Ana Paula Farnezi Bassi

Avaliações histológica e histomorfométrica do reparo de cavidades ósseas preenchidas com osso bovino anorgânico ou vidro bioativo associados ao plasma rico em plaquetas em mandíbula de cão.

Ana Paula Farnezi Bassi

Avaliações histológica e histomorfométrica do reparo de cavidades ósseas preenchidos por osso bovino anorgânico ou vidro bioativo associado ao plasma rico em plaquetas em mandíbula de cão.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do "Câmpus de Araçatuba – UNESP", para obtenção do grau de DOUTOR EM ODONTOLOGIA (Área de Concentração: Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial).

Orientador: **Paulo Sérgio Perri de Carvalho**

Araçatuba- Estado de São Paulo
2004

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca da FOA / UNESP

Bassi, Ana Paula Farnezi
B321a Avaliações histológica e histomorfométrica do reparo de cavidades ósseas preenchidas com osso bovino anorgânico ou vidro bioativo associados ao plasma rico em plaquetas em mandíbula de cão.
/ Ana Paula Farnezi Bassi. - Araçatuba : [s.n.], 2004
190 : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2004
Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Perri de Carvalho

1. Plaquetas 2. Materiais biocompatíveis

Black D7
CDD 617.6

Dados Curriculares

Ana Paula Farnezi Bassi

NASCIMENTO: 28.12.72 - São Paulo/SP

FILIAÇÃO: João Baptista Bassi
Marly Farnezi Bassi

1991/1994: **Curso de Graduação**
Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP - Campus de Araraquara.

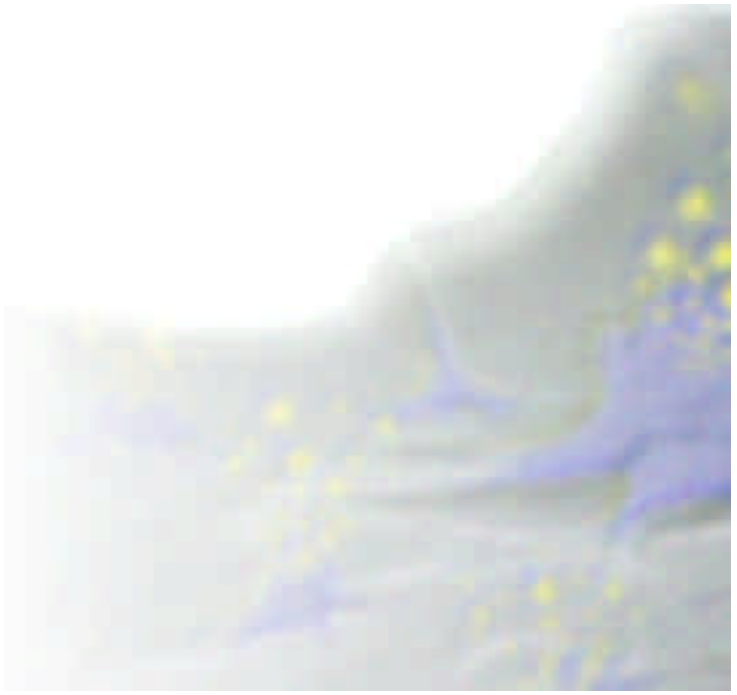
1994/1998 **Estágio de Aperfeiçoamento** na Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araraquara – UNESP.

1999/2000: **Curso de Pós-Graduação** em Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP.

2001/2003 **Curso de Pós-Graduação** em Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial, nível de Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP.

2002 **Professora da Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul (FUNEC/FISA)** Disciplinas de cirurgia oral e cirurgia e traumatologia buco-maxilo-facial.

Dedicatória



Dedicatória

Dedico essa tese...

Ao meu Pai, João Baptista Bassi,

A quém devo a capacidade de sonhar,

Lutar por esse sonho

E nunca desistir...

À minha mãe, Marly Farnezi Bassi,

Por ser "meus pés no chão"

Minha força, minha luz!

A vocês devo minha vida

A quilo que sou e por que luto!

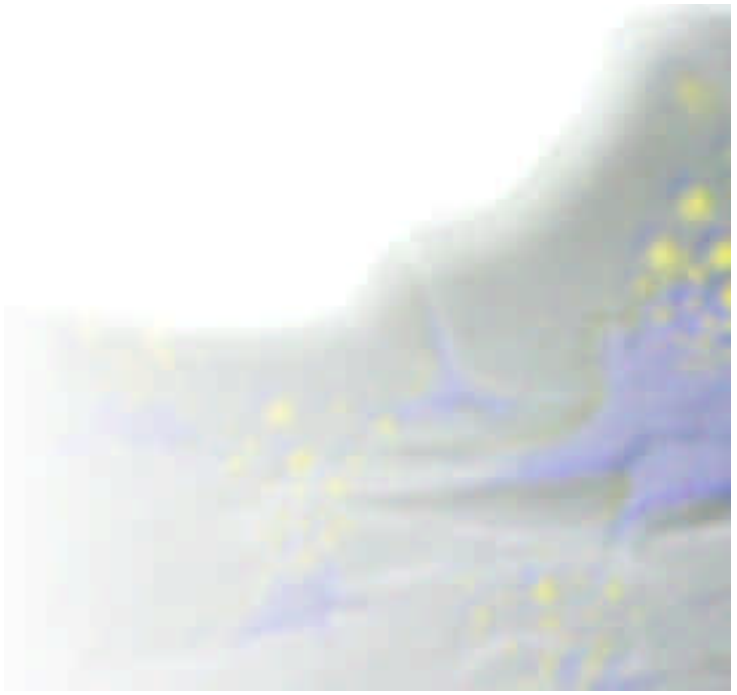
Amo vocês!

A Deus,

A ti, Senhor, que é
pleno de luz e de amor,
e estás nos céus e em toda parte,
onde o teu nome é sempre bendito e santificado.
em constante e eterna bondade.
A ti, Senhor, apresentamos os nossos pedidos:
dá-nos o teu reino
de alegria, de compreensão;
a tua vontade e não a nossa seja feita,
aqui, onde estamos, aí onde estás e estaremos um dia;
o pão da saúde, da disposição ao trabalho,
do entender e ser entendido,
do amar e ser amado,
dá-nos hoje, dá-nos sempre, Senhor.
Ainda caminhantes no erro,
dá-nos o teu perdão e o ensinamento
de como devemos perdoar.
À criança que existe ainda em cada um
dá, Senhor, a tua proteção.
Liberta-nos do mal,
ampara-nos no caminho do bem,
pois teu, Senhor, somente teu,
é o poder, o reino e a glória
para sempre,
para todo o sempre.

Wanderlino Arruda

Agradecimentos Especiais



Agradecimentos Especiais

*Ao Prof**. Dr. PAULO SÉRGIO PERRI DE CARVALHO,** orientador não só deste trabalho, mas de todo período em que estive na pós-graduação. Ao senhor toda minha admiração, respeito e reconhecimento por tudo que fez por mim. Obrigada pela confiança, ajudando no meu crescimento profissional e pessoal.*

*Ao **Prof. Dr. MÁRCIO GIAMPIETRO SANCHES** por sua dedicação, apoio, e amizade.*

*Ao Prof**. Dr. IDELMO RANGEL GARCIA JÚNIOR** pelos ensinamentos, por sua ajuda e principalmente por sua amizade. Muito importante foi para mim esse período de convivência com você!*

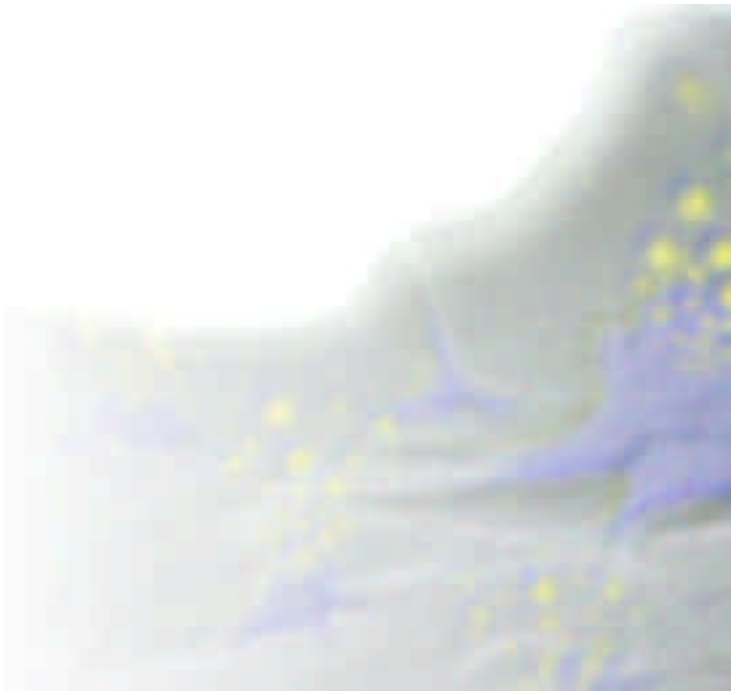
*Aos Profesores **Dr. MARIO FRANCISCO REAL GABRIELLI** e*
Dra. MARISA APARECIDA CABRINI GABRIELLI
Vocês são e sempre serão exemplos a serem seguidos. A vocês toda minha admiração.

*Ao Prof . **Dr. TETUO OKAMOTO***
Sua atenção e gentileza transformam dias difícies em dias melhores.

*Ao Prof. **Dr. OSVALDO MAGRO FILHO***
Pelos ensinamentos e orientações aliadas à amizade e companheirismo.

*Ao Prof. Dr. **WILSON ROBERTO POI**, mais que um coordenador de curso, um grande amigo que sabe quando precisamos de uma palavra amiga.*

Agradecimentos



Agradecimentos

*À **FACULDADE DE ODONTOLOGIA DO CAMPUS DE ARAÇATUBA, UNESP,** na pessoa do seu Diretor PAULO ROBERTO BOTACIN pelas condições oferecidas para realização desta pesquisa.*

*Ao **BIOTÉRIO** da **FACULDADE DE MEDICINA DO CAMPUS DE BOTUCATU, UNESP,** por permitir a relização da parte experimental deste trabalho.*

*À **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior), pela concessão de bolsa de estudo para efetivação da formação universitária.*

*Aos FUNCIONÁRIOS da DISCIPLINA DE CIRURGIA do DEPARTAMENTO DE CIRURGIA E CLÍNICA INTEGRADA, da FACULDADE DE ODONTOLOGIA DO CAMPUS DE ARAÇATUBA - UNESP: **ANA CLÁUDIA, BERNADETE, CLEIDE, DIRCE, GILMAR, GLAUCO,** pela forma carinhosa com que nos acolheram, ajudando-nos sempre.*

Aos funcionários da BIBLIOTECA: ***CLÁUDIA, CLÁUDIO, HELENA, IZAMAR, LUZIA, MARIA CLÁUDIA, MARINA, MARTA e IVONE*** *, pela amabilidade, atenção e ajuda sempre que solicitadas. Em especial agradeço a* ***ISABEL****, pela ajuda na correção bibliográfica deste trabalho e por sua disponibilidade em nos ajudar.*

Aos Funcionários da pós-graduação, em especial à ***MARINA*** *e* ***ADÉLIA,*** *que nos esperam de portas abertas e prontas a nos ajudar.*

Ao ***ARIEL LENHARO*** *pela colaboração inestimável para elaboração deste trabalho e ao* ***FERNANDO COSSO****, por sua amizade e ajuda na fase experimental deste trabalho.*

TIA MIRIAM FARNEZI, *ter você como minha segunda mãe é um presente que so posso agradecer.*

LAIZ FARNEZI da ROCHA*, presença certa em minha vida, obrigada por todo seu carinho.*

À ***SORAIA MARANGONI****, irmã de coração e de alma é um laço mais forte do que uma irmã por consangünidade, pois esta é uma escolha e não um acaso!*

Ao ***MARCELO PERES PIMENTEL****, sua presença na minha vida nestes meses foi muito importante, e só você sabe o quanto é especial!*

*À **SÔNIA REGINA PANZARINI BARIONI**, somos o que repetidamente fazemos ....., você é o anjo que esta sempre por perto quando preciso!*

*A **LAURA, VANESSA CRISTINA , ALESSANDRA e LEILA** a convivência com vocês foi um grande privilégio, cujos vínculos criados não poderão ser cortados.*

*A **DANIELA PONZONI** pela amizade e companheirismo durante toda a pós-graduação.*

*Aos amigos de pós-graduação (MESTRADO CIRURGIA): **FERNANDO, JORDAN, LUIS FRANCISCO, NATASHA, PAULO NORBERTO, ROBERTA** (DOUTORADO CIRURGIA), **MARCOS, DANIELA, LAURA e VANESSA**, (MESTRADO IMPLANTE) **DJALMA, FERNANDO COSSO, FERNANDO LUPPINO, FRENANDO PASTOR, OSCAR,** (DOUTORADO IMPLANTE), **ARIEL, ADOLFO, LAÉRCIO, VICENTE.** Agradeço a oportunidade de aprendizado e principalmente pela amizada plantada.*

*A **DENISE PEDRINI E AO CELSO KOOGI SONODA**, poder conviver com vocês foi um grande privilégio.*

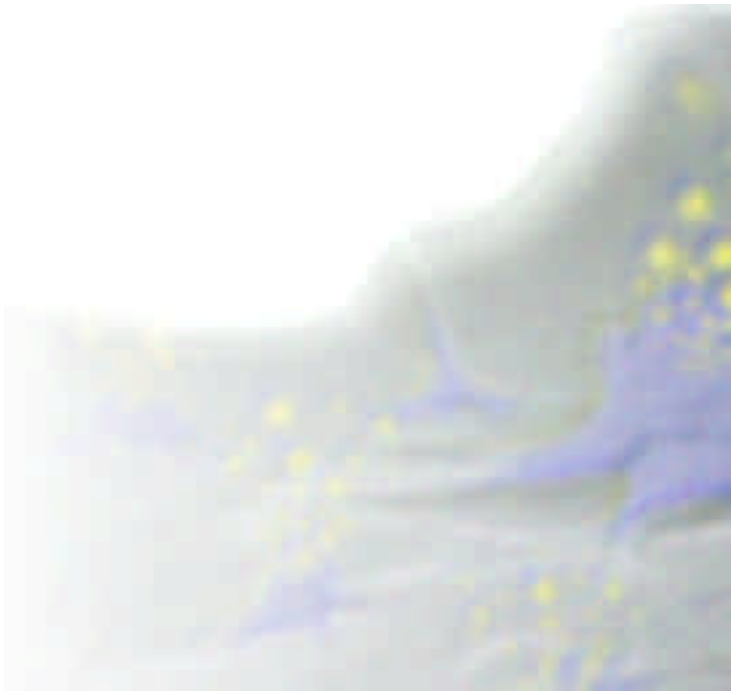
*Ao **FERNANDO LUPPINO e DJALMA PEREIRA NUNES FILHO**, obrigada pela amizade e ensinamentos!*

