar que o processo de reparação do osso alveolar da mandíbula de cão foi mais rápido no grupo tratado com matriz óssea bovina mineralizada associada à membrana de colágeno, acreditando-se no potencial

osteocondutor desses materiais utilizados, concordando com os achados de Donos et al. (2004).

Assim, os resultados radiográficos foram aqueles esperados para biomateriais com potencial osteocondutor, uma vez que a matriz óssea bovina mineralizada possivelmente sofreu reabsorção simultânea à formação de tecido conjuntivo quando, então, começou-se a observar regiões de radiopacidade classificada como grau 1, e a medida que este tecido conjuntivo foi se diferenciando em tecido ósseo, começou-se a visualizar um aumento gradual da radiopacidade até que o novo osso formado apresentou-se da mesma maneira que o tecido ósseo adjacente (grau 3), conforme sugerido por Borges et al. (1998).

Portanto, tais observações levam a sugerir a aplicação de matriz óssea bovina mineralizada conjuntamente com a membrana de colágeno seguindo a técnica da regeneração tecidual guiada (RTG) em situações onde ocorreu perda de osso alveolar mandibular, conforme as conclusões de Donos et al. (2004).

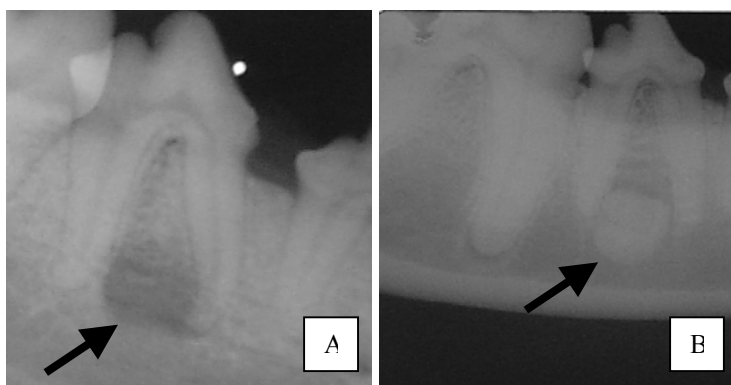


Figura 2 – Exame radiográfico da mandíbula de um cão submetido à cirurgia experimental para realização de defeito ósseo entre as raízes do quarto pré-molar direito. Imediatamente após a cirurgia. A - Grupo controle. Ausência de radiopacidade do defeito em relação ao osso vizinho normal (grau 0) (seta). B – Grupo tratado com associação de matriz óssea bovina mineralizada e membrana de colágeno. Visualização de falha com radiopacidade maior do que a do osso adjacente, considerado normal (grau 4) (seta).

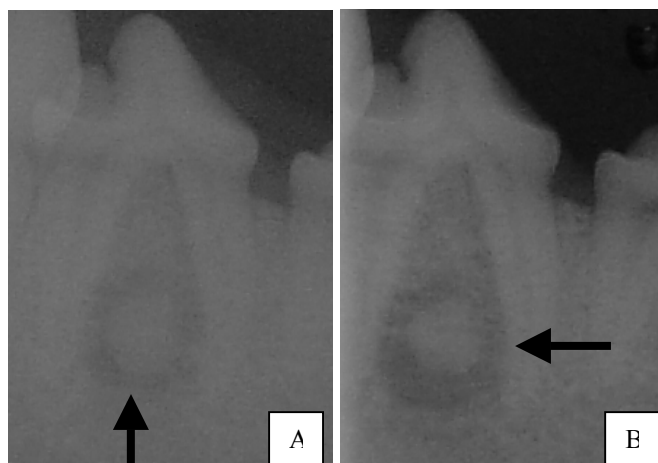


Figura 3 - Exame radiográfico da mandíbula de um cão submetido à cirurgia experimental para realização de defeito ósseo entre as raízes do quarto pré-molar direito. Grupo tratado com associação de matriz óssea bovina e membrana de colágeno. A - Aos 14 dias. Halo com menor radiopacidade (grau 1) ao redor de toda a falha, com radiopacidade maior (grau 4) que o osso vizinho considerado normal (seta). B - Aos 21 dias, a radiopacidade do defeito manteve-se superior a do osso adjacente na área central (grau 4), com aumento no tamanho do halo em relação ao halo aos 14 dias (seta).

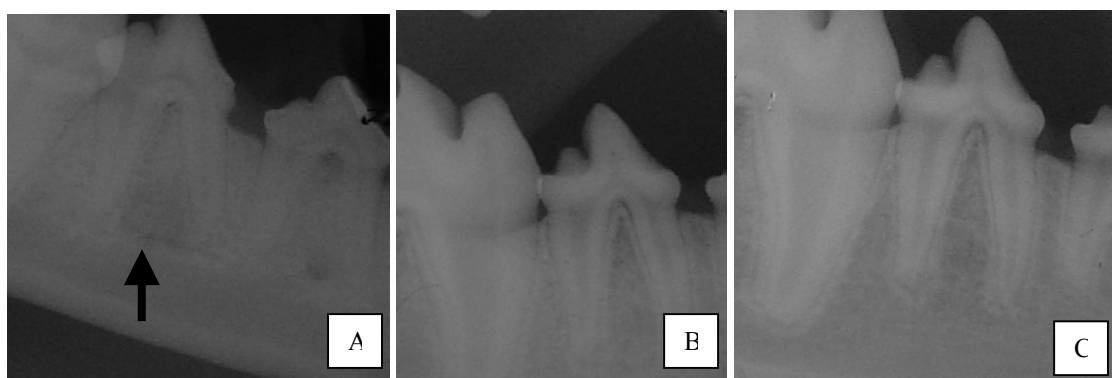


Figura 4 – Exame radiográfico da mandíbula de um cão submetido à cirurgia experimental para a realização de um defeito ósseo entre as raízes do quarto pré-molar direito. A – Grupo controle, aos 42 dias, defeito perceptível (seta). B – Grupo tratado com associação de matriz óssea bovina e membrana de colágeno. Aos 90 dias, falha não mais visualizada. Defeito com radiopacidade semelhante ao osso vizinho (grau 3). C - Aos 120 dias, no grupo tratado, não visualização do defeito que apresentou radiopacidade semelhante a do osso adjacente (grau 3).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados clínico-cirúrgicos e radiográficos obtidos e nas condições deste trabalho, foi possível chegar às seguintes conclusões:

1 - O preenchimento do defeito ósseo provocado com um material de radiopacidade semelhante a do osso acontece de maneira mais rápida quando se utiliza a associação matriz óssea bovina mineralizada e membrana de colágeno no osso alveolar mandibular de cão;

2 - A associação matriz óssea bovina mineralizada e membrana de colágeno substitui o tecido ósseo de maneira eficiente, por comportar-se de maneira biocompatível e apresentar características osteocondutoras, podendo ser utilizada com segurança para auxiliar no reparo alveolar mandibular de cão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLIOT, B., PIOTROWSKI, B., MARIN, P. et al. Regeneration procedures in immediate transmucosal implants: an animal study. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, v. 14, n. 6, p. 841-848, 1999.

ARAÚJO, M. G., BERGLUNDH, T., LINDHE, J. On the dynamics of periodontal tissue formation in degree III furcation defects. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 24, n. 10, p. 738-746, 1997.

BORGES, A. P. B. O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço distal da tíbia de cães (Canis familiares). Estudo clínico-cirúrgico, radiográfico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodispersão. Belo Horizonte: UFMG, Escola de Veterinária, 1998, 111p. (Tese, Doutorado).

- DONOS, N., LANG, N. P., KAROUSSIS, I. K. et al. Effect of GBR in combination with deproteinized bovine bone mineral and/or enamel matrix proteins on the healing of critical-size defects. *Clinical Oral Implants Research*, v. 15, n. 1, p. 101-111, 2004.
- DUARTE, T. S. Osseointegração da hidroxiapatita sintética no processo alveolar da mandíbula de cães. Viçosa: UFV, Departamento de Veterinária, 2003, 58 p. (Tese, Mestrado).
- EMILY, P., SAN ROMÁN, F., TROBO, J. I. et al. Periodontia. Enfermidade periodontal. In: RÓMAN, F. S. Atlas de Odontologia de Pequenos Animais. (1^a edição). São Paulo: Manole, 1999. p. 111 – 112.
- GIOSO, M. A. & CORREA, H. L. Odontologia veterinária. *Medvep – Revista Brasileira de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais de Estimação*, v. 1, n. 1, p. 1-76, 2003.
- JUNG, R. E., GLAUSER, R., SCHÄRER, P. et al. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. *Clinical Oral Implants Research*, v. 14, n. 5, p. 556-568, 2003.
- MAGALHÃES, D., MENEZES, H. H. M., TAGA, M. Perspectivas atuais na utilização dos biomateriais em regeneração periodontal. *Revista do Conselho Regional de Odontologia de Minas Gerais*, v. 8, n. 1, p. 9-15, 2002.
- MATSUURA, M., HERR, Y., HAN, K. et al. Immunohistochemical expression of extracellular matrix components of normal and healing periodontal tissues in the beagle dog. *Journal of Periodontology*, v. 66, n. 7, p. 579-593, 1995.
- MOON, I., CHAI, J., CHO, K. et al. Effects of polyglactin mesh combined with resorbable calcium carbonate or replemineform hydroxyapatite on periodontal repair in dogs. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 23, n. 10, p. 945-951, 1996.