A Prof. Dr[a] ***SILVIA HELENA VENTUROLLI PERRI*** *pela realização da análise estatística deste trabalho.*

A ***LUCI AIDEE MAGRO*** *por sua amizade e ajuda na realização das correções de português deste trablho.*

À ***TODOS****, que direta ou indiretamente participaram, não só na elaboração dessa tese, mas que me influenciaram como sou hoje.*

Epígrafe



Epígrafe

Falar é completamente fácil, quando se tem palavras em mente que expressem sua opinião.
Difícil é expressar por gestos e atitudes o que realmente queremos dizer, o quanto queremos dizer, antes que a pessoa se vá.
Fácil é julgar pessoas que estão sendo expostas pelas circunstâncias.
Difícil é encontrar e refletir sobre os seus erros, ou tentar fazer diferente algo que já fez muito errado.
Fácil é ser colega, fazer companhia a alguém, dizer o que ele deseja ouvir.
Difícil é ser amigo para todas as horas e dizer sempre a verdade quando for preciso. E com confiança no que diz.
Fácil é analisar a situação alheia e poder aconselhar sobre esta situação.
Difícil é vivenciar esta situação e saber o que fazer. Ou ter coragem pra fazer.
Fácil é demonstrar raiva e impaciência quando algo o deixa irritado.
Difícil é expressar o seu amor a alguém que realmente te conhece, te respeita e te entende. E é assim que perdemos pessoas especiais.
Fácil é mentir aos quatro ventos o que tentamos camuflar.
Difícil é mentir para o nosso coração.
Fácil é ver o que queremos enxergar.
Difícil é saber que nos iludimos com o que achávamos ter visto. Admitir que nos deixamos levar, mais uma vez, isso é difícil.
Fácil é dizer "oi" ou "como vai?"
Difícil é dizer "adeus". Principalmente quando somos culpados pela partida de alguém de nossas vidas...
Fácil é abraçar, apertar as mãos, beijar de olhos fechados.
Difícil é sentir a energia que é transmitida. Aquela que toma conta do corpo como uma corrente elétrica quando tocamos a pessoa certa.
Fácil é querer ser amado.
Difícil é amar completamente só. Amar de verdade, sem ter medo de viver, sem ter medo do depois. Amar e se entregar. E aprender a dar valor somente a quem te ama.
Fácil é ouvir a música que toca.
Difícil é ouvir a sua consciência. Acenando o tempo todo, mostrando nossas escolhas erradas.

Fácil é ditar regras.
Difícil é seguí-las. Ter a noção exata de nossas próprias vidas, ao invés de ter noção das vidas dos outros.
Fácil é perguntar o que deseja saber.
Difícil é estar preparado para escutar esta resposta. Ou querer entender a resposta.
Fácil é chorar ou sorrir quando der vontade.
Difícil é sorrir com vontade de chorar ou chorar de rir, de alegria.
Fácil é dar um beijo.
Difícil é entregar a alma. Sinceramente, por inteiro.
Fácil é sair com várias pessoas ao longo da vida.
Difícil é entender que pouquíssimas delas vão te aceitar como você é e te fazer feliz por inteiro.
Fácil é ocupar um lugar na caderneta telefônica.
Difícil é ocupar o coração de alguém. Saber que se é realmente amado.
Fácil é sonhar todas as noites.
Difícil é lutar por um sonho.
Eterno, é tudo aquilo que dura uma fração de segundo, mas com tamanha intensidade, que se petrifica, e nenhuma força jamais o resgata

Carlos Drummond de Andrade

Sumário

Lista de Figuras **20**

Lista de Tabelas **25**

Lista de Abreviaturas **27**

RESUMO **29**

1 Introdução **32**

2 Revisão da Literatura **38**

3 Proposição **98**

4 Material e Método **100**

5 Resultado **113**

6 Discussão **144**

7 Conclusão **160**

8 Referências Bibliográficas **163**

ABSTRACT **177**

Anexo 1 ..... **180**
Anexo 2 ..... **190**

Lista de Figuras

Figura 1 - Centrífuga utilizada para separação das fases branca e vermelha do sangue..... 101

Figura 2 - Aspiração do sangue venoso periférico..... 101

Figura 3 - Separação dos elementos sangúíneos em três camadas: superior (cor clara – fibrinogênio); intermediária (cor alaranjada – PRP) e inferior (cor vermelha – hemácias)..... 103

Figura 4 - Gel autógeno de PRP mantido a temperatura de 37^0C..... 103

Figura 5 - Início da incisão com lâmina 15 em região de borda inferior de mandíbula..... 103

Figura 6 - Confecção das cavidades com trefina de 5mm..... 104

Figura 7 - Cavidades preenchidas: A- coágulo; B- gel autógeno de PRP; C – Bio-Gran® associado ao gel autógeno de PRP e Bio-Oss® associado ao gel autógeno de PRP 105

Figura 8 - Recobrimento das quatro cavidades com uma membrana óssea de cortical bovina..... 105

Figura 9 - Sutura contínua da porção externa com fio de nylon 5.0..... 105

Figura 10 - Imagem capturada pelo programa videocap. A seguir essa imagem é levada para o programa ImagemLab 2000..... 107

Figura 11 - Com a ferramenta selecionar região é realizada a delimitação da área de neoformação óssea..... 108

Figura 12 - Cálculo da região..... 109

Figura 13 - Área neoformada selecionada. Ícone da planilha de cálculo selecionada..... 109

Lista de Figuras

Figura 14 - Valores apresentados na planilha de cálculo..... 110

Figura 15 - Tecido ósseo pré-existente e tecido ósseo neoformado. HE 25X. Aumento original..... 114

Figura 16 - Tecido ósseo neoformado apresentando espaços inter-trabeculares amplos caracterizando tecido em fase de maturação. HE 25X. Aumento do original..... 114

Figura 17- Reparação da cavidade ocorrendo de forma cntrípeta (das laterais para o centro) (setas). HE 25X. Aumento do original. 115

Figura 18 - Presença de rede de fibrina (RF) e coágulo (C) no interior da cavidade. H.E. 25X. Aumento do original..... 115

Figura 19 - Imagem da cavidade óssea bem delimitada pelo osso remanescente (OR), caracterizada por tecido óssseo maduro (TO), espaços inter-trabeculares reduzidos com formação concêntrica. HE 25X. Aumento do original..... 117
..

Figura 20 - Defeito ósseo com a presença de tecido conjuntivo (TC) rico em fibras colágenas. HE 25X. Aumento do original..... 117

Figura 21 - Corte transversal em defeito ósseo mais amplo mostrando uma maior cavidade ao centro com tecido conjuntivo (TC) rico em fibras colágenas e rede de fibrina (RF). HE 25X. Aumento do original..... 118

Figura 22 - Presença de osteoblastos na superfície do recido ósseo em formação. HE 160X. Aumento do original..... 118

Figura 23 - Preenchimento do centro da cavidade por tecido conjuntivo (TC) e rede de fibrina (RF) e formação ósseo (ON) nas paredes laterais da cavidade. HE 25X. Aumento do original.. 119

Figura 24 - Visualização de tecido conjuntivo (TC) e rede de fibrina (RF). HE 25X. Aumento do 120

original.....

Figura 25 - Neofromação óssea (ON) nas laterais da cavidade e preenchimento centro com tecido conjuntivo (TC) e rede de fibrina (RF). HE 25X. Aumento do original..... 120

Figura 26 - Presença de osteócitos (setas) e espaços medulares amplos (EM). HE 25X. Aumento do original..... 121

Figura 27 Delimitação da cavidade óssea na periferia (setas) e tecido ósseo neoformado (TON) no seu interior com amplos espaços medulares (EM). HE 25X. Aumento do original..... 122

Figura 28 Delimitação da cavidade óssea na periferia (setas) e tecido ósseo neoformado (TON) no seu interior espaços medulares (EM) menores que o corte anterior por se tratar de corte mais profundo. HE 25X. Aumento do original..... 122

Figura 29 Mesmo corte que a figura anterior em maior aumento. HE 63X. Aumento do original..... 123

Figura 30 Presença de tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade e osso neoformado (TON). HE 25X. Aumento do original..... 123

Figura 31 Corte profundo mostrando tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade. HE 25X. Aumento do original..... 124

Figura 32 Tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade em cortes mais profundos. HE 25X. Aumento do original..... 124
.

Figura 33 Corte mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulos do bio-Gran (BG) no centro da cavidade neoformado (TON). Na parede lateral tecido ósseo HE 50X. Aumento do original.... 126

Figura 34 Corte mostrando grande quantidade de tecido conjuntivo (TC) envolvendo os grânulos do bio-Gran (BG) no centro da cavidade. HE. 50X. Aumento do original..... 126

Figura 35 Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulos do Bio-Gran (BG) e tecido não mineralizado (TNM) no centro da cavidade. HE 100X. Aumento do original..... 127
.

Figura 36 Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulo do Bio-Gran (BG) e tecido não mineralizado (TNM) no centro da cavidade. As setasindicam as linhas de fissuras da partícula de Bio-Gran, no centro invasão de tecido conjuntivo. HE 100X. Aumento do original..... 127

Figura 37 Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulo do Bio-Gran (BG) no centro da cavidade. As setas indicam a área de osteotomia. Na periferia da cavidade tecido ósseo neoformado (TON). HE 50X. Aumento do original..... 129
..

Figura 38 Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulos de Bio-Gran® (BG) e tecido não mineralizado (TNM) no centro da cavidade. HE 25X. Aumento do original..... 129

Figura 39 Corte profundo mostrando tecido ósseo neoformado (TON) junto à margem osteoblastos (O). HE 50X. Aumento do original..... 130
.

Figura 40 Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulo de Bio-Oss (BO) no centro da cavidade. Na periferia áreas de tecido ósseo neoformado (TO). HE 50X. Aumento do original.... 131

Figura 41 Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulos de Bio-Oss (BO) no centro da cavidade. Na periferia áreas de tecido ósseo neoformado (TON) envolvendo grânulos do Bio-Oss (BO). HE 50X. Aumento do original..... 132

Figura 42 Corte mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulos de Bio-Oss® (BO) no centro da cavidade. HE 100X. Aumento do original..... 132
.

Figura 43 Corte mostrando grânulo do Bio-Oss (BO) envolto por tecido ósseo neoformado (TON). HE 100X. Aumento do original..... 133

Figura 44 Corte profundo mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulos de Bio-Oss® no centro da cavidade. HE 100X. Aumento do original..... 133

Figura 45 Corte profundo mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulo de Bio-Oss® (BO) no centro da cavidade. HE 100x. Aumento do original..... 134

Figura 46 Corte mostrando presença de células multinicleadas junto à superfície do grânulo do Bio-Oss® (BO). HE 400X. Aumento do original..... 134

Figura 47 Corte profundo mostrando a orientação das fibras colágenas (seta) junto à superfície do grânulo do Bio-Oss® (BO). HE 400X. Aumento do original..... 135

Figura 48 Corte mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulos de Bio-Oss® (BO) no centro da cavidade. As setas indicam as áreas de osteotomias com tecido ósseo neoformado (TO). HE 50X. Aumento do original..... 136

Figura 49 Corte profundo mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulo de Bio-Oss® (BO) com tecido ósseo neoformado (TO) no centro da cavidade. HE 50X. Aumento do original..... 136

Figura 50 Corte profundo mostrandotecido conjuntivo (TC) e grânulos de Bio-Oss® (BO) envolto por tecido ósseo neoformado (TO) no centro da cavidade. HE 100X. Aumento do original..... 137

Figura 51 Corte profundo mostrando área de neoformação óssea (TO) com presença de osteócitos (OT) e na periferia a presença de osteoblastos (OB). HE 400 X. Aumento do original..... 137

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Análise de variância em parcelas subdivididas (“split-plot) para os valores de neoformação óssea – Dados longitudinais..... 141

Tabela 2 - Dados Longitudinais. Erro padrão da Média..... 141

Tabela 3 - Análise de variância em parcelas subdivididas (“split-plot) para os valores de neoformação óssea – Dados Transversais..... **142**

Tabela 4 Dados Transversais. Erro padrão da Média **142**

Tabela 5- Valores obtidos da análise histométrica para o grupo controle. Corte longitudinal profundidade de 6mm..... 180

Tabela 6 - Valores obtidos da análise histométrica para o grupo controle. Corte longitudinal profundidade de 13mm..... 180

Tabela 7 - Valores obtidos da análise histométrica para o grupo PRP. Corte longitudinal profundidade de 6mm..... 181

Tabela 8 - Valores obtidos da análise histométrica para o grupo PRP. Corte longitudinal profundidade de 13mm..... 181

Tabela 9 - Valores obtidos da análise histométrica para o grupo Bio-Gran®. Corte longitudinal profundidade de 6mm..... 182

Tabela 10 - Valores obtidos da análise histométrica para o grupo Bio-Gran®. Corte longitudinal profundidade de 13mm..... 182

Tabela 11 - Valores obtidos da análise histométrica para o grupo Bio-Oss®. Corte longitudinal profundidade de 6mm..... 183

Tabela 12 Valores obtidos da análise histométrica para o grupo

-	Bio-Oss®. Corte longitudinal profundidade de 13mm.....	183
Tabela 13 -	Valores obtidos da análise histométrica para o grupo controle. Corte transversal profundidade de 6mm.....	184
Tabela 14 -	Valores obtidos da análise histométrica para o grupo controle. Corte transversal profundidade de 13mm.....	184
Tabela 15 -	Valores obtidos da análise histométrica para o grupo PRP. Corte transversal profundidade de 6mm.....	185
Tabela 16 -	Valores obtidos da análise histométrica para o grupo PRP. Corte transversal profundidade de 13mm.....	185
Tabela 17 -	Valores obtidos da análise histométrica para o grupo Bio-Gran®. Corte transversal profundidade de 6mm.....	186
Tabela 18 -	Valores obtidos da análise histométrica para o grupo Bio-Gran®. Corte transversal profundidade de 13mm.....	186
Tabela 19 -	Valores obtidos da análise histométrica para o grupo Bio-Oss®. Corte transversal profundidade de 6mm.....	187
Tabela 20 -	Valores obtidos da análise histométrica para o grupo Bio-Oss®. Corte transversal profundidade de 13mm.....	187

Lista de Abreviaturas

PRP- Plasma Rico em Plaquetas

PPP – Plasma Pobre em PLaquetas

HA – Hidroxiapatita

DFDBA – Cortical Demineralized Freeze-Dried Bone

BMP – Proteína Morfogenética

PDGF – Fator de Crescimento Derivado das Plaquetas

TGF – Fator de Crescimento Transformante

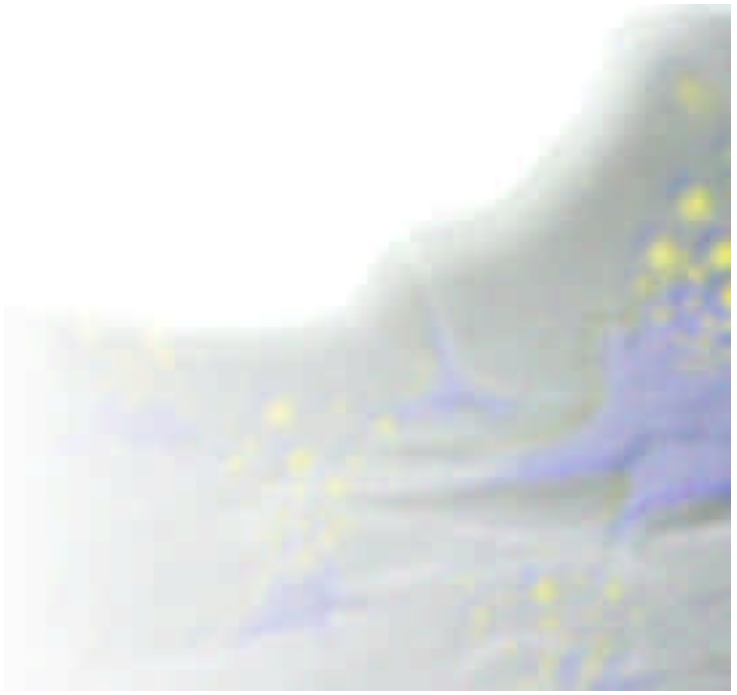
VEGF – Fator de Crescimento Vascular Endotelial

EGF – Fator de crescimento Epitelial

IGF – Fator de Crecimento Semelhante a Insulina

ePTFE – Politretrafluretileno expandido

Resumo



Resumo

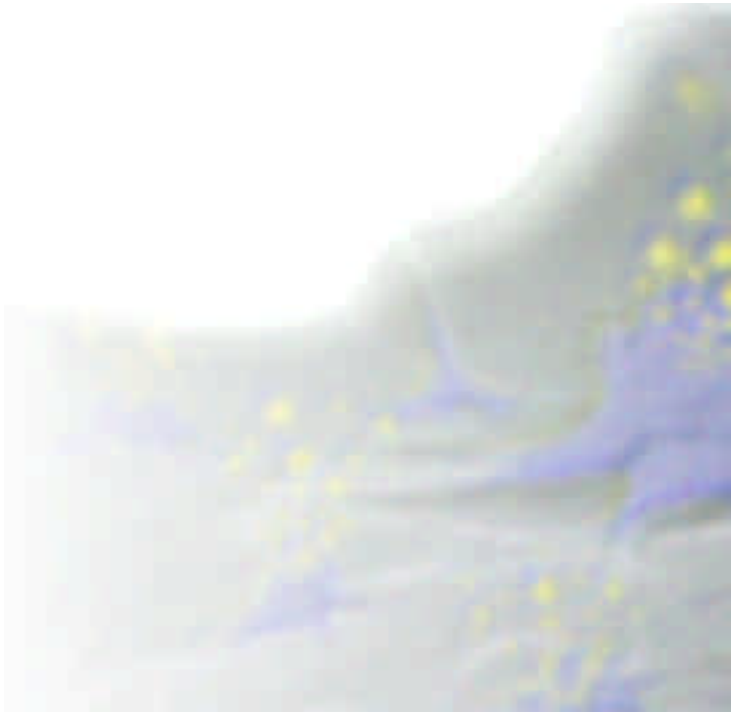
BASSI, A.P.F. *Avaliação do reparo ósseo de cavidades ósseas em mandíbula de cão preenchidas com osso bovino anorgânico ou vidro bioativo associados ao plasma rico em plaquetas*. Análises histológica e histomorfométrica. Tese (Doutorado em Odontologia) 2004, 190p - Faculdade de Odontologia, Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Este trabalho foi desenvolvido para verificar a ação do PRP isolado ou associado ao osso bovino anorgânico ou vidro bioativo. Foram utilizados, neste trabalho, 4 cães, machos, e neles foram confeccionadas 4 cavidades bilaterais na mandíbula, e depois divididos em 4 grupos: controle; PRP; PRP/Bio-Oss®; PRP/Bio-Gran®. Após 120 dias, os animais foram sacrificados e a análise histológica demostrou que o processo de reparo foi completo somente para o grupo Controle. Nos demais grupos não foi possível verificar o completo reparo das cavidades. Em nível biológico, os melhores resultados obtidos estão apontados em seqüência; PRP/Bio-Oss®; PRP/Bio-Gran®; e PRP. Esses achados foram confirmados por meio de análise histomorfométrica, onde as diferenças entre os grupos se mostraram estatisticamente signicantes na comparação do grupo Controle.

Foi possível concluir neste estudo que o PRP isolado ou associado ao vidro bioativo e ao osso bovino anorgânico não favoreceu o processo de reparo.

Palavras-Chave: plasma rico em plaquetas, osso anorgânico, vidro bioativo.

Introdução



1 Introdução

A restauração das funções orais após a perda da dentição natural é complexa e multidisciplinar. No paciente desdentado ocorrem alterações dos tecidos moles e duros, principalmente devido à perda óssea, sendo este um fator que dificulta a reabilitação desses pacientes, tornando-se um obstáculo à restauração satisfatória (Atwood, 1979).

O advento dos implantes osseointegrados teve importância relevante para a Odontologia Reabilitadora devido ao índice de sucesso e à melhor qualidade nas restaurações mastigatória e estética (Adell et al, 1990; Adell et al, 1990; Albrektsson, 1988; Albrektsson et al., 1988; Whitman et al, 1997). Contudo, mesmo com grandes vantagens, ainda em algumas situações a sua utilização fica limitada, uma vez que os implantes estão contra-indicados em pacientes que não possuem altura e espessura mínimas de osso sem a realização de procedimentos complementares.

Para diminuir a perda óssea inicial após as exodontias, foram desenvolvidos alguns materiais e técnicas cirúrgicas que podem ser utilizados nos procedimento cirúrgicos. Anteriormente a 1870, os materiais utilizados para preenchimento ósseo caracterizavam-se pela sua biocompatibilidade em função da tolerância do hospedeiro. Num

segundo período, entre 1870 e 1925, os materiais adquiriram um melhor desempenho com a evolução tecnológica e, a partir de 1925 até na atualidade, houve uma evolução dos materiais tal como os biomateriais de preenchimento (Okamoto et al., 1994).

A reconstrução de defeitos ósseos provocados por diversas etiologias tem o seu tratamento fundamentado na utilização de enxerto ósseo autógeno fresco, livre ou vascularizado. Com o uso de enxerto ósseo autógeno procura-se restabelecer as características morfo-funcionais das áreas comprometidas, aproveitando suas propriedades altamente osteogênicas, osteocondutivas e osteoindutivas, resultando em tecido neoformado de ótima qualidade (Okamoto et al., 1994, Lynch et al, 1999, Cosso et al, 2000). No entanto, para a utilização dos enxertos ósseos autógenos é necessária uma outra abordagem cirúrgica adicional, o que se transforma muitas vezes, em fator de recusa pelo paciente.

Embora, o enxerto autógeno seja o material mais adequado para permitir uma reconstrução do processo alveolar atrófico, pesquidores têm se empenhado para desenvolver materiais que possam substituí-lo.

Estes materiais são chamados biomateriais e foram definidos, em 1986, pela Sociedade Européia, como sendo qualquer substância, droga ou combinação de substâncias, de origem natural ou sintética, que pode ser usada por um período, como parte da sistêmica tratada, ou como reposição

de alguns tecidos ou função do corpo (Gomes, 2002). São classificados quanto à sua origem em:

HOMÓGENOS OU ALÓGENOS: obtidos de indivíduos de espécie semelhante ao receptor, os implantes homógenos são os materiais que mais se aproximam dos enxertos autógenos (Lynch et al., 1999; Okamoto et al., 1994).

HETERÓGENOS OU XENÓGENOS: obtidos de indivíduos de espécies diferentes do receptor, sendo mais comumente obtido da raça bovina e, às vezes, do porco ou do cabrito (Fonseca et al., 1997).

ALOPLÁSTICOS: materiais sintéticos que podem ser de natureza metálica, cerâmica ou plástica. Esses materiais sintéticos são denominados como materiais de implante. Entretanto, esses implantes, em sua maioria, desempenham um papel fundamental no preenchimento dos espaços apresentados pelos defeitos ósseos, sem haver uma incorporação fisiológica (Okamoto et al., 1994). Existe hoje no mercado, uma infinidade de materiais para esse fim, entre eles as hidroxiapatitas sintéticas ou naturais e os vidros bioativos.

Por serem considerados substitutos ósseos, os materiais aloplásticos devem possuir características de: biocompatibilidade, não serem antigênicos nem carcinogênicos, apresentarem baixo custo, serem gradualmente substituídos por tecido ósseo, possuirem propriedades

osteocondutoras e osteoindutoras (Berglundh & Lindhe; 1997; Cancian et al., 1999; Santos, 2000).

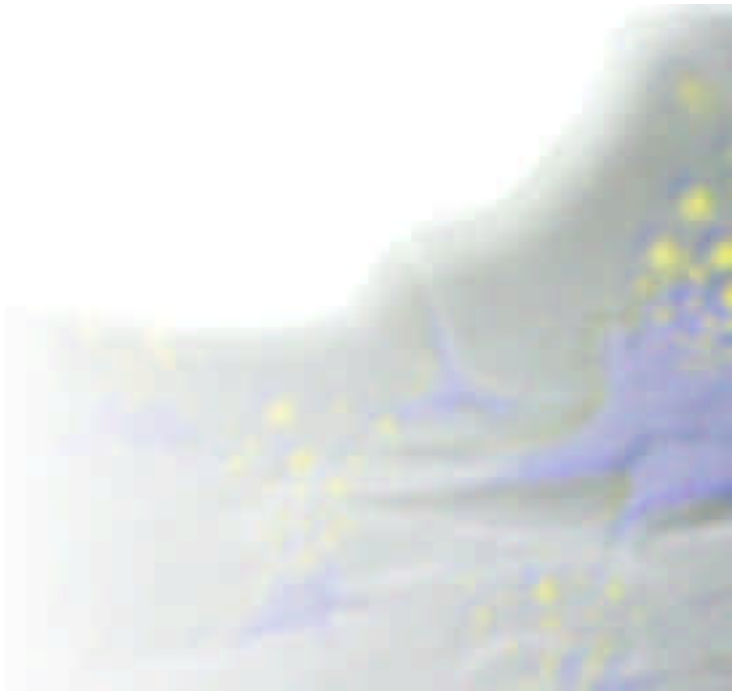
Estudos mais recentes trazem uma nova opção para o tratamento das correções dos defeitos ósseos: o plasma rico em plaquetas, que junto dos enxertos ósseos autógenos, implantes homógenos, heterógenos e aloplásticos, poderão auxiliar nas soluções de situações clínicas mais complexas.

O gel extraído do plasma rico em plaquetas autógeno vem sendo considerado como uma membrana natural, por que permite uma melhor acomodação dos enxertos ósseos e acelera o processo de reparação óssea (Marx & Wong, 1987; Slater et al, 1995; Whitman & Berry, 1998; Marx et al, 1998). É indicado para os casos de correções de defeitos ósseos em cirurgias buco-maxilo-faciais e em implantodontias, tendo como principais vantagens à ausência de toxicidade tecidual, a ocorrência natural no organismo, a possibilidade de obtenção de um gel resistente em minutos, a reabsorção em poucos dias, a capacidade de promover crescimento tecidual local e o reparo das regiões, sendo de fácil obtenção. É um material autógeno, o que elimina a possibilidade de infecção pelo organismo receptor (Hannon & Pekarske, 1997).

Vários estudos têm sido realizados, utilizando como modelo experimental o enxerto autógeno com a aplicação local do plasma rico em

plaquetas. Entretanto, a associação com outros materiais ainda é um campo a ser explorado, o que justifica este trabalho.

Revisão da Literatura



2 Revisão da Literatura

Com o objetivo de abordar este capítulo claramente, a revisão de literatura será dividida em sub-capítulos.

1. Biomateriais

1.1. HIDROXIAPATITA NATURAL

O Bio-Oss® é uma hidroxiapatita natural constituída de matriz de osso bovino anorgânico e cristais de carbonato de cálcio. Não causa reação imunológica e é altamente osteocondutivo, fato que permite reparação óssea (Hislpo et al., 1993). Pode ser usado em combinação com enxertos autógenos ou isoladamente (Hislpo et al., 1993; Pinholt, E. et al., 1991). Sua utilização está relacionada a lesões isoladas, defeitos periodontais, deiscência e fenestrações em implantes e em pequenas osteotomias do seio maxilar (Gomes, 2002).

PESQUISAS SOBRE CAVIDADES ÓSSEAS EM ANIMAIS

Os estudos experimentais com relação a esse material foram iniciados na década de 90. Um dos primeiros trabalhos publicados foi o de Pinholt et al., em 1991, quando utilizaram ratos como modelo experimental. Nesse estudo, os autores implantaram Bio-Oss® na maxila e no músculo abdominal dos animais. Para isso dividiram os animais em 2 Grupos:

- **Grupo I:** implantes foram colocados na maxila e músculos abdominais. De um lado foi colocado Bio-Oss® sinterizado e do outro, Bio-Oss® não sinterizado.
- **Grupo II:** os mesmos procedimentos foram realizados, porém, sem a implantação do material.

O tempo experimental nesse estudo foi de 4 semanas. Os autores puderam observar que não houve osteocondução na maxila e na região abdominal. O material estava envolto por tecido conjunto na região abdominal e com a presença de células gigantes relacionadas a uma reação do tipo corpo estranho ao redor dos implantes. Na maxila, o material esteve envolto por tecido conjuntivo fibroso com absorção parcial de alguns grânulos. Neste trabalho os autores concluíram que ambas as formas do Bio-Oss® (sinterizada e não sinterizada) não eram biocompatíveis.

Embora os resultados experimentais apresentados por Pinholt et al., em 1991 não tenham sido positivos, Klinge et al. (1992) realizaram a avaliação do Bio-Oss®, comparando-o com a Hidroxiapatita (HA) sintética não absorvível. Defeitos ósseos foram criados na calota craniana de coelhos e os animais foram divididos em 4 grupos:

- **Grupo I**: Bio-Oss®
- **Grupo II:** HA densa (grânulos 0,3-0,6mm)
- **Grupo III:** HA densa (grânulos 0,6-1,0mm)
- **Grupo IV:** sem material, sendo este o grupo controle.