OLIVEIRA, R. C., SICCA, C. M., SILVA, T. L. et al. Efeito da temperatura de desproteinização no preparo de osso cortical bovino microgranular. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular em subcutâneo de ratos. Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru, v. 7, n. 3/4, p. 85-93, 1999.

SICCA, C. M., OLIVEIRA, R. C., SILVA, T. L. et al. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular a enxertos de osso cortical bovino em subcutâneo de ratos. Efeito do tamanho da partícula. Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru, v. 8, n. 1/2, p. 1-10, 2000.

CAPÍTULO 4. MATRIZ ÓSSEA BOVINA MINERALIZADA NA REPARAÇÃO ALVEOLAR DA MANDÍBULA DE CÃO. ASPECTOS HISTOLÓGICOS

FÓFANO, Gisele; Universidade Federal de Viçosa.

RESUMO

Vários fatores, entre eles a doença periodontal, podem levar à reabsorção do osso alveolar. Com o objetivo de restaurar o osso perdido, avaliou-se histologicamente a matriz óssea bovina mineralizada como substituto ósseo na reparação alveolar da mandíbula de cães. Para tal, foram utilizados 32 cães, divididos em dois grupos. Defeitos de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm foram criados entre as raízes do quarto pré-molar direito na superfície vestibular do osso alveolar. Em um grupo, esses defeitos foram totalmente preenchidos com o xenoenxerto, enquanto no outro grupo, permaneceram sem tratamento, sendo utilizados como controle. Foi coletado, de dois animais de cada grupo, biópsia do sítio operado aos 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 dias e foram realizadas avaliações histológicas. No grupo controle, o processo de formação óssea se iniciou aos 14 dias e evoluiu progressivamente até os 120 dias, quando não foi mais distinguível o limite entre a periferia da falha e o novo osso formado. No grupo tratado, logo ao sétimo dia observou-se abundante celularidade ao redor do material e o início do processo de reparação, que aos 60 dias já havia preenchido todo o defeito produzido. Além disso, nenhuma reação do tipo corpo estranho foi observada e, portanto, pode-se concluir que o material utilizado apresenta características desejáveis a um substituto ósseo como biocompatibilidade e propriedade osteocondutora, sendo uma alternativa para o auxílio da reparação óssea alveolar.

Palavras-chave: xenoenxerto, osso alveolar, reparação óssea.

ABSTRACT

Several factors, among them the periodontal disease, they can take to the reabsorption of the alveolar bone. With the objective of restoration the lost bone, the

mineralized bovine bone matrix was evaluated histologically as bone substitute in the alveolar reparation of the jaw of dogs. For such, 32 dogs were used, divided in two groups. Defects of approximately 6 x 5 x 5 mm were created among the roots of the fourth right premolar in the vestibular surface of the alveolar bone. In a group, the defect was filled with mineralized bovine bone matrix, while in the other group, they stayed without treatment, being used as control. It was collected, of two animals of each group, biopsy of the local operated to the 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 and 120 days and histological evaluations were accomplished. In the group control, the process of bone formation began to the 14th day and it developed progressively until the 120th day, when the limit between the periphery of the flaw and the new formed bone was not more distinguishable. In the group treated only with the mineralized bovine bone matrix, right at seventh it was observed abundant cellularity around the material and the beginning of the repairing process, that it had already filled out the whole produced defect at the 60th day. Besides, no reaction of the strange body type was observed and, therefore, it can be concluded that the used material presents desirable characteristics to a substitute bone as biocompatibility and property osteoconductor, being an alternative for the aid of the alveolar bone repairing.

Key words: xenograft, alveolar bone, bone repair.

INTRODUÇÃO

Dentre os problemas bucais que acometem os pequenos animais pode-se citar, especialmente, a doença periodontal. Sua principal causadora é a placa bacteriana, capaz de danificar as estruturas que protegem e sustentam o dente (periodonto), resultando em processos inflamatórios e, posteriormente, reabsorção dessas estruturas (GIOSO & CORREA, 2003).

Os objetivos da terapia periodontal são interromper a ação inflamatória da placa bacteriana, estacionando a progressão da doença, e possibilitar a regeneração das estruturas perdidas. Assim, os procedimentos regenerativos têm como objetivo a formação de novo aparato de inserção na área envolvida pela periodontopatia (FONSECA et al., 1994; SONOHARA & GREGHI, 1994; MATSUURA et al., 1995;

GIANNOBILE et al., 1998), sendo os enxertos ósseos, dentre outros, exemplos de tratamentos regenerativos ou reconstrutivos (GIANNOBILE et al., 1998).

A reparação periodontal é um fenômeno complexo com uma sequência bem definida de atividades celulares: migração, proliferação, diferenciação e formação de componentes da matriz, específicos dos tecidos periodontais, pelas células diferenciadas (MATSUURA et al., 1995). Nessas circunstâncias, materiais biocompatíveis passam a ser uma opção por induzir, promover ou tornar mais rápida a reparação (MAGALHÃES et al., 2002). Assim, diferentes materiais de enxerto ósseo têm sido propostos para dar suporte à reparação alveolar (MOON et al., 1996).

Os enxertos xenógenos ou heterógenos são obtidos de espécies diferentes, sendo seu mecanismo de ação dependente de sua origem e constituição (OLIVEIRA et al., 1999) e buscam evitar os aspectos desfavoráveis dos materiais autógenos, como necessidade de um segundo sítio cirúrgico, e dos homógenos, como a possibilidade de contaminação e a necessidade de armazenamento especial (MAGALHÃES et al., 2002; SANADA et al., 2003).

O objetivo do presente trabalho foi estudar, histologicamente, o efeito da matriz óssea bovina mineralizada na reparação alveolar de defeito provocado na mandíbula de cães.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 32 cães, clinicamente sadios, isentos de periodontopatias, pesando de 8 a 16 kg, provenientes do canil experimental do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos iguais e receberam ivermectina ¹ (0,3 mg/kg) como medicação antiparasitária. Um grupo não recebeu tratamento, sendo utilizado como controle, e o outro grupo foi tratado com matriz óssea bovina mineralizada ², com granulação na faixa de 450 a 750 microns.

Os cães foram medicados com uma associação de espiramicina (23,5 mg/kg) e metronidazol (12,5 mg/kg) ³ por via oral, a cada 24 horas, durante os três dias que

¹ - Ivomec 1 % - Merial Ltda.

² - Pro – Bone Matriz Mineral Óssea Bovina Granulada – Proline Biomédica.

³ - Stomorgyl 10 ® – Merial Ltda.

precederam o procedimento cirúrgico e no dia do mesmo. Após jejum hídrico e sólido de 12 horas, os animais foram sedados com acepromazina ⁴ (0,1 mg/kg), por via intravenosa, receberam indução e manutenção anestésica com pentobarbital sódico 3% ⁵ (dose total de 15 mg/kg). Sequencialmente, foram intubados com sonda endotraqueal, posicionados em decúbito lateral esquerdo, a cavidade oral higienizada com solução de clorexidine 2% e foi colocado um abre-boca.

A área a ser operada, correspondente ao quarto pré-molar mandibular direito, foi infiltrada com lidocaína 2% com vasoconstritor ⁶ com a finalidade de diminuir o sangramento e um retalho mucoperiosteal foi criado. Para isso, foi feita uma incisão, utilizando-se uma lâmina de bisturi número 11, no sulco gengival no sentido rostrocaudal, que se estendeu ventralmente partindo das suas bordas rostral e caudal. O retalho foi, então, deslocado apicalmente expondo a superfície vestibular do osso alveolar. Um defeito ósseo de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm foi provocado no osso alveolar entre as raízes do quarto pré-molar (Fig.1A) com o auxílio de uma broca esférica número 8 ⁷ acoplada a um motor de baixa rotação ⁸ sob constante irrigação de solução salina isotônica ⁹.

Em um grupo o defeito permaneceu sem tratamento, servindo como controle, e no outro foi completamente preenchido com matriz óssea bovina mineralizada. Para tal procedimento, o material foi colocado sobre sangue do próprio animal, dentro do sítio da falha, e prensado levemente com um instrumento de ponta romba ¹⁰ com o objetivo de preencher todos os espaços (Fig.1B). Em todos os cães, o retalho mucoperiosteal foi reposicionado e suturado com pontos simples separados utilizando fio absorvível de poliglactina 4-0 ¹¹ (Fig.1C).

No pós-operatório, os animais receberam tratamento com uma associação de espiramicina (23,5 mg/kg) e metronidazol (12,5 mg/kg) por via oral e ketoprofeno 1% ¹² (0,1 mg/kg) injetável, por via subcutânea, a cada 24 horas durante três dias. O local

⁴ - Acepran ® 1% - Univet.

⁵ - Pentobarbital sódico 3% - Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda.

⁶ - Lidovet – Bravet Ltda.

⁷ - KG Sorensen ®.

⁸ - Microdent ® Aparelhos Odontológicos.

⁹ - Solução fisiológica ARBORETO ®.

¹⁰ - Brunidor para amálgama – Golgran.