Os tempos de análise corresponderam a 4ª e 14ª semanas. Os resultados na 4ª semana mostraram que o GIII teve suas lojas preenchidas por tecido conjuntivo fibroso. Na 14ª semana, foi possível verificar que o grupo com Bio-Oss® e com a HA com grânulos menores apresentaram deposição óssea direta junto às partículas, já o grupo de HA com grânulos maiores mostrou pouco desenvolvimento de tecido ósseo entre as corticais.

A partir desse momento, vários trabalhos em animais e humanos começaram a serem realizados com o objetivo de verificar o modo de ação desse material nos processos de reparo alveolar, em defeitos ósseos, junto aos implantes osseointegrados e também nos procedimentos de levantamento do seio maxilar.

Okamoto et al., em 1994, analisaram a cronologia do processo de reparo em alvéolos de ratos, comparando o osso anorgânico isoladamente e associado a HA. Para realização deste estudo os animais foram divididos em 3 grupos:

- **Grupo I:** controle
- **Grupo II:** osso anorgânico
- **Grupo III:** osso anorgânico associado a HA

Os autores puderam verificar que, no final do processo de reparo, aos 28 dias, enquanto o grupo controle apresentava um trabeculado maduro, os Grupos II e III mostraram um trabeculado ósseo que ocupava 60% da área total do alvéolo, havendo 40% ainda de área preenchida por tecido conjuntivo.

Okamoto et al. (1994) também realizaram a análise do processo de reparo em defeitos ósseos realizados em tíbias de ratos, uma vez que uma das indicações para utilização desse material é em defeitos ósseos. Os autores concluíram nesse estudo, que o osso bovino anorgânico permitiu o crescimento de tecido conjuntivo e a diferenciação óssea não retardou a reparação. Cinqüenta por cento do material permanecia nas cavidades em íntimo contato com osso neoformado.

Berglund & Lindhe, em 1997, realizaram um trabalho para verificar a ação do Bio-Oss® em defeitos ósseos em cães, para posterior

instalação de implantes, e o compararam com a colocação de implantes em osso normal. Assim, os grupos foram divididos em:

- **Grupo I: d**efeitos foram preenchidos com Bio-Oss®, sem colocação de implantes osseointegrados, com pós-operatório de três meses.
- **Grupo II:** defeitos preenchidos com Bio-Oss® e colocação de implantes.
- **Grupo III**: controle

A análise histológica demostrou que no grupo controle de 3 meses a cicatrização foi incompleta. No Grupo I, as partículas estavam rodeadas por tecido ósseo neoformado com matriz osteóide. O grupo II mostrou que as partículas Bio-Oss® estavam separadas do implante por tecido ósseo mineralizado integrado. Aos 7 meses o material encontrava-se integrado ao tecido ósseo com característica de osteocondução.

A partir desses trabalhos derivaram-se outros, que tiveram como função realizar a comparação desse material com outros biomateriais, tanto em cavidades ósseas como em levantamento de seio maxilar. Os autores também se preocuparam em analisar a relação dos implantes colocados em áreas onde havia o material e como a osseointegração se processou.

Para analisar a capacidade de neoformação óssea do Bio-Oss® em comparação aos enxertos ósseos autógenos, Merkx et al. (1997) realizaram um trabalho em cães jovens. Verificaram o trajeto de erupção de pré-molares e molares, quando os dentes decíduos foram extraídos e preencheram os alvéolos com osso autógeno e outro grupo com Bio-Oss®. A análise histológica foi realizada em três tempos pós-operatórios diferentes: 4ª, 10ª e 16ª semanas. Com análises radiográfica e histológica, verificaram que o grupo em onde foi colocado enxerto ósseo autógeno pôde desviar o trajeto de erupção dos dentes permanentes, mas o do Bio-Oss® não teve a mesma integração e capacidade que o grupo anterior.

Uma das questões que ainda intrigava os pesquisadores estava relacionada às possibilidades das partículas de Bio-Oss® sofrerem absorção. Por este motivo, o tempo de acompanhamento dos trabalhos experimentais e casos clínicos foram aumentados.

McAllister et al. (1999) realizaram elevação de seio maxilar em chimpanzés, utilizando Bio-Oss®. Os animais foram sacrificados após um ano e meio. Realizada a análise histológica da região, foi possível observar a presença das partículas do material incorporadas ao tecido ósseo. Analisando radiografia computadorizada aos 2,5 meses e 4,5 meses, os implantes mostraram estabilidade.

Alguns trabalhos apresentaram resultados semelhantes como os de Piattelli et al. (1999). Experimentações em animais detectaram evidências histológicas de absorção do Bio-Oss® (Klinge et al., 1992; Wetzel et al., 1995; Berglundh & Linhe, 1997). Como Fonseca et al. descreveram em 1997, a remodelação fisiológica do material heterógeno poderia ser observada, em humanos, depois de um a cinco anos da colocação.

Artzi et al. (2001)[b] avaliaram histoquimicamente alvéolos dentais preenchidos por Bio-Oss®. Após 9 meses, realizaram análises dos resultados, utilizando azul alcalino, ácido-período de Schiff, tricrômico de Mallory, reticulina, Van Gieson e vermelho de picrossirus. Os autores concluíram que esse material ainda necessita de outros estudos para se determinar sua capacidade de absorção, embora possa ser utilizado em alvéolos dentais para a manutenção de volume e morfologia, com posterior instalação de implantes osseointegrados.

Um trabalho comparativo entre o Bio-Oss® associado a partículas de dentina e gesso Paris foi realizado por Su-Gwan et al. (2001) em calvária de ratos. Os animais foram divididos em 5 grupos:

- **Grupo I:** partícula de dentina associada ao gesso Paris.
- **Grupo II**: partícula de dentina associada ao gesso Paris e Bio-Oss®.

- **Grupo III**: Gesso Paris associado ao e Bio-Oss®.
- **Grupo IV**: Bio-Oss®.
- **Grupo V**: controle.

Foram realizadas análises histológica e histométrica dos experimentos em dois tempos pós-operatórios: 8ª e 16ª semanas. A melhor formação óssea ocorreu no grupo onde somente o Bio-Oss® foi colocado, seguido dos grupos III, II, I e, finalmente o grupo controle. Os autores concluíram que o Bio-Oss® foi o material mais eficiente embora a associação de partículas de dentina e gesso Paris tenha apresentado bons resultados.

A associação do Bio-Oss® com o Tissue® ("cola de fibrina") foi estudada por Camargnola et al. (2002). O trabalho foi realizado em 4 cães, em defeitos ósseos alveolares com 4mm de diâmetro e 8mm de profundidade e distribuidos em três grupos:

- **Grupo I**: Bio-Oss®.
- **Grupo II**: Bio-Oss® com o Tissue®.
- **Grupo III**: controle.

Em todos os defeitos fez-se proteção com uma membrana de colágeno. Após 3 meses, os animais foram sacrificados e os resultados demonstraram que o grupo do Bio-Oss® obteve maior porcentagem de contato entre as partículas do material e o tecido ósseo do que o grupo do

Bio-Oss® com o Tissue®. Segundo os autores, o uso do Tissue® interferiu na integração do Bio-Oss® com o tecido ósseo.

Quadro I – Relação dos estudos realizados com osso bovino anorgânico em animais em cavidades ósseas.

AUTOR (ES)	mATERIAL(IS)	INDIVÍDUO(S)	LOCAL(IS)	RESULTADOS
Klinger et al., 1992	Bio-Oss®/HA sintética	coelhos	Calota craniana	Houve formação óssea em ambos materiais, sendo mais intensos nas partículas menores, não havendo diferenças entre os materiais.
Okamoto et al., 1994	Osso anorgânico/ HA	ratos	Alvéolos	Grupo controle com trabeculado maduro. Grupos tratados tiveram 60% de preenchimento com trabeculado ósseo e 40% por tecido conjutivo.
Okamoto et al., 1994	Osso anorgânico	Ratos	Tíbia	Permitiu o crescimento de tecido conjuntivo e a diferenciação óssea não retardou a reparação. 50% do material permanecian as caviadades em íntimo contato ósseo.
Berglund & Lindhe, 1997	Bio-Oss®	cães	Rebordo	Grupo controle o processo de reparo mostrou-se incompleto. grupo Bio-Oss® as partículas envoltas por tecido ósseo neoformado e matriz osteóide. Quando associado a implantes estas ficaram separadas da superfície por tecido ósseo mineralizado.
Merkx et al., 1997	Bio-Oss®/ osso autógeno	cães	Alvéolos	Análise radiográfica e histológica mostrou que, o grupo com enxerto autógeno,

				desviou o trajeto de erupção dos dentes permanentes. O Bio-Oss® não teve a mesma integração e capacidade.
Mc Allister et al., 1999	Bio-Oss®	macacos	Seio maxilar	Após 1 ano e meio presença das partículas encorporadas pelo tecido ósseo.
Artzi et al., 2001	Bio-Oss®	cães	Alvéolos	Material que pode ser colocado em alvéolos para manutenção do volume e morfologia. Contudo há necessidade de mais estudos para determinar tempo de absorção do material.
Su-Gwan et al., 2001	Bio-Oss®/ partículas de dentina/ gesso Paris	ratos	Calvária	Melhor formação óssea no uso isolado do Bio-Oss®, seguido do gesso paris + Bio-Oss®, partícula de dentina + gesso Paris + Bio-Oss®, partícula dentina + gesso paris e controle. O Bio-Oss® foi material mais eficiente.
Camargnola et al., 2002	Bio-Oss®/ Tissue®	cães	Defeitos alveolares	O Bio-Oss®mostrou maior contato entre as partículas e o tecido ósseo quando comparado com o grupo do Bio-Oss® e o Tissue®

Quadro II – Relação dos estudos realizados com osso bovino anorgânico em animais em outras combinações com biomateriais ou em outras situações experimentais.

AUTOR (ES)	mATERIAL(IS)	INDIVÍDUO(S)	LOCAL(IS)	RESULTADOS
Pinholt et al., 1991	Bio-Oss®	ratos	Músculo abdominal/ maxila	Não houve osteocondução na maxila e músculo abdominal. Material envolvido por tecido conjuntivo fibroso, com reabsorção parcial do mesmo.
Wetzel et al., 1995	DFDBA/HA/ Bio-Oss®	cães	Seio maxilar	DFDBA teve suas partículas envoltas por tecido conjuntivo. A HA havia tecido ósseo em sua adjacência, semelhante ao resultado do grupo do Bio-Oss®
Hürzerler et al., 1997	Bio-Oss®/ implantes osseointegrados	macacos	Seio maxilar	Grupo com material teve aumento de osso neoformado, sendo que as partículas estavam envoltas por osso.
Haas et al., 1998	Bio-Oss®/osso autógeno/ implantes osseointgrados	ovelhas	Seio maxilar	Osseointgração ocorreu em todos os casos sendo que as partículas de Bio-Oss® foram envolvidas por tecido ósseo. Osso autógeno obteve melhores resultados que o Bio-Oss®.
Morgolin et al., 1998	Bio-Oss®/ matriz colágena/ diferentes formulações de proteínas osteogênicas	macacos	Seio maxilar	Formação óssea em todos grupos. As partículas do Bio-Oss® estavam envoltas por tecido ósseo. Muitas partículas foram verificadas que estavam em tecido mole, contudo não havia osso adjacente às

				mesmas.
Indovina Jr & Black, 2002	Bio-Oss®/ Boné Source/ Embarc	cães	Alvéolos	Melhores resultados obtidos com Bio-Oss® juntamente com o grupo controle onde houve maior formação óssea.

TRABALHOS EM DEFEITOS ÓSSEOS EM HUMANOS – CLÍNICO E OU HISTOLÓGICO

Em 1992, iniciaram as publicações de trabalhos em humanos, embora a quantidade e o tempo de acompanhamento pós-operatório fossem pequenos.

Callan & Rohren, em 1992, relatam sobre o uso do Bio-Oss® em dois pacientes que apresentavam defeitos em rebordos. Após 4 meses, foi possível verificar que as áreas se mostravam com pouca reação inflamatória e sem reação de corpo estranho. Também foi possível verificar um íntimo contato de osso junto aos grânulos.

Associado a um estudo clínico que envolveu 6 pacientes, Skoglund et al., em 1997 associaram uma análise histológica de regiões com reabsorções severas tratadas com osso bovino anorgânico e posterior colocação de implantes. Após um período, que variou de 9 a 44 meses, foram realizadas biópsias. Os resultados obtidos mostraram que as partículas de Bio-Oss® foram biocompatíveis, o material mostrava-se

misturado com o tecido ósseo neoformado e sem sinais de processo inflamatório. Passados 44 meses, grande quantidade de material ainda foi observada, sendo que esse novo osso parecia justaposto às partículas do material. Trabalhos semelhantes foram realizados por vários autores, cujos resultados encontrados corroboraram aos obtidos por Skoglund et al. (1997) e Zitzmann et al. (2001).

Porousnaefs et al. (2002) analisaram o tratamento realizado em 8 pacientes que necessitavam do aumento vertical do processo alveolar, associando o Bio-Oss® ao osso autógeno, em bloco removido da área retro-molar. Os resultados radiográficos obtidos por meio de mensuração, demostraram uma média de aumento de 6,12mm no pós-operatório de um mês, e de 5,12mm aos 4 e aos 6 meses não houve alteração. A avaliação histológica indicou significativo processo de remodelação óssea ativa em todos os espécimens. A análise histomorfométrica indicou a presença do enxerto ósseo em 34,33% da área enxertada e 23,50% por partículas de Bio-Oss®, os demais espaços foram ocupados por tecido fibroso. Os autores concluíram que o enxerto em bloco pode manter a altura alveolar e o Bio-Oss® pode ser utilizado na periferia do bloco quando misturado com osso medular autógeno.

Quadro III – Relação dos estudos realizados com osso bovino anorgânico em defeitos ósseos em humanos.

AUTOR (S)	MATERIAL (IS)	LOcAL(IS)	RESULTADOS
Callan & Rohren, 1992	Bio-Oss®	Defeitos de rebordo	Análise clínica mostrou íntimo contato do osso aos grânulos sem reação inflamatória e corpo estranho.
Porousnaefs et al., 2002.	Bio-Oss®/ Osso autógeno	Processo alveolar	Resultados radiográficos demonstraram de 6,12mm no pós-operatório de 1 mês e de 5,12mm aos 4 e 6 meses. Concluíram que o Bio-Oss® pode ser utilizado na periferia do bloco.

TRABALHOS SOBRE SEIO MAXILAR EM HUMANOS – CLÍNICO E OU HISTOLÓGICO

Wheeler et al. (1996) publicaram uma revisão de 12 casos clínicos, onde foram realizados tratamentos de levantamento do seio maxilar, utilizando-se cinco materiais diferentes: Interpor 200®, Interpor 200® associado ao osso autógeno (intrabucal), Interpor 200® associado ao osso autógeno de crista ilíaca, Bio-Oss® e enxerto em bloco de crista ilíaca. Após um intervalo que variou de 4 a 36 meses, foram realizadas biópsias

dos locais que receberam os biomateriais. O melhor resultado obtido foi o do osso autógeno de ilíaco associado ao Interpor 200®, com 19,30% de volume ósseo, seguidos do Bio-Oss® com 16,30% e do osso autógeno intrabucal associado ao Interpor 200®, com 11,30%.

Em 1998, os estudos realizados em humanos começaram a ser publicados em maior número. Em geral, relacionando o material ao levantamento de seio maxilar e a correção de defeitos ósseos principalmente periodontais.

O levantamento de seio maxilar com Bio-Oss® foi realizado com a colocação imediata e mediata de implantes, sendo este o objetivo de estudo de Zitzmann et al. (1998) e Valentini et al. (1998). Ambos os trabalhos mostraram que há osseointegração nas áreas tratadas com Bio-Oss® e novamente, evidenciou-se o fato das partículas de Bio-Oss® estarem presentes, embora não estivessem em contato com o implante. Ainda foi possível concluir com o trabalho de Valentini et al. (1998) que, nas áreas onde havia osso preexistente, a porcentagem de contato ósseo foi de 63% e na região onde foi colocado o biomaterial, foi de 73%.

Também em 1999, Piattelli et al. realizaram um trabalho em 20 pacientes que foram tratados com levantamento de seio maxilar preenchidos com Bio-Oss®. As biópsias foram realizadas nos períodos de 6 meses a 4 anos. Em todas as situações houve neoformação óssea com

aumento da sua quantidade entre 6 e 18 meses. Em todos os casos foi possível verificar a presença de partículas de Bio-Oss®. Contudo, os autores observaram a presença de células gigantes multinucleadas ao redor dos grânulos do material, concluindo que o Bio-Oss® pode conduzir a uma apropriada osseointegração, sofrendo um processo de absorção mesmo que muito lento.

Em 2000, Yilderim et al. realizaram um estudo em humanos, associando o Bio-Oss® ao sangue venoso retirado do próprio paciente. Esse material foi colocado após o levantamento de seio maxilar. Decorridos 7 meses, foram realizadas biópsias locais com trefina de 2mm, onde, posteriormente, foram colocados implantes. Segundo os autores, essa mistura foi realizada, pois, devido à porosidade que o material possuía, ao ser embebido por sangue, este permitiria que células sangüíneas penetrassem, facilitando, desta forma, o processo de bioabsorção. Embora os resultados clínicos e histológicos tenham sido satisfatórios, a análise histológica mostrou a presença das partículas do material envolto por tecido ósseo neoformado, concluindo que haveria a necessidade de um tempo pós-operatório maior para verificar se as partículas seriam realmente absorvidas.

Fugazzoto & de Paoli (2002) publicaram o acompanhamento clínico de 167 implantes colocados na região de levantamento de seio maxilar preenchidos com Bio-Oss®. O período de

acompanhamento foi de 3 anos. O trabalho mostrou um sucesso de 97,8% dos casos, sendo as falhas relacionadas a problemas de parafunção, e em casos onde foram feitos "countersink". Segundo os autores, isso parecia dificultar a adaptação posterior do "abutment", permitindo o crescimento de tecido mole. Os autores concluíram que o material para preenchimento do seio maxilar foi ideal para esse tratamento.

Um estudo histomorfométrico retrospectivo de 5 casos clínicos, onde o Bio-Oss® foi utilizado como substituto ósseo, na técnica de "sinus lift" realizada por Tadjoedin et al. (2003), mostrou que, em todos os casos, os grânulos do material serviam como ligação para a neoformação óssea. O volume de osso na área enxertada foi inversamente proporcional à concentração do biomaterial, variando entre 23 a 37% do volume total. Com esses resultados, os autores concluíram que, embora o número de pacientes tenha sido limitado, a combinação do Bio-Oss® com osso autógeno é um bom tratamento para a técnica de elevação do seio maxilar. Trabalho semelhante foi realizado por Sartori et al. (2003) que, em estudo retrospectivo de 10 anos, demonstraram que, com o passar do tempo, há um aumento da formação óssea e a absorção do Bio-Oss®.

Quadro IV – Relação dos estudos realizados com osso bovino anorgânico em humanos no levantamento de seio maxilar.

AUTOR (S)	MATERIAL (IS)	LOcAL(IS)	RESULTADOS
Wheeler et al., 1996	Interpor 200®/ Bio-Oss®/ Osso autógeno	Seio maxilar	Melhor resultado foi obtido da associação da HA com osso autógeno de ilíaco com 19,30% de volume ósseo, seguido do Bio-Oss® com 16,30% e osso autógeno intrabucal + HA com 11,30%.
Skoglund et al., 1997	Bio-Oss®	Seio maxilar	Material integrado ao tecido ósseo neoformado, ausente de inflamação. Partículas não foram reabsorvidas.
Zitzmann & Schärer, 1998	Bio-Oss®	Seio maxilar	Partículas do material em íntimo contato com osso. Material não foi absorvido durante os 2 anos de experimentos.
Valentini et al., 1998	Bio-Oss®	Seio maxilar	Tecido osteóde em torno dos grânulos, não havendo sinais de absorção.
Piattelli et al., 1999	Bio-Oss®	Seio maxilar	Presença de células gigantes multinucleadas que estavam ao redor dos grânulos do material. Possível absorção , mesmo que muito lenta.
Yelderem et al., 2000	Bio-Oss®	Seio maxilar	Material envolto por tecido ósseo neoformado. Maior tempo para verificar a absorção.
Fugazzoto & di Paoli, 2002	Bio-Oss®	Seio maxilar	Mostrou sucesso de 97,8% chegando à conclusão que o material é ideal para o tratamento de leventamento de seio maxilar.
Tadjoedin et al., 2003	Bio-Oss®	Seio maxilar	Grânulos do material serviram como ponte para a neoformação óssea. O volume ósseo na área enxertada foi inversamente proporcional à concentração do biomaterial variando entre 23 a 37% do volume total.
Sartori et al., 2003	Bio-Oss®	Seio maxilar	Com o passar do tempo há um aumento da formação óssea e absorção do biomaterial.

1.2. CERÂMICA DE VIDRO BIOATIVO

O material de cerâmica de vidro bioativo desenvolvido em 1987 pelo Dr. Larry Hench, o Bio-Gran®, tem propriedades osseoindutivas (Lynch et al., 1999; Cosso, et al., 2000). É composto por 45% de óxido de sílica; 25,5% de óxido de cálcio; 24,5% de óxido de sódio; 6% de óxido de fósforo, e seus grânulos possuem tamanhos que variam de 300 a 355um (Wilson & Nolletti, 1990). Esse material é hidrofílico e levemente hemostático, permanece no local do defeito ósseo mesmo com sangramento. Quando umedecido em solução salina estéril ou sangue do paciente, uma massa coesiva é formada e pode ser adaptada para preencher o defeito ósseo. Eventualmente, esse material é absorvido, sendo substituído por novo osso (Schepers et al., 1993; Schepers & Ducheyne, 1997).

Uma das características particulares desse material é que, em contato com solução salina ou sangue, suas partículas rompem-se, e as células mesenquimais indiferenciadas presentes no local, diferenciam-se em osteoblastos que formarão o novo tecido ósseo (Schepers et al., 1993; Gomes, 2002). Esse tecido invagina-se para o interior das partículas através das fissuras superficiais. Hench & West (1996) relataram que, uma vez em contato com fluídos corpóreos, ocorre uma mudança imediata de íons devido a uma ligação físico-química com os tecidos mole e ósseo. A

mudança de íons cria um meio que resulta na formação de uma linha de apatita carbonata-hidroxilada (HCA), uma apatita biológica idêntica ao osso mineral, o que permite um reparo e regeneração óssea mais rápidos que outros materiais sintéticos (Schepers et al.; 1993, Schepers & Ducheyne, 1997; Cancian et al., 1999).

Esse material vem sendo indicado para correção de defeitos ósseos e também para cirurgia de "sinus lift". Cancian et al. (1992) utilizaram o Bio-Gran® em defeitos ósseos e concluíram que houve o reparo total, e as partículas de vidro bioativo foram totalmente absorvidas e substituídas por osso. Furusawa & Mizumima (1997) estudaram seu uso para cirurgias de elevação do seio maxilar e as análises biomecânica e histológica revelaram a formação de tecido ósseo novo em todos os casos.

PESQUISA SOBRE CAVIDADES ÓSSEAS EM ANIMAIS E ESTUDOS " ÏN VITRO"

Schepers et al. (1988) iniciaram as publicações referentes ao uso do vidro bioativo. Realizaram análises histológica e histométrica do material associado a implantes dentais, e o material mostrou um crescimento ósseo, comprovando suas propriedades osteocondutoras. Esses resultados foram confirmados em um trabalho em 1989, quando foram

verificados em análise da interface das fibras de reforço em dentes implantados tratados com vidro bioativo.

Schepers et al. continuaram suas pesquisas com esse material e, em 1991, os mostraram resultados obtidos em áreas desdentadas em cães, que foram preenchidas com Bio-Gran® e dois tipos de HA (Calcitite® "densa" e Interpor 200® poroso). Os autores relatam que, após um mês, o grupo Bio-Gran® mostrava suas partículas em íntimo contato com tecido ósseo. O centro das partículas parecia ter sido degradado e substituído por componentes orgânicos. Com 3 meses, as partículas estavam circunscritas por tecido ósseo. As partículas HA densas também apresentaram união com o tecido ósseo, porém, em menor extensão que a observada com vidro bioativo. Após 3 meses, houve encapsulamento fibroso das partículas de HA.

Wilson et al. (1993) iniciaram os seus estudos em relação à manutenção da altura alveolar após exodontias, uma vez que este é um dos grandes problemas enfrentados na rotina clínica. Nesse trabalho foram utilizados 12 cães, sendo inseridos 16 cones de Bioglass® nos sítios de extração. Os animais foram avaliados durante 2 anos sendo 2 animais sacrificados em cada período de um, 7, 9, 16, 24 e 48 meses. Também foram colocados implantes em 6 sítios ósseos, que já estavam reparados, depois de 8 meses. Os autores concluíram que, após 2 anos, ainda foi

possível verificar remanescente do material no local, a reação inflamatória foi mínima e, conseqüentemente, permitiu um reparo ósseo, sendo que a implantação do material em alvéolos pode auxiliar na manutenção da altura e morfologia alveolares. Segundo os autores, quatro fatores são responsáveis para o sucesso do material:

1- O desenvolvimento de uma fina, porém estável, linha de união em forma de gel na superfície do implante;
2- A união do osso alveolar com essa linha de gel;
3- A união do tecido mole ou conjuntivo também com essa linha de gel;
4- O desenvolvimento de uma interface como módulo de elasticidade semelhante ao já existente entre a interface dente-periodonto.

O vidro bioativo e a HA absorvível foram estudados por Schepers & Ducheyne (1997), que verificaram seus comportamentos no tratamento de defeitos ósseos criados em cães em períodos que variaram em: um, 2, 3, 6, 12 e 24 meses. A análise histológica mostrou uma resposta superior das partículas de vidro bioativo (300-355μm) em relação à HA absorvível. Ao lado de uma grande propriedade osteocondutiva houve estímulo para o crescimento ósseo no interior das partículas. Segundo os

autores, isso faz com que essas “ilhas” de nova formação aumentem a capacidade de reparo ósseo.

Até esse momento, pelos estudos apresentados, o vidro bioativo era considerado um dos melhores materiais de implante para preenchimento de cavidades e/ou defeitos ósseos, pois o mesmo possuía a singularidade de ser absorvido e também ser um cristal biologicamente ativo, auxiliando na diferenciação de células osteoprogenitoras em células osteoblásticas e, principalmente, por permitir o crescimento ósseo no interior de suas partículas (Furuswa et al., 1997).

A partir de 1998, as pesquisas com esse material tomam a direção relacionada ao entendimento do funcionamento biológico dele, e os estudos "in vitro" tornaram-se mais freqüentes.

Laczka-Osyczka et al. (1998) realizaram estudos com cultura de células, cujo objetivo era verificar o comportamento de três diferentes composições do vidro bioativo. Foram realizadas culturas de osteoblastos e osteoclastos. Na cultura de osteoblastos, a atividade da fosfatase alcalina foi verificada, dependendo do tipo de coágulo. As análises de nódulos mineralizados foram realizadas no 10º e 14º dia. Neste estudo, o crescimento celular nas cerâmicas de vidro formaram os primeiros nódulos por volta do 9º dia, não havendo diferenças estatísticas entre os três tipos de composições nos 10º e 14º dias. Contudo, no 14º dia houve maior tendência

de mineralização na cerâmica que possuía maior quantidade de óxido de cálcio e menor quantidade de óxido de sílica. No 6º dia, a formação de osteoclastos ocorreu em todas as culturas, e a composição do vidro bioativo interferiu significativamente no número de células multinucleadas. Assim, quanto maior a quantidade de sílica, maior o número de células multinucleadas.

A análise final do estudo demonstrou que há uma completa biocompatibilidade do vidro bioativo, favorecendo a formação de nódulos mineralizados. A expressão fenotípica celular pareceu influenciada pela microestrutura, rugosidade superficial e características gerais da capacidade de reter coágulo, o que aumenta a reatividade da superfície.

Furusawa et al. (1998) realizaram trabalho para avaliar o comportamento do vidro bioativo na formação óssea em mandíbulas de ratos. Para esse estudo foram confeccionados defeitos ósseos, o material foi implantado e as análises histológicas foram realizadas após um, 2, 3, 4, 8 e 16 semanas. Também foi realizada averiguação de elétrons através de micro-análise para determinar a presença e a distribuição de elementos específicos nas amostras da 16ª semana.

Os resultados indicaram que, com uma semana houve redução das bordas agudas pelas absorções dos grânulos e com duas semanas foi possível notar a presença de fissuras. Os autores acreditam que este evento

está relacionado à contração mecânica e infiltração de células osteogênicas nas mesmas. A partir da 3º semana, as fissuras atingiram o centro de muitos grânulos e foi possível observar células osteogênicas invadindo os espaços intragranular. Na 4º semana, foi verificada a absorção do centro dos grânulos por fagocitose e formação precoce da matriz osteóide. O mesmo evento continuou a ser observado na 8º semana, sendo possível verificar a formação de novo osso dentro das áreas de absorção. Na 16º semana, o tecido ósseo estava envolvendo muitos grânulos. A micro-análise de elétrons indicou a formação de uma cápsula de fosfato de cálcio e a absorção de sílica em vários níveis.