¹¹ - Vicryl 4-0 ® - Ethicon.

¹² - Ketofen 1 % ® - Rhodia – Mérieux.

operado foi higienizado diariamente com solução de clorexidine a 2%, por quatorze dias, e os cães, durante uma semana, foram mantidos em baias individuais e alimentados duas vezes ao dia com ração comercial ¹³ amolecida e água à vontade. Posteriormente, passaram para baias coletivas com quatro animais cada, alimentados com a mesma ração comercial, porém em sua forma sólida, até o término do experimento.

Nos dias 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 do pós-operatório, foi feita biópsia em dois animais de cada grupo, utilizando o mesmo acesso e seguindo o mesmo protocolo anestésico-cirúrgico descrito anteriormente.

A amostra constou do quarto pré-molar mandibular direito e seu alvéolo, medindo aproximadamente 1,5 x 1,0 x 0,5 cm. Cada amostra foi seccionada nos planos longitudinal e transversal e fixada em formol a 10%, tamponado, durante cinco dias. Após a fixação, os fragmentos foram descalcificados em ácido fórmico a 8% associado ao ácido clorídrico a 8% durante 30 dias sob vácuo moderado. Em sequência, foram lavados em água corrente por 10 minutos e, então, desidratados em álcool 70, 80, 90, 95 e 100 % por 24 horas em cada, sendo realizadas duas passagens no álcool absoluto. Em seguida, a amostra foi imersa em xilol puro por cerca de 40 minutos para que se processasse a diafanização. Os fragmentos foram embebidos em dois banhos de parafina, de 40 minutos cada, em estufa a 60°C e, então, incluídos em parafina a temperatura ambiente durante 24 horas. A seguir, cortes de cinco micrômetros de espessura foram obtidos em micrótomo e montados em lâmina de vidro. Os fragmentos foram corados pela técnica de hematoxilina – eosina (HE) e examinados através de microscopia óptica ¹⁴.

Foi feita uma análise qualitativa descritiva dos resultados e comparação entre os dois grupos, avaliando-se as reações ao xenoenxerto e a reparação do osso alveolar.

¹³ - Selection Special Croc ® – Royal Canin Ltda.

¹⁴ - Microscópio Óptico Binocular – Eclipse E600 – Nikkon – Japan.

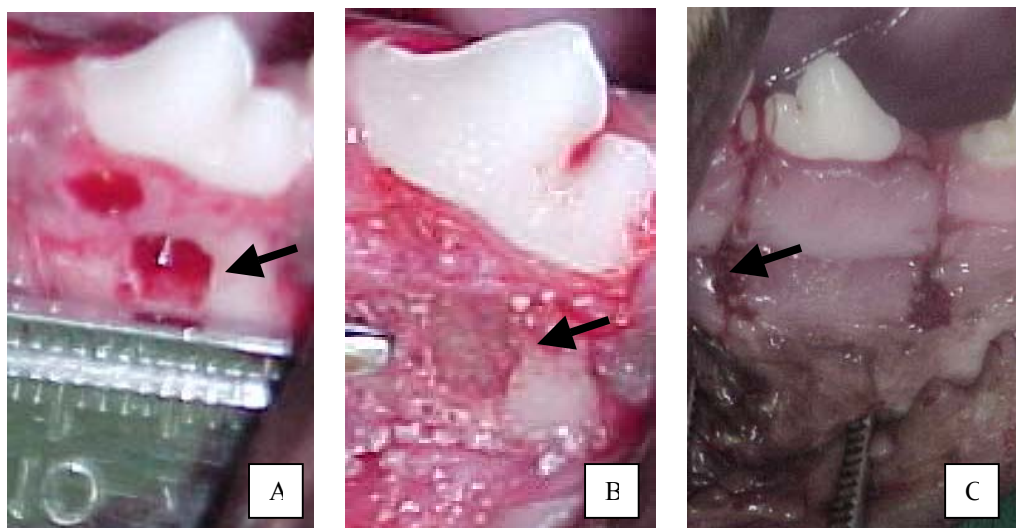


Figura 1 –Defeito ósseo provocado entre as raízes do quarto pré-molar mandibular direito em cão submetido à cirurgia experimental. A - Falha óssea com aproximadamente 6 x 5 x 5 mm (seta). B – Total preenchimento com matriz óssea bovina mineralizada (seta). C - Retalho mucoperiosteal reposicionado sobre o osso alveolar e suturado com pontos simples separados utilizando fio absorvível de poliglactina 4-0 (seta).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No sétimo dia após a cirurgia experimental, nos animais do grupo controle, observou-se início de reabsorção das bordas do defeito com formação de uma matriz óssea e grande proliferação de tecido conjuntivo frouxo na sua superfície. A falha estava preenchida por um tecido de granulação pouco vascularizado (Fig.2A) com maior quantidade de fibras colágenas. No grupo tratado, aos sete dias visualizou-se uma vascularização precária na região central do defeito em comparação a uma abundante vascularização nas bordas do mesmo (Fig.3A), sugestiva de início da reparação óssea, uma vez que o crescimento ósseo acontece primeiramente na periferia da falha, de acordo com os achados experimentais de Matsuura et al. (1995) que observou a formação de osso paralelamente às superfícies radiculares de maneira mais rápida que na área inter-radicular central da lesão. Observou-se, ainda, abundante celularidade ao redor do produto enxertado (Fig.3B), além de partículas do enxerto. Acredita-se que

grande parte do material enxertado se perca durante o processamento das amostras, uma vez que este somente foi prensado no sítio da falha e que se visualize, na maioria das vezes, uma “imagem negativa” do produto que, mineralizado, também sofreu processo de descalcificação. Diferentemente dos achados histológicos desse experimento, onde não foi perceptível um marcante infiltrado inflamatório, Sanada et al. (2003) encontraram, aos sete dias, uma reação inflamatória aguda, porém atribuída à desorganização tecidual causada pelo ato operatório. Acredita-se que o uso, no período pós-cirúrgico, de antiinflamatórios, explique essa diferença entre os achados experimentais.

Aos 14 dias, a maior parte da borda do defeito havia sido reabsorvida no grupo controle. No grupo tratado, observou-se início da formação óssea (Fig.3C) e foi visualizado um tecido conjuntivo frouxo mais desorganizado na região central da falha comparado àquele localizado nas bordas da mesma, demonstrando que o crescimento ósseo acontece primeiramente na periferia do defeito, conforme afirmou Borges (1998). Também se visualizou, como observou Sanada et al. (2003), partículas do material enxertado (Fig.3D) e acentuada vascularização. Porém, de maneira diferente do observado por Sanada et al. (2003), células gigantes não foram encontradas.

Após 21 dias, no grupo controle, observou-se formação de novo tecido ósseo que se apresentou sob a forma de trabéculas espessas sobre a superfície do defeito. Também no grupo tratado, observou-se formação óssea, um tecido conjuntivo mais organizado e trabéculas ósseas (Fig.4A e 4B), presença de celularidade e vascularização abundantes, que Sanada et al. (2003) descreveu como intensa. Ainda no grupo tratado, aos 30 dias, observou-se formação óssea (osso trabecular) com preenchimento da falha e abundante celularidade (osteoblastos), além da presença pouco significativa de infiltrado inflamatório.

Nos animais do grupo controle, aos 42 dias, observou-se aumento na formação de osso trabecular apenas na periferia do defeito com algumas regiões ainda não reabsorvidas, sem a organização em osso lamelar (Fig.2B). No grupo tratado, se observou mais tecido ósseo que tecido conjuntivo (Fig.4C) e ausência de infiltrado inflamatório.

Aos 60 dias, no grupo tratado, a reparação óssea já estava completa (osso compacto) (Fig.4D), enquanto no grupo controle, ainda aos 90 dias, somente a periferia

do defeito havia sido totalmente preenchida por osso compacto, estando o centro da falha preenchido por osso trabecular e tecido conjuntivo (Fig.2C). Todavia, no grupo controle, aos 120 dias, não havia mais limite entre as margens do defeito e o novo osso formado. Portanto, nesta fase, o defeito encontrava-se completamente preenchido com osso compacto ou lamelar, seguindo um processo normal de reparação óssea.

A resposta biológica tecidual determinada em função das alterações inflamatórias (alterações vasculares e infiltrado inflamatório), conforme descreveu Sanada et al. (2003), em especial a falta de sinais de reações do tipo corpo estranho (DONOS et al., 2004); sugere que o xenoenxerto foi bem tolerado pelos tecidos orais. Portanto, os resultados encontrados confirmam as observações de Magalhães et al. (2002) e Sanada et al. (2003) sobre a possível obtenção de um xenoenxerto biocompatível através de um correto processamento e purificação do osso bovino, que fornece um biomaterial inorgânico através do tratamento com solventes orgânicos, álcalis e ácidos com concentração e temperatura controlados.

A formação óssea é um processo que inclui a organização de um tecido conjuntivo fibroso; a diferenciação desse tecido em tecido ósseo e maturação desse tecido ósseo em osso lamelar ou trabecular (ARAÚJO et al., 1997). Os resultados obtidos nesse trabalho confirmam as propriedades osteocondutoras da matriz óssea bovina mineralizada, uma vez que o processo de reparação do osso alveolar com total preenchimento da falha produzida aconteceu de forma mais rápida no grupo tratado, concordando com os achados de Jung et al. (2003).

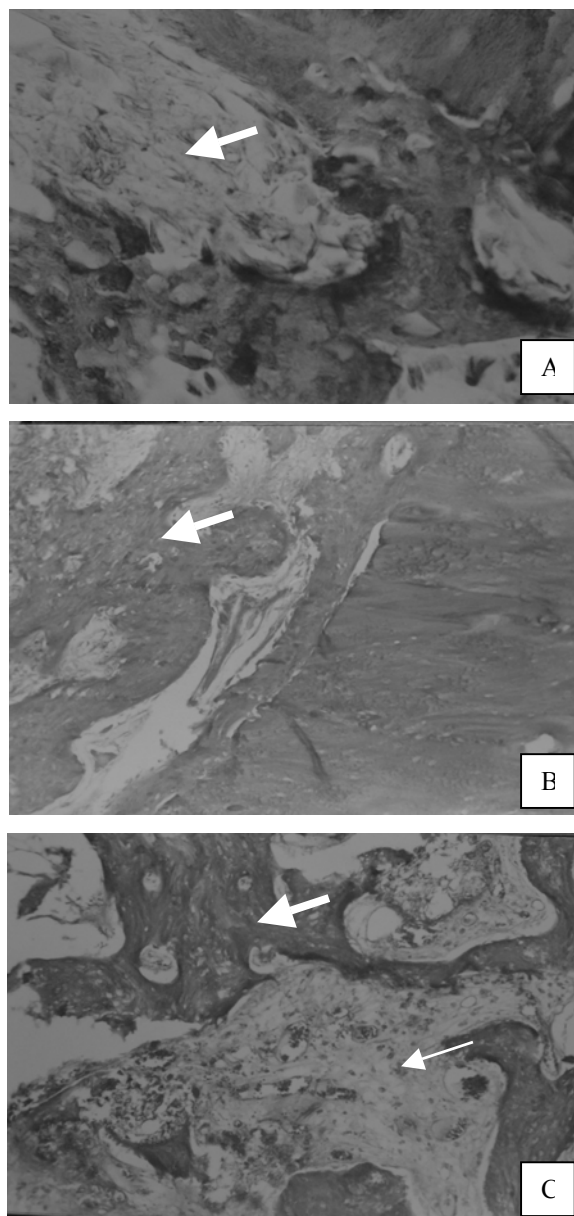


Figura 2 - Histologia da região do defeito provocado no osso alveolar entre as raízes do quarto pré-molar. Cães do grupo controle. A – Aos 7 dias. Preenchimento da falha com um tecido de granulação pouco vascularizado (seta). 170X. B - Aos 42 dias. Aumento na formação de osso trabecular na periferia do defeito, sem a organização em osso lamelar (seta). 50X. C – Aos 90 dias. No centro da falha pôde-se observar osso trabecular (seta espessa) e tecido conjuntivo (seta delgada). 45X.

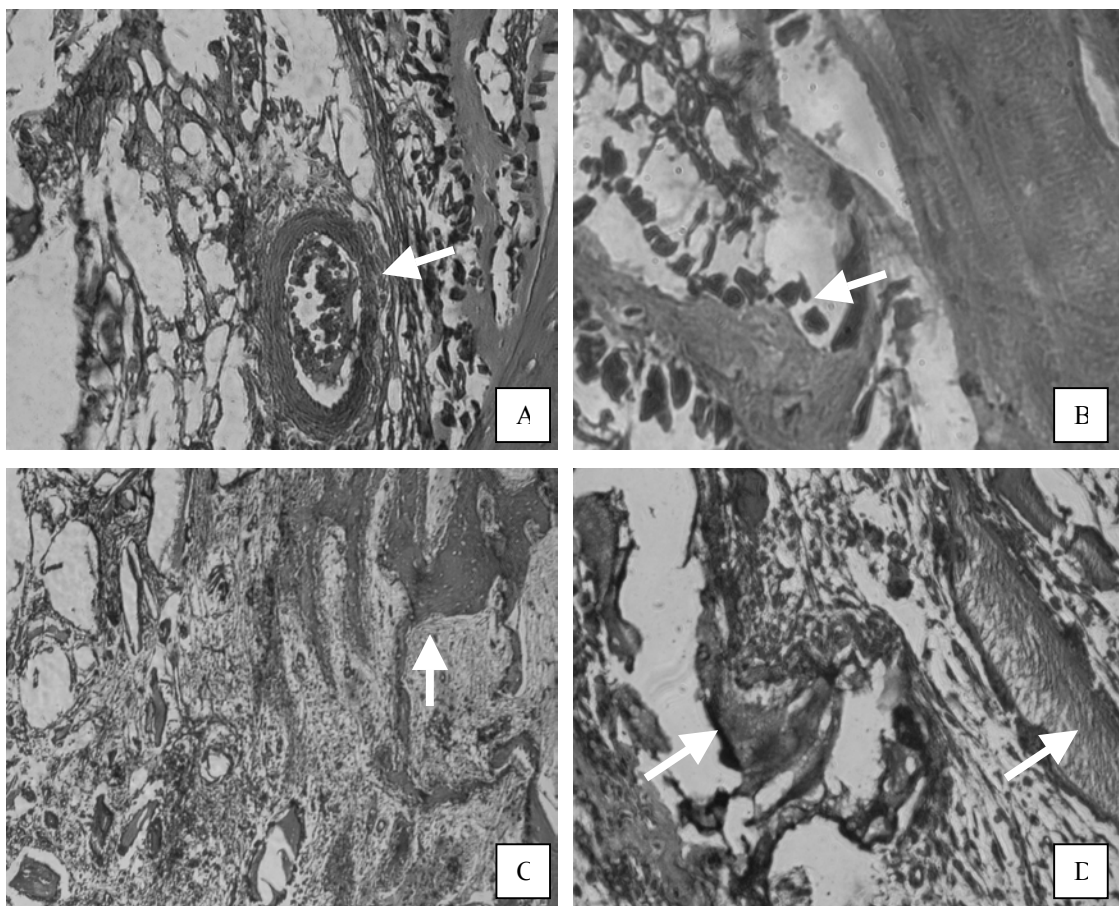


Figura 3 – Histologia da área do defeito provocado no osso alveolar de cães submetidos à cirurgia experimental. Grupo tratado. A – Aos 7 dias. Vascularização nas bordas do defeito (seta). 270X. B – Aos 7 dias. Detalhe para a abundante celularidade (osteoblastos) (seta). 700X. C – Aos 14 dias. Início de formação óssea (seta). 70X. D - Aos 14 dias. Partículas do material enxertado (setas). 270X.

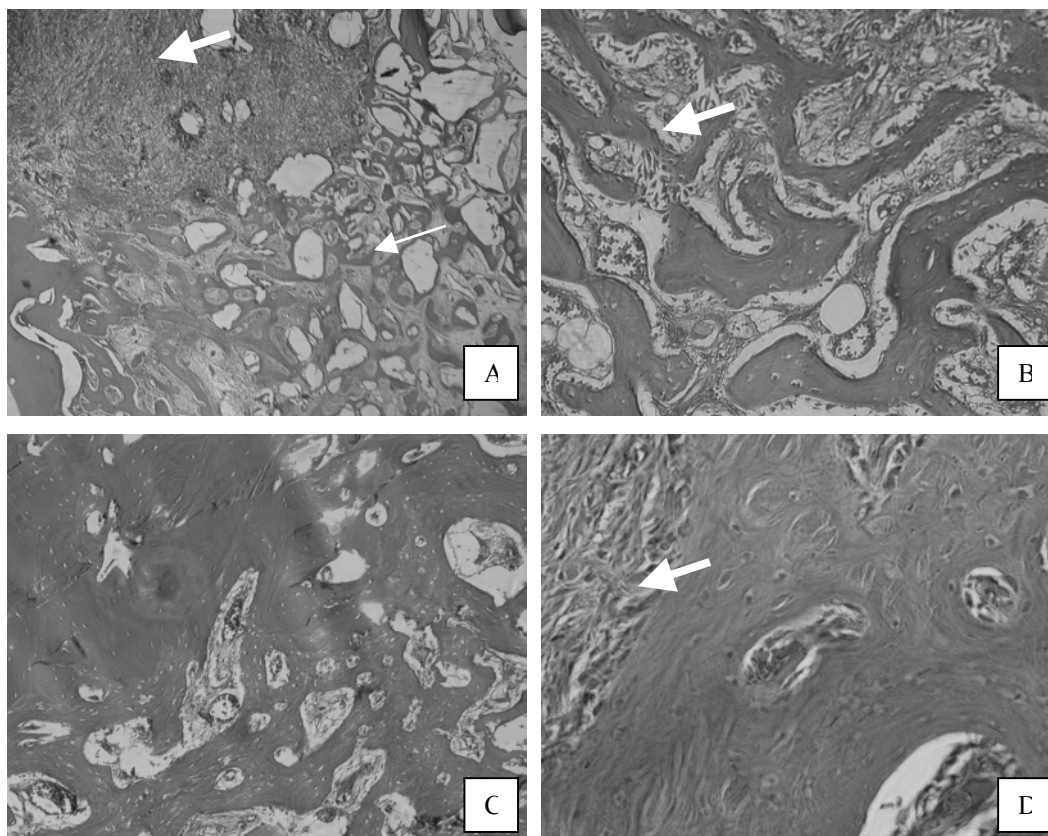


Figura 4 – Histologia da área do defeito provocado no osso alveolar de cães submetidos à cirurgia experimental. Grupo tratado. A - Aos 21 dias. Presença de um tecido conjuntivo melhor organizado (seta espessa) e de trabéculas ósseas (seta delgada). Visualização de duas diferentes etapas do processo de cicatrização, uma mais inicial e outra mais tardia. 30X. B – Aos 21 dias. Formação óssea (seta). 120X. C – Aos 42 dias. Evidente processo de formação óssea. 60X. D –Aos 60 dias. Entre as trabéculas ósseas visualização de tecido conjuntivo frouxo mais celular (seta). 270X.