Para Schepers et al. (1998), se uma das indicações desse material é para o preenchimento de cavidades, a sua colocação em alvéolos após exodontias também poderia ser realizada, com o objetivo de manter a altura e largura dos mesmos, auxiliando na posterior colocação de implantes.

Em 2000, Santos pesquisou o processo de reparo alveolar após a implantação de quatro tipos de biomateriais: Osteogen®, Biohapatita®, Bio-Gran® e o Bio-Oss®. Os períodos de avaliação foram de 30, 60 e 200 dias. Os resultados demonstraram que a Biohapatita® apresentou poucas partículas nos períodos iniciais, sendo essas envoltas por tecido conjuntivo entre o trabeculado ósseo e, no final dos estudos, essas

partículas não foram observadas no interior do alvéolo. Resultados parecidos foram observados no grupo do Osteogen®, embora este grupo tenha demonstrado maior formação óssea a partir da superfície. No grupo do Bio-Oss®, as partículas não foram totalmente absorvidas, apresentando deposição óssea direta de tecido ósseo sobre sua superfície. O grupo do Bio-Gran® mostrou, em alguns cortes, que as partículas deste material estavam ausentes, sugerindo absorção, e em alguns espécimens, elas continuavam presentes e envoltas por tecido mineralizados.

Carvalho et al. (2002) compararam a ação do Bio-Oss® e do Bio-Gran® em defeitos ósseos realizados em tíbia de ratos. A análise dos resultados foi histológica, e demonstrou que o tecido ósseo neoformado se organizou mais rapido ao redor das partículas de vidro bioativo, sendo que a formação de fissuras e penetração de tecido ósseo, no seu interior, foi uma das características marcantes.

Quadro V – Relação dos estudos realizados com vidro biativo em em cavidades ósseas em animais e estudos "in vitro".

AUTOR (S)	MATERIAL (IS)	INDIVÍDUO (S)	LOcAL(IS)	RESULTADOS
Schepers et al., 1988	Bio-Gran®	cães	Alvéolo	Demonstrou propriedades osteocondutoras.
Schepers et al., 1991	Bio-Gran®/ Calcitite®/ Interpor 200®	cães	Alvéolo/ Rebordo/ Defeitos periodontais	Com 1 mês P.O. Bio-Gran® teve suas partículas em íntimo contato com tecido ósseo. Com 3 meses P.O. apresentavam-se circunscritas por tecido ósseo. HA densa mostrou união com o tecido ósseo, porém em menor extensão que o Bio-Gran®.
Wilson et al., 1993	Bioglass	cães	Alvéolo	Após 2 anos havia presença do material. Reação inflamatória mínima permitindo o reparo ósseo sendo auxiliar na manutenção da altura e morfologia óssea.
Schepers et al., 1997	Biovidro/ HA absorvível	cães	Defeitos ósseos	Resposta superior das partículas de biovidro estimulando o crescimento ósseo no interior das partículas.
Turnen et al., 1997	Biovidro/ Carbonato de cálcio	coelhos	Tíbia	Pequena reação inflamatória, não sendo observados em estágios mais tardios. Não houve absorção do biovidro, havendo formação óssea ao redor das partículas. O carbonato de cálcio foi absorvido.
Laczka-	Biovidro	"in vitro"	Cultura de	Completa

Osyczka et al., 1998			osteoblastos e osteoclastos	biocompatibilidade do biovidro, favorecendo a formação de nódulos mineralizados. A expressão fenotípica celular parece ser influenciada, pela microestrutura, rugosidade superficial e características gerais da capacidade de reter coágulo, aumento da reatividade da superfície.
Furusawa et al., 1998	Bio-Gran®	ratos	mandíbula	Observou erosão das partículas com o aparecimento de fissuras e absorção da porção central dos grânulos, com formação óssea.
Santos, 2000	Osteogen®/ Biohapatita®/ Bio-Gran®/ Bio-Oss®	cães	Alvéolo	Biohapatita® e o osteogen® tiveram suas partícuals envoltas por tecido conjuntivo. O Bio-Oss® não tiveram suas partiículas absorvidas apresentando deposição óssea junto a superfície do material. No Bio-Gran® foi observado seu grânulo partido envoltos por tecido mineraliado.
Carvalho et al., 2002	Bio-Oss®/ Bio-Gran®	rato	Tíbia	Tecido ósseo neoformado organizou-se mais rapidamente ao redor das partículas do Bio-Gran® com formação de fissuras e penetração de tecido ósseo no seu interior.

Quadro VI – Relação dos estudos realizados com vidro biativo em animais – outras situações.

AUTOR (S)	MATERIAL (IS)	INDIVÍDUO(S)	LOcAL(IS)	RESULTADOS
Schimizu et al., 1997	Biovidro/ HA absorvível	"in vitro"	Cultura de células do ligamento periodontal	O biovidro ativou células necessárias para formação óssea melhor que a HA, mostrando-se inofensiva para células do ligamento periodontal.
Johnson et al., 1997	Perioglass®	coelhos	Defeitos periimplantar	Formação de matriz osteóide com 3 semanas no grupo onde foi colocado o Perioglass®. O grupo controle mostrou-se com poucas mudanças. Com 24 semanas os dois grupos estavam em condições similares.
Schepers et al., 1998	Bio-Gran®/ Implantes osseointegrados	cães	rebordo	Crescimento ósseo ao redor das partículas do material. Maior formação ao redor do implantes onde foi utilizado o Bio-Gran®.
Xynos et al., 2000	Bio-Gran®	"in vitro"	Cultura celular	O Bio-Gran® tem a habilidade de estimular o crescimento e a diferenciação osteogênica em osteoblastos humanos, tendo potencial para o uso na bioengenharia tecidual.
Silver et al., 2001	Bioglass®/ 45S5/ 58S/77	"in vitro"	Cultura de osteoblastos	Todos os tipos tiveram efeitos bem definidos na cultura de osteoblastos. A concentração de Ca^{2+}, pode influenciar na atividade enzimática intracelular. Concluíram que o 45S5 devem ter efeitos benéficos no crescimento ósseo e

				processo de reparo.
Camarini, 2001	Bio-Gran®/ Bio-Oss®	cães	mandíbula	Materiais com atividade osteocondutoras e sem reação inflamatória junto aos grânulos do Bio-Oss® que apresenta maior número de partículas envoltas por osso. Bio-Gran® menor números de partículas sugerindo absorção parcial.
Dieudonné et al., 2002	Gel de sílica/ Gel de titânio	"in vitro"	Cultura de osteoblasto	Adesão celular ocorreu na cultura de gel de titânio, contudo o maior crescimento celular ocorreu no gel de sílica, havendo diferença na capacidade osteogênica do gel de sílica.
Gorustovich et al., 2002	Bio-Gran®	rato	Tíbia	Partículas de sílica presentes no Bio-Gran® são importantes para acelerar a neoformação óssea ao redor dos implantes de titânio.
Bossetti et al., 2003	Biovidro	"in vitro"	Cultura de osteoblastos	A nova formulação do gel-vidro 75S mostrou ter um potencial melhor para sua aplicação na engenharia tecidual, induzindo a um aumento da síntese de colágeno.

PESQUISAS SOBRE DEFEITOS ÓSSEOS E ALVEOLARES EM HUMANOS - CLÍNICA E OU HISTOLÓGICA

No ano de 1993, Schepers et al. realizaram estudo clínico com 88 pacientes foram tratados em 106 defeitos ósseos: extrações dentárias, cavidades císticas ou defeitos de crista alveolar. Esses pacientes foram

acompanhados clínica e radiograficamente durante 1, 3, 6, 12 e 24 meses pós-operatórios. Os autores concluíram que o material foi efetivo no tratamento dos defeitos ósseos, e que depois de 6 meses, a análise radiográfica evidenciou a ausência de diferença da radiopacidade entre as partículas do material e do tecido ósseo.

Estudos em humanos, avaliando o vidro bioativo (Perioglass®) para tratamento em defeitos ósseos periodontais tornaram-se freqüentes. Zamet et al. e Shapoff et al., ambos em 1997, publicaram seus resultados clínicos. Nas duas situações, os autores concluíram que esse material permitiu melhores resultados, em comparação a outros materiais, restaurando os defeitos ósseos após o controle clínico de um ano. Shapoff et al. (1997), neste mesmo estudo, ainda verificaram a atuação desse material em cavidade cística e de apicectomia, cujos acompanhamentos clínico e radiográfico permitiram chegarem à conclusão de que foi um excelente material para auxiliar no processo de reparo ósseo dessas áreas.

Os resultados dos trabalhos em humanos continuaram a serem publicados, em especial sobre os tratamentos em defeitos periodontais.

Ong et al. e Lovelace et al., ambos em 1998, realizaram acompanhamentos de casos clínicos, e foi possível verificar que o vidro bioativo permitiu neoformação óssea nos defeitos ósseos, havendo diminuição das bolsas periodontais. Contudo, Lovelace et al. (1998)

compararam os resultados com um grupo tratado com DFDBA e, segundo os autores, os resultados foram similares, embora o vidro bioativo tenha produzido os resultados em um período menor quando comparado com o DFDBA.

O estudo da manutenção das dimensões do alvéolo após a exodontia foi realizado por Camargo et al. (2000). Para este estudo foram selecionados 16 pacientes que necessitavam da exodontia de 2 incisivos e 2 pré-molares. Após a exodontia, os alvéolos foram preenchidos pelo material e suturados oclusivamente. Foram colocados pinos de titânio que serviram de pontos para o controle das mensurações. Uma nova cirurgia foi realizada após 6 meses. Nesse momento, o lado tratado apresentou aumento da qualidade óssea, diminuindo a reabsorção alveolar e reabsorção horizontal.

O preenchimento de alvéolos com o vidro bioativo, baseados em resultados anteriores, passou a ser mais freqüente.

Uma análise histológica de alvéolos preenchidos com vidro bioativo e DFDBA foi realizada por Froum et al. (2002). Os resultados demonstraram que o Bio-Gran® foi o material que apresentou ação osteocondutora, cujos efeitos positivos no alvéolo puderam ser observados aos 6 e 8 meses.

Sy (2002) relata o preenchimento de alvéolos, após exodontias, com esse material, realizando um acompanhamento clínico e

radiográfico nos períodos de 6, 12, e 18 meses. O autor conclui que, com o passar do tempo, o material mais denso radiograficamente que o tecido ósseo vai diminuindo, e, aos 18 meses, o trabeculado ósseo tinha uma aparência de normalidade na radiografia.

Quadro VII – Relação dos estudos realizados com vidro bioativo em humanos nos defeitos alveolares e ósseos.

AUTOR (S)	MATERIAL (IS)	LOcAL(IS)	RESULTADOS
Schepers et al., 1993	Bio-Gran®	Defeitos ósseos	Material efetivo para o tratamento de defeitos ósseos. Após 6 meses a análise radiográfica evidenciou ausência de diferença de radiopacidade entrte as partículas do material e o osso.
Shapoff et al., 1997	Perioglass®	Cavidade cística e apicectomia	Excelente material para auxiliar no processo de reparo ósseo.
Camargo et al. 2000	Bio-Gran®	Alvéolo	Aumento da qualidade óssea, diminuindo a reabsorção vertical e horizontal, em relação ao lado controle.
Froum et al., 2001	Bio-Gran® / DFDBA	Alvéolo	Bio-Gran® apresentou ação osteocondutora. Resultados favoráveis verificados após 6 a 8 meses.
Sy, 2002	Biovidro	Alvéolos	Com o passar do tempo o material que é mais denso radiograficamente que o tecido ósseo vai diminuindo, sendo que aos 18 meses radiograficamente tenham aparência de normalidade.

TRABALHOS SOBRE SEIO MAXILAR EM HUMANOS – CLÍNICO E OU HISTOLÓGICO

Furusawa & Mizunuma (1997) realizaram avaliação clínica em 25 pacientes submetidos à técnica de levantamento de seio maxilar e preenchidos com o Bio-Gran®. Após um período de 7 meses, foram feitas biópsias com trefina de 2,7mm, avaliadas histologicamente. Também foram realizadas comparações biomecânicas em relação ao tecido ósseo com um analisador de dureza. Foram obtidas 70 amostras, das quais 20 foram usadas para análise de dureza e 50, para análise microscópica. Os resultados da análise quanto à dureza mostraram que tanto as áreas com o material como o osso tinham durezas semelhantes, possuindo, pela análise histológica, propriedades osteocondutivas, com cristais biologicamente absorvíveis, que permitam a formação de tecido ósseo.

Estudos relacionando o levantamento de seio maxilar com o preenchimento com Bio-Gran® vinham sendo realizados e publicados, há algum tempo, com resultados satisfatórios, como os de Furusawa et al. (1997). No entanto, houve maior quantidade de trabalhos a partir de 2000.

Leonetti et al. (2000) publicaram a revisão de 3 casos, onde o levantamento de seio maxilar foi realizado, usando como material de

preenchimento o vidro bioativo. Após um ano de acompanhamento, os autores chegaram à conclusão de que o material foi clinicamente eficiente, permitindo a formação de quantidade e qualidade óssea suficientes para a colocação de implantes.

Cordiolo et al. (2001) avaliaram clinicamente a associação do osso autógeno com Bio-Gran® e posterior colocação de implantes ósseo integrados na região de seio maxilar após a técnica de "sinus lift". Depois 9 a 12 meses da primeira cirurgia, no momento da colocação dos cicatrizadores, foi realizada biópsia local, e os implantes encontravam-se estáveis. A análise histológica qualitativa mostrava a formação óssea na cavidade sinusal com absorção parcial do Bio-Gran®, que estava envolto por tecido ósseo neoformado sem a presença de tecido fibroso.

Quadro VIII – Relação dos estudos realizados com vidro bioativo em humanos no levantamento de seio maxilar.

AUTOR (S)	MATERIAL (IS)	LOCAL(IS)	RESULTADOS
Furusawa & Mizunuma, 1997	Bio-Gran®	Seio maxilar	Partículas apresentavam fissuras e escavações na porção central, não havendo resposta inflamatória e crescimento ósseo adjacente aos grânulos.
Leonetti et al., 2000	Biovidro	Seio maxilar	Clinicamente o material mostrou-se eficiente, permitindo a formação de qualidade e quantidade óssea suficiente para colocação de implantes.
Cordiolo et al., 2001	Bio-Gran®/ Osso autógeno	Seio maxilar	Análise qualitativa mostrou a formação óssea na cavidade sinusal com reabsorção parcial do Bio-Gran® que se encontrava envolto por tecido ósseo sem presença de tecido fibroso.

Quadro IX – Relação dos estudos realizados com vidro bioativo em humanos em outras situações clínicas.