CONCLUSÕES

Com base na análise histológica dos resultados obtidos e nas condições deste trabalho, foi possível chegar às seguintes conclusões:

1 - A matriz óssea bovina mineralizada comporta-se de maneira biocompatível quando enxertada no processo alveolar da mandíbula (uma vez que não ocorreram reações do tipo corpo estranho) podendo ser utilizada com segurança para auxiliar no reparo alveolar mandibular de cão;

2 - O preenchimento do defeito ósseo acontece de maneira mais rápida quando se utiliza a matriz óssea bovina mineralizada, funcionando como um material osteocondutor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, M. G., BERGLUNDH, T., LINDHE, J. On the dynamics of periodontal tissue formation in degree III furcation defects. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 24, n. 10, p. 738-746, 1997.

BORGES, A. P. B. O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço distal da tíbia de cães (Canis familiares). Estudo clínico-cirúrgico, radiográfico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodispersão. Belo Horizonte: UFMG, Escola de Veterinária, 1998, 111p. (Tese, Doutorado).

DONOS, N., LANG, N. P., KAROUSSIS, I. K. et al. Effect of GBR in combination with deproteinized bovine bone mineral and/or enamel matrix proteins on the healing of critical-size defects. *Clinical Oral Implants Research*, v. 15, n. 1, p. 101-111, 2004.

FONSECA, M. G., CAMPOS JUNIOR, A., RUIZ, L. F. N. Tratamento de lesões de furca pela técnica da regeneração tecidual guiada associada ou não ao enxerto ósseo em neo-formação. *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*, v. 2, n. 4, p. 51-60, 1994.

GIANNOBILE, W. V., RYAN, S., SHIH, M. et al. Recombinant human osteogenic protein-1 (OP-1) stimulates periodontal wound healing in class III furcation defects. *Journal of Periodontology*, v. 69, n. 2, p. 129-137, 1998.

GIOSSO, M. A. & CORREA, H. L. Odontologia veterinária. *Medvep – Revista Brasileira de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais de Estimação*, v. 1, n. 1, p. 1-76, 2003.

- JUNG, R. E., GLAUSER, R., SCHÄRER, P. et al. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. *Clinical Oral Implants Research*, v. 14, n. 5, p. 556-568, 2003.
- MAGALHÃES, D., MENEZES, H. H. M., TAGA, M. Perspectivas atuais na utilização dos biomateriais em regeneração periodontal. *Revista do Conselho Regional de Odontologia de Minas Gerais*, v. 8, n. 1, p. 9-15, 2002.
- MATSUURA, M., HERR, Y., HAN, K. et al. Immunohistochemical expression of extracellular matrix components of normal and healing periodontal tissues in the beagle dog. *Journal of Periodontology*, v. 66, n. 7, p. 579-593, 1995.
- MOON, I., CHAI, J., CHO, K. et al. Effects of polyglactin mesh combined with resorbable calcium carbonate or replemineform hydroxyapatite on periodontal repair in dogs. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 23, n. 10, p. 945-951, 1996.
- OLIVEIRA, R. C., SICCA, C. M., SILVA, T. L. et al. Efeito da temperatura de desproteinização no preparo de osso cortical bovino microgranular. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular em subcutâneo de ratos. *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*, v. 7, n. 3/4, p. 85-93, 1999.
- SANADA, J. T., CANOVA, G. C., CESTARI, T. M. et al. Análise histológica, radiográfica e do perfil de imunoglobulinas após implantação de enxerto de osso esponjoso bovino desmineralizado em bloco em músculo de ratos. *Journal of Applied Oral Science*, v. 11, n. 3, p. 209-215, 2003.
- SONOHARA, M. K. & GREGHI, S. L. A. Avaliação da resposta biológica a diferentes barreiras mecânicas, utilizadas na técnica de regeneração tecidual guiada (RTG). *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*, v. 2, n. 4, p. 96-102, 1994.

CAPÍTULO 5. ASPECTOS HISTOLÓGICOS DA ASSOCIAÇÃO DE MATRIZ ÓSSEA BOVINA MINERALIZADA COM MEMBRANA DE COLÁGENO NA REPARAÇÃO ALVEOLAR DA MANDÍBULA DE CÃO

FÓFANO, Gisele; Universidade Federal de Viçosa.

RESUMO

A doença periodontal, freqüentemente observada em cães adultos, pode levar à reabsorção do osso alveolar. O objetivo deste trabalho foi avaliar histologicamente a matriz óssea bovina mineralizada em associação com uma membrana de colágeno seguindo a técnica da regeneração tecidual guiada (RTG) na reparação alveolar da mandíbula de cães. Para tal, foram utilizados 32 animais, divididos em dois grupos. Defeitos de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm foram criados entre as raízes do quarto pré-molar direito na superfície vestibular do osso alveolar. Em um grupo, o defeito foi totalmente preenchido com o xenoenxerto e coberto pela membrana, enquanto no outro, a falha permaneceu sem tratamento, sendo utilizado como controle. Foram feitas biópsias em dois animais de cada grupo aos 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 dias e realizadas avaliações histológicas. No grupo controle, o processo de formação óssea se iniciou aos 14 dias e evoluiu progressivamente até aos 120 dias, quando não foi mais distinguível o limite entre a periferia do defeito e o novo osso formado. No grupo tratado, observou-se o processo de reparação mais avançado em relação ao grupo controle até os 42 dias. Depois, observou-se um processo inflamatório crônico, até os 120 dias, levando a uma estagnação da reparação óssea. Apesar disso, nenhuma reação do tipo corpo estranho foi observada e, portanto, pode-se concluir que os materiais utilizados apresentam biocompatibilidade, característica desejável para substitutos ósseos e que a membrana, a partir dos 42 dias, provoca reação indesejável.

Palavras-chave: regeneração tecidual guiada, xenoenxerto, osso alveolar, reparação óssea.

ABSTRACT

The periodontal disease, frequently observed in adult dogs, it can take to the reabsorption of the alveolar bone. The objective of this work was to evaluate histologically the association of mineralized bovine bone matrix with a collagen membrane following the guided tissue regeneration technique in the alveolar reparation of the jaw of dogs. For such, 32 animals were used, divided in two groups. Defects of approximately 6 x 5 x 5 mm were created among the roots of the fourth right premolar in the vestibular surface of the alveolar bone. In a group, the defect was totally filled out with the xenograft and covered by the membrane, while in the other it did not receive any treatment, being used as control. It was collected, from two animals of each group, biopsy of the operated ranch at the 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 and 120 days and histological evaluations were accomplished. In the control group, the bone formation process began at the 14th day and it developed progressively until the 120th day, when the limit between the periphery of the flaw and the new formed bone was not more distinguishable. In the group treated with the mineralized bovine bone matrix and collagen membrane, a more advanced repairing process was observed in relation to the control group until the 42th day. Then, a chronic inflammatory process was observed, until the 120th day, taking it to a repairing bone stagnation. In spite of that, no reaction of the strange body type was observed and, therefore, it can be concluded that the used materials present biocompatibility, desirable characteristic to substitute bone and that the membrane, starting from the 42th day, provokes undesirable reaction.

Key words: guided tissue regeneration, xenograft, alveolar bone, bone repair.

INTRODUÇÃO

Complexa é a regeneração periodontal, com uma seqüência bem definida de atividades celulares: migração, proliferação, diferenciação e formação de diferentes componentes da matriz, específicos dos tecidos periodontais, pelas células diferenciadas (MATSUURA et al., 1995). Os osteoblastos iniciam a secreção da matriz óssea, onde as cadeias protéicas passam a ser fosforiladas pela fosfatase alcalina que promove a

agregação de íons fosfato, ânions que atraem o cálcio circulante formando a matriz óssea mineralizada (VALÉRIO, 2003). Em resumo, a formação de osso é um processo que inclui: organização de um tecido conjuntivo, diferenciação desse em tecido ósseo que se organizará em osso lamelar ou trabecular (ARAÚJO et al., 1997). Nessas circunstâncias, materiais biocompatíveis passam a ser boa opção por induzir, promover ou tornar mais rápida a reparação tecidual (MAGALHÃES et al., 2002). Diferentes materiais têm sido propostos para dar suporte à reparação alveolar (MOON et al., 1996), podendo ser classificados como osteogênicos, osteoindutores e osteocondutores. Os osteogênicos referem-se a produtos orgânicos capazes de estimular a formação óssea diretamente a partir de osteoblastos. Os osteoindutores são aqueles capazes de induzir a diferenciação celular, aumentando a formação de osso no local ou estimulando essa formação em um sítio heterotópico. Os osteocondutores permitem a aposição de um novo tecido ósseo na sua superfície, orientando a proliferação celular, requerendo, entretanto, a presença de tecido ósseo pré-existente como fonte de células osteoprogenitoras.