AUTOR (S)	MATERIAL (IS)	LOCAL(IS)	RESULTADOS
Zamet et al., 1997	Perioglass®	Defeitos periodontais	Permitiu melhores resultados nesta situação em comparação com outros materiais, restaurando os defeitos ósseos após 1 ano de controle clínico.
Ong et al., 1998	Biovidro	Defeitos periodontais	Permitiu neoformação óssea, com diminuição das bolsas periodontais.
Lovelace et al., 1998	Biovidro/ DFDBA	Defeitos periodontais	Resultados similares entre os grupos, embora o biovidro tenha produzido os resultados em período menor que o DFDBA.

2. PLASMA RICO EM PLAQUETAS

A engenharia tecidual vem sendo uma das áreas mais pesquisadas, pois, a partir dela, tecidos estão sendo reconstruídos, podendo, em muitas situações, em curto prazo, devolver funções orgânicas que não poderiam ser recuperadas por estarem danificadas (Langer et al., 1993).

Uma das primeiras pesquisas relacionadas à construção tecidual foi iniciada pela descoberta das BMPs por Urist em 1966. Os fatores de crescimento, hoje, resultaram em linhas de pesquisas bastante estudadas. Contudo, todas essas pesquisas, infelizmente, estavam até então, limitadas aos resultados laboratoriais e aos tratamentos experimentais, não podendo ser utilizadas no dia-a-dia do clínico (Langer et al., 1993).

O uso do plasma rico em plaquetas (PRP) autógeno passou a ser um procedimento ao qual clínico pode ter acesso (Langer et al., 1993). Assim, desde o começo dos anos 90, iniciou-se uma exploração paralela relacionada ao plasma rico com plaquetas autógenas (PRP), uma vez que ele está diretamente relacionado a fatores de crescimento (Marx et al. 1998).

O PRP tem sido o limite da ruptura entre a estimulação e a aceleração do reparo / cicatrização dos tecidos ósseo e o mole. Isto representa uma "relativa" nova biotecnologia. Devido às novas descobertas, há um grande mal entendido na aplicação do PRP, e, conseqüentemente, o

uso se faz de forma incorreta (Marx, 2001). Por esse motivo, conceitos básicos sobre esse material são necessários.

2.1. Definição

O PRP é um volume de plasma que contém uma concentração de plaquetas maior. O número normal de plaquetas no sangue está entre 150.000/µl a 350.000/µl com média de 200.000/µl. No PRP essa concentração é de 1.000.000/µl (Marx, 2001).

O fato do PRP ser extraído do próprio indivíduo torna-o livre de transmissão de doenças como HIV e hepatite. Com o concentrado de plaquetas aumenta-se também o número de fatores de crescimento na área cirúrgica. Sete tipos de fatores de crescimento biologicamente determinados encontram-se no interior das plaquetas: PDGFaa, PDGFbb, PDGFab, TGFβ1, TGFβ2, VEGF, EGF (Marx, 2001; Gomes, 2002).

Células humanas, como plaquetas, não sintetizam os fatores de crescimento, porque eles estão dentro da própria célula. Fatores de crescimento recombinantes, por sua vez, são únicos e estão disponíveis em altas doses no interior dos tecidos (Marx, 2001).

O PRP não é osteoindutor, as BMPs são as únicas conhecidas para realizar esta função. Contudo, a combinação de BMPs e um tecido

osteóide imaturo sugere que o PRP poderá acelerar a atividade da BMP no futuro (Marx, 2001; Davies, 2000).

A ação do PRP está relacionada à capacitação de células de reparo, aumentando o seu número (mitogênese) e a neoformação vascular (angiogênese) também. Assim, não é indicado usar o PRP como substituto ósseo e de outros materiais. Contudo, ele tem mostrado promover o estímulo da porção medular nos enxertos autógenos, melhorando a formação óssea quando aplicado em combinação com o osso autógeno e substitutos ósseo não celular (Marx et al., 1998; Marx, 2001).

2.2. Terminologia

Existem alguns erros na terminologia relacionada ao PRP. Alguns utilizam o termo "concentrado plaquetário", o que não é correto, porque ele é uma composição sólida de plaquetas sem plasma e não possui coágulo. O uso clínico da concentração plaquetária é em volume menor que o plasma e o PRP. Termos como "gel de plaquetas" também são incorretos, uma vez que o PRP não é somente um gel com plaquetas, mas também é o coágulo humano com um aumento do número de plaquetas (Marx, 2001).

2.3. Obtenção do PRP e seus derivados

Recentes avanços tecnológicos permitem o processamento do PRP, utilizando um pequeno volume sangüíneo, aumentando a

concentração de plaquetas e realizando a re-infusão dos outros componentes do sangue não utilizados (Sanchez et al., 2003).

O PRP deverá ter uma concentração de 1.000.000 plaquetas/µl em 5ml de volume. A realização desse processo deve transcorrer de forma totalmente estéril. É um processo de fácil obtenção e um protocolo deve ser seguido sempre. Hoje existem basicamente dois protocolos que se diferenciam pelo tipo de ciclagem: única ou dupla. A ciclagem única proposta por Aldecoa, em 2000, deverá ser realizada da seguinte forma:

- ➔ Coleta do sangue venoso, referente à quantidade em função do tamanho da intervenção cirúrgica.
- ➔ Sangue colocado em tubos de 5ml selecionados para hemograma, contendo soluções anticoagulantes de citrato de sódio em 3,8% (± 10cc em alvéolos pós-exodontia e 30cc para levantamento de seio maxilar)
- ➔ Centrifugação em aparelho específico, condizente com a velocidade e o eixo da rotação pré-estabelecido (1200rpm por 8 minutos a 240G).
- ➔ Obtém-se uma segmentação fracionada do tecido sangüíneo: a primeira porção referente à parte figurada,

e a segunda referente ao plasma sangüíneo contendo o agregado plaquetário.

- ➔ Pipetagem das amostras não coaguladas até à absorção do fragmento rico em plaquetas.
- ➔ Ativação da coagulação e início da degranulação plaquetária. Com aproximadamente 25% do total do volume sangüíneo, o cloreto de cálcio 10% é adicionado, ativando a coagulação e formando o gel de plaquetas (5 a 7 minutos), que poderá ser acelerada quando misturada com osso autógeno. O gel é mantido em 37ºC até a sua aplicação local
- ➔ Aplicação no local da intervenção cirúrgica ou associações diversas.

A ciclagem dupla proposta por Whitman et al., 1997, e seguida por Marx et al., 1998, propõe que a separação dos elementos do sangue seja realizada primeiramente com uma centrifugação com 5600rpm, separando o plasma pobre em plaquetas dos eritrócitos e as plaquetas dos leucócitos. Com uma velocidade menor de 2400rpm, em uma segunda centrifugação, as plaquetas e os leucócitos são separados das células vermelhas do sangue. Removendo essas células vermelhas cerca de 30ml do plasma com concentrado de plaquetas é o que resta. Para a preparação do

gel do plasma rico em plaquetas segue o protocolo anterior (Carlson & Roach Jr, 2002).

Estudos recentes estão sendo realizados no intuito de verificar se há diferença entre esses dois protocolos de obtenção do PRP, como o realizado por Eby em 2002. Ele fez uso em 32 pacientes que foram submetidos à utilização do PRP para complementação de procedimentos cirúrgicos. Segundo o autor, que pesquisou somente a centrifugação única, neste procedimento há uma concentração de plaquetas em 358% quando comparado ao volume sangüíneo normal. Além disso, é um procedimento simples, rápido e diminui o custo final do procedimento. Segundo Sanchez et al. (2003), entre os dois métodos não há diferenças dignas de nota.

2.4. Aplicação do PRP

O estudo dos fatores de crescimento combinados com a descoberta da sua extração das plaquetas motivou o uso do gel do PRP em vários setores de cirurgia, como a otorrinolaringológica, cirurgia de cabeça e pescoço, cirurgia oral, maxilofacial e periodontal. Em princípio, Whitman et al., em 1997, utilizaram o PRP como forma alternativa da "cola de fibrina", que foi utilizada durante muitos anos como agente hemostático local e adesivo cirúrgico. Entretanto, há uma diferença importante na composição entre o PRP e a "cola de fibrina": a alta concentração de fibrinogênio no PRP (Carlson & Roach Jr, 2002).

O interesse pelo uso do PRP, desde então, vem aumentando, principalmente quanto à sua capacidade de melhorar a cicatrização, em especial nos sítios onde há enxertos autógenos. Poderá ser usado também associado a material heterógeno/homógeno ou aloplástico sobre o tecido mole e como membrana biológica (Schmitz & Hollinger, 2001). Contudo, em todas as situações há um objetivo comum: aumentar a quantidade e qualidade óssea nos sítios edêntulos ou que necessitam de reparo (Sanchez et al., 2003).

O uso do PRP pode melhorar o sucesso dos enxertos ósseos ao redor de implantes dentais. Em trabalho descrito por Garg, em 2000, as associações desses fatores melhoram consideravelmente a osseointegração; em especial nos pacientes desdentados e com reabsorção severa de maxila; em pacientes com osteoporose e também outras doenças que interferem no processo de cicatrização dos tecidos.

Contudo, o coágulo de PRP deve ser usado assim que for fabricado, pois, a ativação das plaquetas, inicia-se, imediatamente e a secreção dos fatores de crescimento completam-se depois da primeira hora. Depois de entrarem em apoptose, as plaquetas liberação um montante adicional de fatores de crescimento por mais oito dias (Verastro, 1999).

PESQUISA SOBRE ANIMAIS EM CAVIDADES ÓSSEAS E ESTUDOS "IN VITRO".

Sekido et al. (1987) realizaram uma análise do PDGF em plaquetas, usando células de fibroblastos retiradas de ratos da linha 3y1. Essas células foram colocadas em 24 placas de cultura, usando 1% de PDGF leve extraído de plaquetas por quatro dias. A proliferação foi mediada pelo aumento do conteúdo de DNA. Essa análise possibilitou a mensuração da atividade do PGDF biológico. Este, em concentrado plaquetário, teve o mesmo nível das plaquetas frescas durante preservação de 120 horas a 25ºC, sendo a atividade do fator de crescimento semelhante entre as duas culturas.

Pfeilschefter et al. (1990) realizaram trabalho "in vitro" para verificar a estimulação local dos fatores de crescimento na aposição de matriz óssea. Para isso foi feita uma comparação entre os fatores de crescimento: fator de crescimento de insulina I (IGF-I), PDGF e o TGFβ. A grande dúvida dos autores era verificar se, separadamente, cada um desses fatores tinha potencial para estimular a formação óssea. Concluíram que tanto o IGF-I, PDGF e o TGFβ têm uma dose dependente para efeitos da estimulação de aposição de matriz óssea. Contudo, eles possuem efeitos diferentes na síntese de colágeno quando comparados ao efeito da formação óssea. Dos três fatores, o TGFβ é o mais efetivo na estimulação da aposição

da matriz óssea. Em contraste, o efeito é mais lento na síntese de colágeno. Existe diferença também quanto ao metabolismo dos osteoblastos. O PDGF é mais importante na proliferação de células percursoras de osteoblastos, enquanto o TGFβ é mais importante na síntese de matriz de osteoblastos maduros. Estes efeitos são complementares no metabolismo de osteoclastos, e isto pode ser explicado porque o IGF-I, o PDGF e o TGFβ aumentam os efeitos sobre a aposição óssea.

A partir de 1992, as pesquisas com os fatores de crescimento começam a aumentar, e a sua associação com materiais aloplásticos ou com enxertos autógenos começam a ser realizadas.

Becker et al., em 1992, realizaram um estudo experimental em 4 cães. Como metodologia foram realizadas a extração dental e a colocação de implantes de 10mm, mas antes criou-se um defeito ósseo de 5mm de largura e 3mm de profundidade na parede vestibular. Esse estudo foi dividido em três grupos:

- **Grupo I:** somente a colocação de membrana de ePTFE
- **Grupo II**: osso desmineralizado associado à membrana de ePTFE
- **Grupo III**: fator de crescimento associado à membrana de ePTFE

Após 18 semanas foram realizadas as análises clínicas e histológicas. Os resultados clínicos demonstraram que somente a colocação da membrana de ePTFE ou a sua combinação com o PGDF/IGF-I tiveram resultados semelhantes, enquanto a associação de membrana de ePTFE e DFDBA foi menos efetiva na promoção de crescimento ósseo. A análise histológica demostrou que o uso de PDGF/IGF-I aumentou significativamente o montante de osso adjacente aos implantes, quando comparado à membrana de ePTFE usada isoladamente ou associada ao DFDBA.

Kim et al. (2001) realizaram um estudo para avaliação do efeito do PRP na formação óssea em defeitos ósseos criados em calvárias de ratos. A divisão do estudo foi realizada em dois grupos:

- **Grupo I**: PRP associado ao Bio-Oss®
- **Grupo II**: uso somente do Bio-Oss®

Os animais foram sacrificados em dois tempos: 4 e 8 semanas. Foram realizadas as análises radiográficas dos blocos ósseos removidos e densidades ósseas foram analisadas com auxílio de programas de computador. Também foi realizada histomorfometria das peças. Por todos os parâmetros utilizados, demonstrou-se que houve uma maior densidade óssea do PRP associado ao Bio-Oss®.

Kim et al. (2002) tiveram como objetivo avaliar a eficácia do DFDBA usado isoladamente e em associação com o PRP na melhora da osseointegração em cães. Para a realização desse trabalho os autores utilizaram 10 cães, fazendo as cirurgias em crista ilíaca. As cavidades foram preparadas com 4mm de profundidade e 6 mm de diâmetro e 30 (4x10mm) implantes foram inseridos, nas cavidades, distribuídos da seguinte maneira:

- **Cavidade 1**- sem preparo: grupo controle
- **Cavidade 2** – DFDBA
- **Cavidade 3** – DFDBA associado ao PRP

Os animais foram sacrificados em 6 e 12 semanas. A análise histológica mostrou que todo os defeitos ósseos, ao redor dos implantes, que foram tratados com o DFDBA, com ou sem a associação com o PRP, tiveram uma neoformação óssea. O grupo controle mostrou uma neoformação somente na porção mais inferior dos implantes. Os resultados histomorfométricos revelaram uma grande porcentagem de contato ósseo com DFDBA e o PRP comparado ao uso isolado de DFDBA e o controle.

A associação do osso autógeno com o PRP foi estudada por Agholoo et al., em 2002. Para a realização desse trabalho foram utilizados 15 coelhos e as cirurgias foram feitas em calotas cranianas, criando-se defeitos de 8mm de diâmetro e os grupos foram assim divididos:

- **Grupo I**: enxerto autógeno

- **Grupo II**: PRP

- **Grupo III**: enxerto autógeno associado ao PRP

- **Grupo IV**: controle

Os animais foram avaliados em um, 2 e 4 meses. Os resultados mostraram significante aumento na quantidade óssea pela análise histomorfométrica e densidade óssea radiográfica tanto no grupo I quanto no III, quando comparado ao grupo controle e o PRP usado isoladamente.