A técnica de regeneração tecidual guiada (RTG) busca impedir que fibroblastos proliferem para dentro da região do defeito ósseo em detrimento aos osteoblastos, mais lentos (OLIVEIRA et al., 1999; SICCA et al., 2000; SANADA et al., 2003). Esse impedimento se dá por uma barreira mecânica (física), uma vez que impossibilita a penetração de células epiteliais e conjuntivas (ISAKA et al., 2001; MAGALHÃES et al., 2002), responsáveis pela inibição da osteogênese (BASDRA et al., 1995; DONOS et al., 2004).

Diferentes materiais são utilizados como barreira (TAL et al., 1996; MAGALHÃES et al., 2002), existindo dois tipos básicos: as membranas reabsorvíveis e as não reabsorvíveis. As últimas apresentam como aspectos negativos a necessidade de um segundo tempo cirúrgico para sua remoção futura e a existência do risco de contaminação de sua porção coronária exposta à cavidade bucal (MAGALHÃES et al., 2002). Segundo Moon et al. (1996), o uso de materiais biodegradáveis, como membranas de colágeno, confirma o potencial reconstrutivo da RTG.

A utilização isolada da membrana não é indicada uma vez que sua invaginação para dentro do defeito compromete a quantidade do osso novo formado. Esse impedimento é mecânico, pela eliminação do espaço necessário à formação óssea

(DONOS et al., 2004). Assim, vários materiais são utilizados em conjunto com barreiras mecânicas (RTG) para manutenção do espaço sob estas e por servir como um arcabouço osteocondutor acelerando a reparação óssea (SCHOU et al., 2003).

As barreiras utilizadas em RTG são freqüentemente suportadas por biomateriais, incluindo enxertos xenógenos (JUNG et al., 2003). Oliveira et al. (1999) e Sicca et al. (2000) concluíram que a matriz óssea bovina mineralizada promoveu resposta tecidual semelhante à descrita na implantação subcutânea de osso autógeno ou alógeno mineralizado, sugerindo seu uso como material de preenchimento. Assim, o objetivo deste trabalho foi, através de análises histológicas, estudar o efeito da associação de uma membrana de colágeno do tipo I modificado, seguindo a RTG, com uma matriz óssea bovina mineralizada no processo reparativo do osso alveolar mandibular de cão, como também a resposta tecidual a esses materiais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 32 cães, clinicamente sadios, isentos de doença periodontal, pesando de 8 a 16 kg, provenientes do canil experimental do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos iguais e receberam ivermectina ⁸ (0,3 mg/kg) como medicação antiparasitária. Enquanto um grupo não recebeu tratamento, o outro foi tratado com matriz óssea bovina mineralizada ² em associação a uma membrana de colágeno ³.

Os cães receberam, como antibioticoterapia profilática, uma associação de espiramicina (23,5 mg/kg) e metronidazol (12,5 mg/kg) ⁴ por via oral, a cada 24 horas, durante os três dias que precederam o procedimento cirúrgico e no dia do mesmo. Após jejum hídrico e sólido de 12 horas, os animais foram sedados com acepromazina ⁵ (0,1 mg/kg), por via intravenosa, receberam indução e manutenção anestésica com pentobarbital sódico 3% ⁶ (dose total de 15 mg/kg) e foram intubados com sonda

⁸ Ivomec 1 % - Merial Ltda.

² - Pro - Bone - Matriz Mineral Óssea Bovina Granulada - Proline Biomédica.

³ - Pro - Guided - Membrana de Colágeno - Proline Biomédica.

⁴ - Stomorgyl 10 - Merial Ltda.

⁵ - Acepran 2,1% - Univet S. A. - Indústria Veterinária.

⁶ - Pentobarbital sódico 3% - Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda.

endotraqueal. Sequencialmente, foram posicionados em decúbito lateral esquerdo, a cavidade oral foi higienizada com solução de clorexidine 2% e foi colocado um abre-boca.

A área a ser operada foi infiltrada com lidocaína 2% com vasoconstritor ⁷ com o objetivo de diminuir o sangramento transoperatório. Um retalho mucoperiosteal na gengiva correspondente ao quarto pré-molar mandibular direito foi criado. Para isso, com uma lâmina de bisturi número 11, foi feita uma incisão no sulco gengival no sentido rostrocaudal, que se estendeu ventralmente partindo das suas bordas rostral e caudal. O retalho foi então deslocado apicalmente expondo a superfície vestibular do osso alveolar (Fig.1A). Um defeito ósseo de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm foi provocado no osso alveolar entre as raízes do quarto pré-molar (Fig.1B) com o auxílio de uma broca esférica número 8 ⁸ acoplada a um motor de baixa rotação ⁹ sob irrigação constante de solução salina isotônica ¹⁰.

Em um grupo o defeito não recebeu tratamento, enquanto a falha no outro grupo foi completamente preenchida com matriz óssea bovina mineralizada com granulação média na faixa de 450 a 750 microns. Para tal procedimento, o material foi colocado dentro do sítio da falha, contendo sangue, e prensado levemente com um instrumento de ponta romba ¹¹ com o objetivo de preencher todos os espaços. Depois, a área foi abundantemente lavada com solução fisiológica e uma membrana de colágeno fibrilado do tipo I modificado, ligeiramente maior do que o defeito produzido, foi colocada recobrimdo toda a região do mesmo. Em todos os cães, o retalho mucoperiosteal foi reposicionado e suturado com pontos simples separados utilizando fio absorvível de poliglactina 4-0 ¹² (Fig.1C).

No pós-operatório, os cães receberam tratamento com uma associação de espiramicina (23,5 mg/kg) e metronidazol (12,5 mg/kg) por via oral e ketoprofeno 1% ¹³ (0,1 mg/kg) injetável, por via subcutânea, a cada 24 horas durante três dias. O local operado foi higienizado diariamente com solução de clorexidine a 2%, por quatorze dias, e os animais, durante uma semana, foram mantidos em baias individuais e

⁷ - Lidovet – Bravet Ltda.

⁸ - KG Sorensen ®.

⁹ - Microdent ® Aparelhos Odontológicos.

¹⁰ - Solução fisiológica ARBORETO ®.

¹¹ - Brunidor para amálgama – Golgran.

¹² - Vicryl 4-0 ® - Ethicon.

¹³ - Ketofen 1 % - Rhodia – Mérieux.

alimentados duas vezes ao dia com ração comercial ¹⁴ amolecida e água à vontade. Posteriormente, os cães passaram para baias coletivas com quatro animais cada, alimentados com a mesma ração comercial, porém em sua forma sólida, até o término do experimento.

Nos dias 7, 14, 21, 30, 42, 60, 90 e 120 do pós-operatório, foi coletada biópsia em dois animais de cada grupo, utilizando o mesmo acesso e seguindo o mesmo protocolo anestésico-cirúrgico descrito anteriormente.

A amostra constou do quarto pré-molar direito em seu alvéolo, medindo aproximadamente 1,5 x 1,0 x 0,5 cm. Cada amostra foi seccionada nos planos longitudinal e transversal e fixada em formol a 10% tamponado durante cinco dias. Após a fixação, os fragmentos foram descalcificados em ácido fórmico a 8% associado ao ácido clorídrico a 8% durante 30 dias sob vácuo moderado. Em sequência, foram lavados em água corrente por 10 minutos e, então, desidratados em álcool 70, 80, 90, 95 e 100 % por 24 horas em cada, sendo realizadas duas passagens no álcool absoluto. Em seguida, as amostras foram imersas em xilol, por um período de 30 a 40 minutos, para que se processasse a diafanização. Os fragmentos foram embebidos em dois banhos de parafina, de 40 minutos cada, em estufa a 60°C e, então, incluídos em parafina a temperatura ambiente durante 24 horas. A seguir, cortes de cinco micrômetros de espessura foram obtidos em micrótomo e montados em lâmina de vidro. Os fragmentos foram corados pela técnica de hematoxilina – eosina (HE) e examinados através de microscopia óptica ¹⁵.

Foi feita uma análise qualitativa descritiva dos resultados e comparação entre os dois grupos, avaliando-se as reações aos materiais e a reparação alveolar.

¹⁴-Selection Special Croc – Royal Canin Ltda.

¹⁵-Microscópio Óptico Binocular – Eclipse E 600 – Nikkon – Japan.

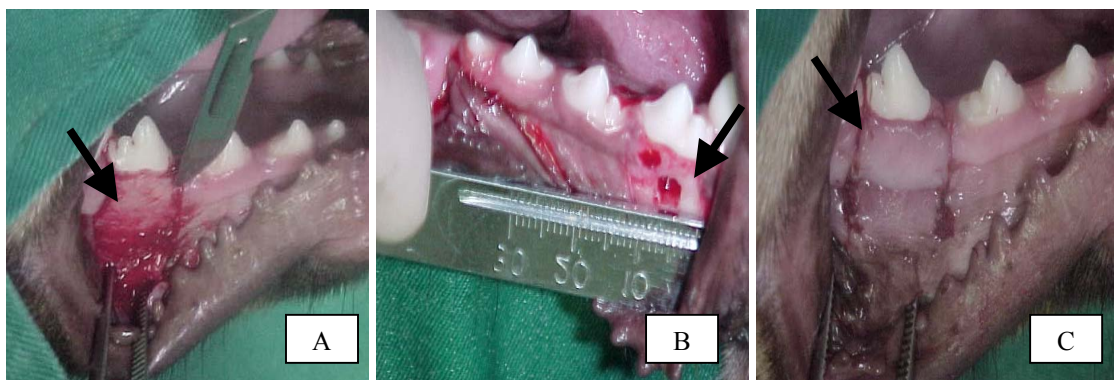


Figura 1 – Produção de um defeito no osso alveolar mandibular em cão submetido à cirurgia experimental. A - Criação de um retalho mucoperiosteal na gengiva correspondente ao quarto pré-molar direito (seta). B - Falha óssea de aproximadamente 6 x 5 x 5 mm entre as raízes do quarto pré-molar direito (seta). C - Retalho mucoperiosteal reposicionado sobre o osso alveolar e suturado com pontos simples separados utilizando fio absorvível de poliglactina 4-0 (seta).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na amostra colhida ao sétimo dia de pós-operatório, nos animais do grupo controle, observou-se início de reabsorção das bordas do defeito com formação de uma matriz óssea e grande proliferação de tecido conjuntivo frouxo na sua superfície. A falha estava preenchida por um tecido de granulação pouco vascularizado (Fig.2A), com grande quantidade de fibras colágenas. Ao sétimo dia, no grupo tratado, visualizou-se uma vascularização precária na região central do defeito em comparação àquela abundante nas bordas do mesmo, sugestiva de início da reparação, uma vez que o crescimento ósseo acontece primeiramente na periferia da falha, de acordo com os achados experimentais de Matsuura et al. (1995). Observou-se, ainda, partículas do enxerto xenógeno (Fig.3A e 3B) e um tecido conjuntivo frouxo mais organizado em comparação ao observado no grupo controle. O processo de reparação do tecido ósseo é altamente dependente da angiogênese (SAADEH et al., 2000). Assim, atribui-se a abundante vascularização observada na periferia do defeito no grupo tratado a um início do processo reparativo, especialmente quando se compara à vascularização que aconteceu no grupo controle, bem menos exuberante.

Aos 14 dias, a maior parte das bordas do defeito havia sido reabsorvida no grupo controle. No grupo tratado, observou-se um tecido conjuntivo frouxo ainda bastante desorganizado na região central da falha em comparação ao localizado nas bordas da mesma, demonstrando, conforme afirmou Borges (1998), que o crescimento acontece primeiramente na periferia da lesão. Observou-se, ainda, na região mais vestibular (superficial) do defeito, próxima à membrana, reabsorção óssea (Fig.3C e 3D) e intensa vascularização.

Após 21 dias, no grupo controle, foi observado formação de novo tecido ósseo que se apresentou sob a forma de trabéculas espessas (Fig.2B). No grupo tratado, também se observou o início da formação óssea e um tecido conjuntivo mais organizado, presença de celularidade e vascularização abundantes. Nas lâminas do grupo tratado, aos 30 dias, visualizou-se grande reação inflamatória nas bordas da falha criada. Diferentemente, Jung et al (2003) trabalhando com um substituto ósseo mineral xenógeno associado a uma membrana de colágeno reabsorvível (RTG) encontraram ausência de sinais inflamatórios aos 30 dias. Possivelmente, tal discrepância de resultados se deva aos produtos utilizados talvez apresentarem diferenças quanto à forma de processamento.

Nos animais do grupo controle, aos 42 dias, observou-se aumento na formação de osso trabecular apenas na periferia do defeito, com algumas regiões ainda não reabsorvidas, e ausência de organização em osso lamelar. Nos cães do grupo tratado, observou-se tecido ósseo praticamente na mesma proporção que tecido conjuntivo e persistência de grande infiltrado inflamatório.

Aos 60 dias, no grupo tratado, visualizou-se presença de um tecido conjuntivo frouxo e delgado osso trabecular sofrendo remodelação). A presença de infiltrado inflamatório contribuiu para o retardo na reparação do osso alveolar.

No grupo controle, aos 90 dias, somente a periferia do defeito havia sido totalmente preenchida por osso compacto. No centro da falha se observou osso trabecular. Todavia, no grupo controle, aos 120 dias, não havia mais limite entre as margens da falha e o novo osso formado. Portanto, o defeito encontrava-se completamente preenchido com osso compacto ou lamelar. Esse processo de cicatrização observado nos cães do grupo controle foi considerado como processo de reparação óssea normal espontâneo.

Diferentemente, no grupo tratado, aos 120 dias, o processo de cicatrização apresentou-se atrasado, com a presença de bastante tecido conjuntivo frouxo, apesar do osso trabecular visualizado. Infiltrado inflamatório proeminente foi ainda observado. Tais achados não concordam com os de Donos et al. (2004) que demonstram que partículas ósseas mineralizadas, de origem bovina, são completamente encapsuladas no osso novo formado quando este tipo de xenoenxerto é utilizado em conjunto com a RTG para a reconstrução de defeitos vizinhos a implantes dentários. Atribui-se tal discordância ao maior tempo de observação realizado por Donos et al. (2004). Segundo os autores, o processo de reabsorção dessas partículas não segue um padrão específico, sendo necessários maiores estudos. Concluíram, ainda, que a falta de sinais de reações do tipo corpo estranho indica que tal associação é bem tolerada pelos tecidos bucais.

Os resultados revelaram que no grupo tratado observou-se um processo mais avançado de reparação óssea em relação ao grupo controle até os 42 dias, apesar de já se visualizar o processo inflamatório. A partir dessa data, houve uma estagnação do processo de reparação óssea. Este fato leva a crer que o processo inflamatório tornou-se crônico, e conseqüentemente, interferiu na cicatrização tecidual de maneira negativa. Como a localização desse infiltrado inflamatório foi predominantemente nas bordas do defeito criado, não se visualizando células inflamatórias na região central da falha, atribuiu-se tal processo à presença da membrana de colágeno e não do xenoenxerto. Assim, a resposta biológica tecidual determinada em função das alterações inflamatórias (alterações vasculares e infiltrado inflamatório), conforme Sanada et al. (2003), em especial a falta de sinais de reações do tipo corpo estranho (DONOS et al., 2004); sugere que o xenoenxerto foi bem tolerado pelos tecidos orais, enquanto que a membrana de colágeno provocou uma reação inflamatória crônica, mesmo sendo considerada um produto biodegradável, com período de reabsorção de 120 a 180 dias, pelos resultados do presente estudo, sugere-se que a membrana de colágeno deva ser mantida apenas por 42 dias.

Donos et al. (2004) concluíram que, do ponto de vista clínico, a aplicação combinada de matriz óssea bovina mineralizada com a RTG pode ser recomendada em situações onde propriedades osteocondutivas são desejáveis. Análises histológicas quando esse material é associado à barreira de colágeno demonstram um favorável crescimento ósseo entre seis e nove meses (MAGALHÃES et al., 2002). Portanto, mais

uma vez, a diferença entre os resultados foi atribuída ao tempo de observação (120 dias) deste experimento, em relação ao longo tempo utilizado por outros autores. Ainda assim, acredita-se em uma resposta melhor à associação matriz óssea bovina mineralizada e membrana de colágeno (RTG) se tal barreira mecânica for retirada aos 42 dias do período pós-operatório. Quanto ao xenoenxerto, demonstrou capacidade de dar suporte à reparação alveolar, concordando com Tal et al. (1996). E seu uso como "mantenedor de espaço" sob a membrana confirma sua função, concordando com Donos et al. (2004).

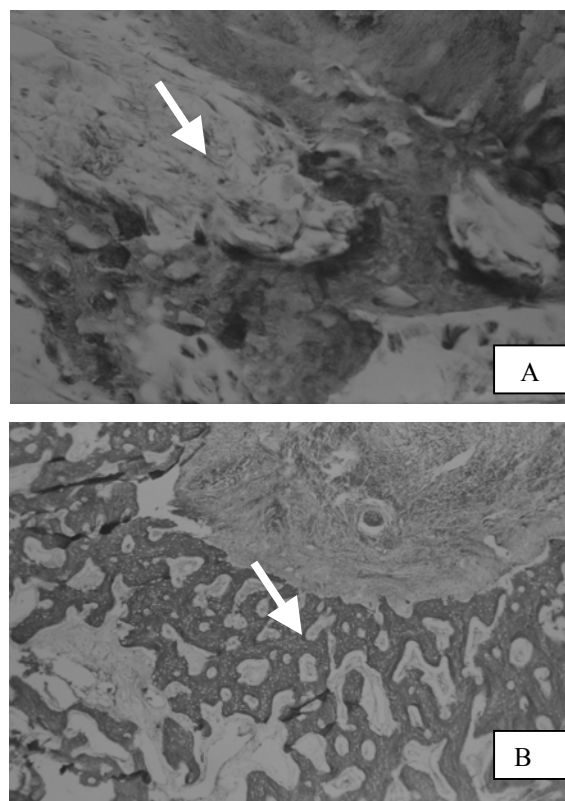


Figura 2 – Histologia da região do defeito provocado no osso alveolar de cães. Animais do grupo controle. A – Aos 7 dias. Preenchimento do defeito com um tecido de granulação pouco vascularizado (seta). 180X. B - Aos 21 dias. Formação de novo tecido ósseo sob a forma de trabéculas espessas (seta). 182X.

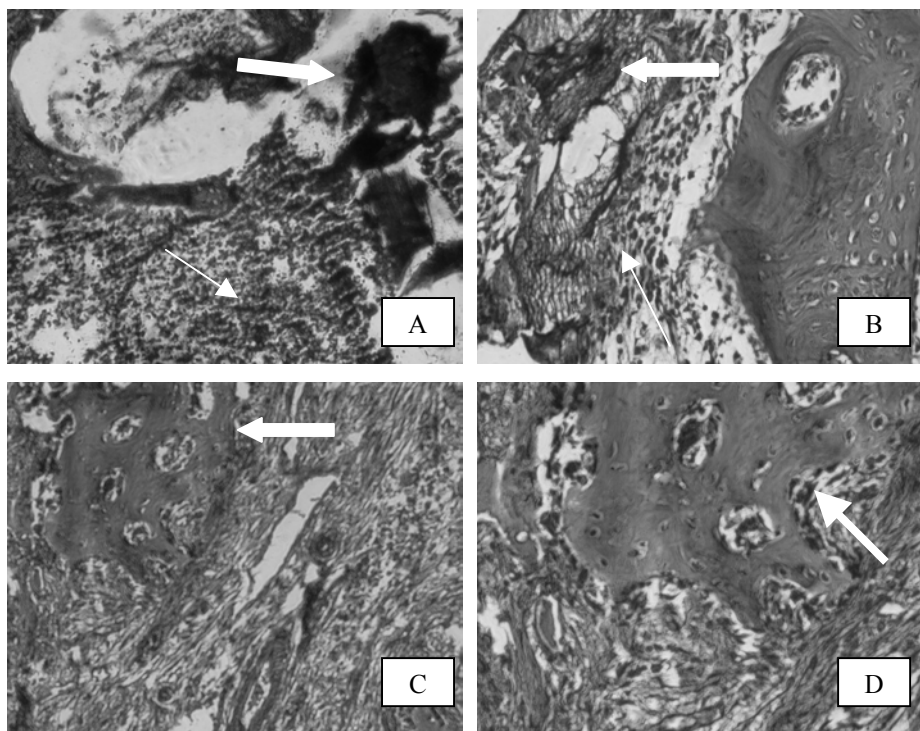


Figura 3 – Histologia da região do defeito provocado no osso alveolar de cães submetidos à cirurgia experimental. Animais do grupo tratado. A – Aos 7 dias. Observou-se infiltrado inflamatório (seta delgada) e partículas do enxerto xenógeno (seta espessa) (100X). B – Aos 7 dias. Visualizou-se abundante celularidade (seta delgada) envolvendo as partículas do xenoenxerto (seta espessa) (200X). C - Aos 14 dias. Região mais vestibular (superficial) do defeito, próxima à membrana. Observa-se reabsorção óssea (seta) (100X). D – Aos 14 dias. Reabsorção óssea (seta) (200X).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados histológicos obtidos e nas condições deste trabalho, foi possível chegar às seguintes conclusões:

- 1 - A associação matriz óssea bovina mineralizada e membrana de colágeno comporta-se de maneira biocompatível quando enxertada no processo alveolar da mandíbula de cão;
- 2 – A matriz óssea bovina mineralizada demonstrou boa capacidade de suporte da membrana de colágeno (RTG), podendo ser utilizado como "mantenedor de espaço" sob barreiras mecânicas;

3 – A partir de 42 dias, a membrana de colágeno provoca um processo inflamatório indesejável à reparação óssea alveolar da mandíbula de cães.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, M. G., BERGLUNDH, T., LINDHE, J. On the dynamics of periodontal tissue formation in degree III furcation defects. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 24, n. 10, p. 738-746, 1997.

BASDRA, E. K., MAYER, T., KOMPOSCH, G. Guided tissue regeneration precedes tooth movement and crossbite correction. *Angle Orthodontist*, v. 65, n. 5, p. 307-310, 1995.

BORGES, A. P. B. O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço distal da tíbia de cães (Canis familiares). Estudo clínico-cirúrgico, radiográfico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodispersão. Belo Horizonte: UFMG, Escola de Veterinária, 1998, 111p. (Tese, Doutorado).

DONOS, N., LANG, N. P., KAROUSSIS, I. K. et al. Effect of GBR in combination with deproteinized bovine bone mineral and/or enamel matrix proteins on the healing of critical-size defects. *Clinical Oral Implants Research*, v. 15, n. 1, p. 101-111, 2004.

ISAKA, J., OHAZAMA, A., KOBAYASHI, M. et al. Participation of periodontal ligament cells with regeneration of alveolar bone. *Journal of Periodontology*, v. 72, n. 3, p. 314-323, 2001.

JUNG, R. E., GLAUSER, R., SCHÄRER, P. et al. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. *Clinical Oral Implants Research*, v. 14, n. 5, p. 556-568, 2003.

- MAGALHÃES, D., MENEZES, H. H. M., TAGA, M. Perspectivas atuais na utilização dos biomateriais em regeneração periodontal. *Revista do Conselho Regional de Odontologia de Minas Gerais*, v. 8, n. 1, p. 9-15, 2002.
- MATSUURA, M., HERR, Y., HAN, K. et al. Immunohistochemical expression of extracellular matrix components of normal and healing periodontal tissues in the beagle dog. *Journal of Periodontology*, v. 66, n. 7, p. 579-593, 1995.
- MOON, I., CHAI, J., CHO, K. et al. Effects of polyglactin mesh combined with resorbable calcium carbonate or replemineform hydroxyapatite on periodontal repair in dogs. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 23, n. 10, p. 945-951, 1996.
- OLIVEIRA, R. C., SICCA, C. M., SILVA, T. L. et al. Efeito da temperatura de desproteinização no preparo de osso cortical bovino microgranular. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular em subcutâneo de ratos. *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*, v. 7, n. 3/4, p. 85-93, 1999.
- SAADEH, P. B., MEHRARA, B. J., STEINBRECH, D. S. et al. Mechanisms of fibroblast growth factor-2 modulation of vascular endothelial growth factor expression by osteoblastic cells. *Endocrinology*, v. 141, n. 6, p. 2075-2083, 2000.
- SANADA, J. T., CANOVA, G. C., CESTARI, T. M. et al. Análise histológica, radiográfica e do perfil de imunoglobulinas após implantação de enxerto de osso esponjoso bovino desmineralizado em bloco em músculo de ratos. *Journal of Applied Oral Science*, v. 11, n. 3, p. 209-215, 2003.
- SCHOU, S., HOLMSTRUP, P., SKOVGAARD, L. T. et al. Autogenous bone graft and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis. II. Stereologic and histologic observations in cynomolgus monkeys. *Clinical Oral Implants Research*, v. 14, n. 4, p. 404-411, 2003.

SICCA, C. M., OLIVEIRA, R. C., SILVA, T. L. et al. Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular a enxertos de osso cortical bovino em subcutâneo de ratos. Efeito do tamanho da partícula. Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru, v. 8, n. 1/2, p. 1-10, 2000.

TAL, H., PITARU, S., MOSES, O. et al. Collagen gel and membrane in guided tissue regeneration in periodontal fenestration defects in dogs. Journal of Clinical Periodontology, v. 23, n. 1, p. 1-6, 1996.

VALÉRIO, P. Cultura primária de osteoblastos e a prática clínica. Jornal do Conselho Regional de Odontologia de Minas Gerais, p. 18, novembro, 2003.

CONCLUSÕES GERAIS.

Com base nos resultados clínico-cirúrgicos, radiográficos e histológicos obtidos e nas condições deste trabalho, foi possível chegar às seguintes conclusões: a associação matriz óssea bovina mineralizada e membrana de colágeno comporta-se de maneira biocompatível quando enxertada no osso alveolar da mandíbula de cão; o preenchimento do defeito ósseo provocado com um material de radiopacidade semelhante a do osso acontece de maneira mais rápida quando se utiliza a associação matriz óssea bovina mineralizada e membrana de colágeno no osso alveolar mandibular de cão; a matriz óssea bovina mineralizada comporta-se de maneira biocompatível quando enxertada no processo alveolar da mandíbula de cão, podendo ser utilizada com segurança para auxiliar no reparo alveolar mandibular de cão; o preenchimento do defeito ósseo provocado acontece de maneira mais rápida quando se utiliza a matriz óssea bovina mineralizada no osso alveolar mandibular de cão, funcionando como um material osteocondutor; a matriz óssea bovina mineralizada demonstrou boa capacidade de suporte da membrana de colágeno (RTG), podendo ser utilizado como "mantenedor de espaço" sob barreiras mecânicas; a partir de 42 dias, a membrana de colágeno provoca um processo inflamatório indesejável à reparação óssea alveolar da mandíbula de cães.