Em 2003, Nunes-Filho realizou trabalho em cães com o objetivo de verificar a atuação do PRP associado ao enxerto autógeno em defeitos ósseos em mandíbulas. Foram avaliados três grupos:

- **Grupo Controle**: coágulo

- **Grupo PRP**

- **Grupo do PRP associado ao enxerto autógeno**

Decorridos 120 dias, os animais foram sacrificados e realizou-se a análise histológica. O autor concluiu que o PRP colocado isoladamente na cavidade não promove o reparo ósseo, contudo, quando associado ao osso autógeno particulado promove o reparo ósseo completo das cavidades.

Quadro X – Relação dos estudos realizados com Fatores de crescimento/ PRP em animais estudos in vitro".

AUTOR (S)	MATERIAL (IS)	INDIVÍDUO	LOCAL(IS)	RESULTADOS
Sekido et al., 1987	Ação do PDGF	"in vitro"	Cultura de fibroblasto	PDGF biológico teve a mesma ação das plaquetas frescas quando mantidas há uma temperatura de 25^0C por 120 horas.
Pferlschefter et al., 1990	Ação do IGF-I/PDGF/TGFß	"in vitro"	Cultura de osteoblastos	IGF/PDGF/TGF-ß em dose dependente nos efeitos de estimulação de aposição óssea. Possuem efeitos distintos na síntese de colágeno. TGF- ß tem efeito maior na aposição de matriz óssea e o PDGF na proliferação de pré-osteoblástos.
Lynch et al., 1991	PDGF/IGF-I	cães	Mandíbula	Combinação do PDGF e IGF-I indicam que há estimulo a regeneração óssea ao redor dos implantes acelerando as fases de reparo.
Becker et al., 1992	PDGF/IGF-I/osso desminerado	cães	Mandíbula	PDGF/IGF-I aumentou significativamente a qualidade óssea quando comparado ao grupo onde foi usada a membrana de ePTFE isoladamente ou associado ao osso desmineralizado.
Kim et al., 2002	PRP/DFDBA	cães	Crista ilíaca	Os defeitos tratados com o DFDBA com ou sem PRP teve a neoformação. A análise histométrica revelou uma porcentagem de contato ósseo maior quando houve a associação do PRP ao DFDBA.
Aghaloo et al. 2002,	PRP/ osso autógeno	coelhos	Calota	A análise histométrica e radiográfica mostrou um aumento da quantidade óssea nas cavidades de enxerto autógeno com ou

				sem a associação do PRP quando comparado ao grupo controle ou ao grupo com o uso somente do PRP.
Nunes-Filho, 2003	PRP/osso autógeno	cães	Mandíbula	PRP isolado não permitiu a neoformação óssea. Quando associado ao osso autógeno particulado obteve-se reparo da cavidade.

Quadro XI – Relação dos estudos realizados com Fatores de crescimento/ PRP em animais em outros sítios e estudos in vitro".

AUTOR (S)	MATERIAL (IS)	INDIVÍDUO	LOCAL(IS)	RESULTADOS
Lynch et al., 1991	PDGF/IGF-I	cães	Defeitos periodontais	A combinação do PDGF/IGF-I teve significante influência no aumento da formação do ligamento periodontal acelerando o processo de reparo após a cirurgia.
Abdennagy et al., 1992	PDGF	"in vitro"	Cultura de osteoblastos	Houve aumento da síntese de DNA, sendo que o PDGF tem efeitos mitogenicos e são respnsáveis pelos estágios de diferenciação.
Hugles et al., 1992	PDGF	"in vitro"	Culturas de células de calvárias de ratos	PDGF/TGF ß promovem a quimiotaxia das células. Células mais novas têm respostas melhores que células mais antigas.
Cho et al., 1995	PRP	cães	Defeitos periodontais	PRP isoladamente mostrou-se mais eficiente para o tratamento de defeitos em furcas classe III.
Yamamoto et al., 2002	PRP	ratos	Alvéolos	PRP levou a uma menor formação de osso na fase inicial de reparação do alvéolo, mas com presença de osso normal na fase

				final do experimento.
Zechner et al., 2003	PRP	porcos	Alvéolos	Maior quantidade de osso junto ao implante ocorreu com a utilização do PRP, sendo esta ação mais significativa em tempos recentes.

PESQUISAS SOBRE DEFEITOS ÓSSEOS ALVEOLARES E EM CAVIDADES EM HUMANOS – CLINICO E OU HISTOLÓGICO

Marx et al. (1998) iniciaram trabalhos em humanos, usando o PRP associado aos enxertos ósseos autógenos. Os autores selecionaram 88 casos de reconstrução mandibular com enxertos medulares que possuíam defeitos de 5cm ou maiores, em virtude da remoção de tumores benignos/malignos sem a realização de radioterapia. Esses pacientes foram divididos em dois grupos:

- **Grupo I**: enxerto medular autógeno sem a associação com o PRP
- **Grupo II**: enxerto medular autógeno associado com o PRP

Todos os enxertos foram removidos da crista ilíaca posterior. Radiografias panorâmicas foram realizadas 2, 4 e 6 meses pós-operatório. Após 6 meses foram colocados implantes e com uma trefina de 2,9mm foi removido um segmento ósseo para análise histomorfométrica. Os resultados radiográficos mostraram que os enxertos sem o PRP, no 2º e no 4º meses,

estavam com características de imaturidade, mas aos 6 meses demonstravam maturidade óssea. O grupo em que se realizou a associação com o PRP demostrou radiograficamente que a maturidade óssea foi atingida mais rapidamente quando comparado ao grupo I.

A análise histomorfométrica indicou que o enxerto ósseo, de uma forma geral, produziu osso trabecular na maior parte das áreas. Contudo, aquele onde foi utilizado o PRP demonstrou um osso trabecular com melhor densidade óssea do que o grupo que não recebeu o PRP. Com este estudo sugere-se que o PRP acelera a formação óssea e aumenta a sua quantidade nos primeiros 6 meses.

Os estudos do PRP, até então, estavam restritos à sua capacidade de fator de crescimento e sua aplicação em cavidades ósseas. Man et al. (2000) publicaram um trabalho relacionando o uso do PRP com uma "cola natural" de fibrina em cirurgias estéticas. Segundo os autores, as vantagens do seu uso estão relacionadas ao controle de sangramento e à melhora no processo de cicatrização. Marchac et al. (1987) ainda complementam que, no pós-operatório, há uma diminuição de hematomas e edemas sem drenagens, melhorando a satisfação do paciente.

Contudo, na área odontológica, os defeitos ósseos ainda eram os principais motivos de pesquisas.

Kassolis et al. (2000) publicam uma revisão de 15 casos tratados com o PRP, colocados nos alvéolos após exodontias ou no levantamento de seio maxilar, sendo nesse caso associado ao osso desmineralizado numa proporção de 0,5g/2cc PRP. Decorridos 120 a 168 dias, os pacientes foram submetidos à nova intervenção cirúrgica para colocação de implantes. Nesse momento foi realizada biópsia do local para análise histológica. Os resultados demonstraram que 89% dos implantes foram considerados clinicamente com êxito, apresentando completa ancoragem óssea, sem mobilidade e aparência radiográfica normal depois de 12 meses. A avaliação histológica revelou numerosas áreas osteóides e formação óssea ao redor do osso desmineralizado, sem evidências de células inflamatórias. Os autores concluíram que a combinação do osso desmineralizado ao PRP pode ser uma terapêutica alternativa para áreas que irão receber implantes.

Anitua (2001) realizou trabalhos usando o PRP no preparo de sítios cirúrgicos para a colocação de implantes. Sabendo-se da dificuldade da manutenção da altura e largura ósseas após a exodontia, este estudo teve por objetivo verificar se o PRP permitia uma neoformação óssea mais rápida nos alvéolos. Vinte pacientes foram submetidos a exodontias:

- **Grupo I**: foi aplicado o PRP no alvéolo após a exodontia

- **Grupo II**: foi o controle, sendo o alvéolo preenchido somente por coágulo.

Foram realizadas biópsias entre a 10ª e 16ª semanas, usando-se uma trefina de 3mm. Os resultados demostraram que em todos os 10 pacientes tratados com PRP a epitelização foi muito melhor que no grupo controle. As imagens radiográficas revelaram que a regeneração das áreas tratadas estava completa em oito dos 10 pacientes tratados. A análise histológica revelou a formação de um osso compacto maduro, com um trabeculado bem organizado, e morfologia normal em ambos os casos. Contudo, houve significante diferença na organização trabecular entre os grupos entre a 10ª e a 16ª semanas. A regularização óssea com osso maduro foi melhor tanto em quantidade quanto em qualidade no grupo tratado.

Com o mesmo interesse, Lekovic et al. 2002 analisaram o processo de reparo em defeitos ósseos em 21 pacientes. Houve dois grupos:

- **Grupo I**: PRP associado ao osso bovino mineral e regeneração tecidual guiada
- **Grupo II**: PRP associado ao osso bovino poroso mineral

Os estudos incluem defeitos em profundidade e em largura. Após 6 meses realizaram novas cirurgias. Os resultados, no exame clínico, revelaram que em ambos os grupos houve a redução das bolsas, bem como

uma melhora na fixação periodontal do dente, não havendo diferenças estatisticamente significantes no procedimento cirúrgico em ambos os grupos.

Uma dúvida começou a surgir também no ano de 2002, quando os autores se questionaram se haveria influência quanto à idade e o gênero na concentração de fatores de crescimento. Weibrich et al. (2002), pesquisando sobre este assunto, analisaram 213 pacientes (158 homens e 55 mulheres) com idades que variaram de 17-62 anos, na Universidade de Johannes Gutenberg, no Instituto de Transfusão Sangüínea. Após a obtenção do PRP, amostras eram retiradas para a mensuração dos níveis de PDGF-AB e PDGF-BB; TGFß $_1$ e TGFß $_2$; e IGF-I. Os resultados obtidos permitiu aos autores concluirem que não há diferenças nos níveis desses fatores de crescimento quando se compara a idade e o gênero.

Como visto nos trabalhos anteriores, segundo os autores, os suplementos da terapia com o PRP promove uma melhora significativa da formação óssea (Marx et al., 1998), pois auxilia no aumento de osteoblastos locais, como verificado em estudos "in vitro". Contudo, o volume ósseo reduz significativamente com o tempo e, quando se compara, após um ano, o volume final ósseo com ou sem o uso do PRP, por exemplo, nos enxertos ósseos, mostra-se igual. Assim, quais seriam os reais benefícios do uso do

PRP? Ainda não existem bases biológicas suficientes que possam dar um suporte clínico quanto ao uso do PRP (Schmitz & Hollinger, 2001).

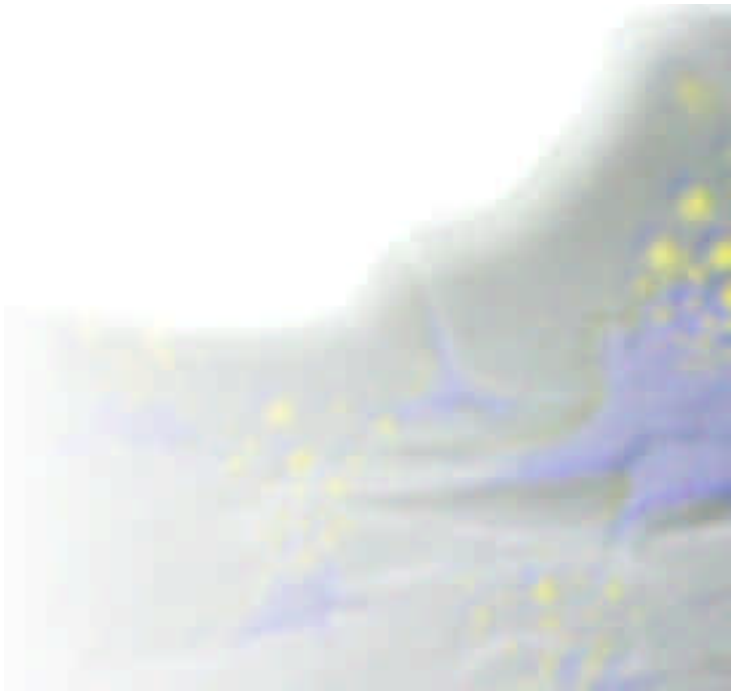
Quadro XI – Relação dos estudos realizados com PRP em defeitos ósseos e alveolares em humanos.

Autor(s)	Material (is)	LOCAL (IS)	RESULTADOS
Marchac et al., 1987	PRP	Cirurgias estéticas	Pós-operatório houve uma diminuição de hematomas e edemas
Marx et al., 1998	PRP/enxerto autógeno	Reconstrução mandibular. Defeitos ⩾5cm	O grupo em que se realizou a associação com o PRP demonstrou radiograficamente uma maturidade óssea mais rápida. A análise histométrica mostrou que a associação com o PRP permitiu a formação de um osso trabecular com melhor densidade.
Kassolis et al., 2000	PRP/ osso desmineralizado	Alvéolos/ Levantamento de seio maxilar	Presença de numerosas áreas osteóides, sendo uma terapêutica alternativa para áreas que irão receber implantes.
Man et al., 2000	PRP	Cirurgias estéticas	Controle de sangramento e melhora do processo de cicatrização.
Anitua, 2001	PRP	Alvéolos	PRP melhorou epitelização em nível clínico. Histologicamente mostou que a organização óssea e maturação foi melhor tanto em quantidade como em qualidade.
Lekovic et al., 2002	PRP/ Osso bovino desmineralizad/ ROG PRP/ Osso bovino poroso	Defeitos ósseos	Clínico: redução de bolsas, bem como melhora da fixação periodontal. Não houve diferenças entre os grupos.
Weibrich et al., 2002	PRP	Concentração de fatores de crescimento no PRP/ idade/gênero	Não há diferenças nos níveis dos fatores de cresciemnto quando comparamos gênero e idade.

Quadro XII – Relação dos estudos realizados com PRP em outras situações clínicas em humanos.

Autor(s)	Material (is)	LOCAL (IS)	RESULTADOS
Robiony et al., 2002	PRP/Osso autógeno	Distração osteogênica	Análise radiográfica: mineralização precoce. Redução do tempo para instalação de implantes.
Froum et al., 2002	PRP/ Bio-Oss®/Osso autógeno	Sítios de implantes em seio maxilar	Análise histrométrica indicou que o uso do PRP aos implantes não produziu diferenças significativas em relação ao osso vital na interface com implante.
Rodriguez et al., 2003	PRP/DFDBA	Levantamento de seio maxilar	PRP associado ao DFDBA é eficiente como tratamento para o aumento de seio maxilar simultâneo a inserção de implantes em área posterior de maxila severamente reabsorvida.

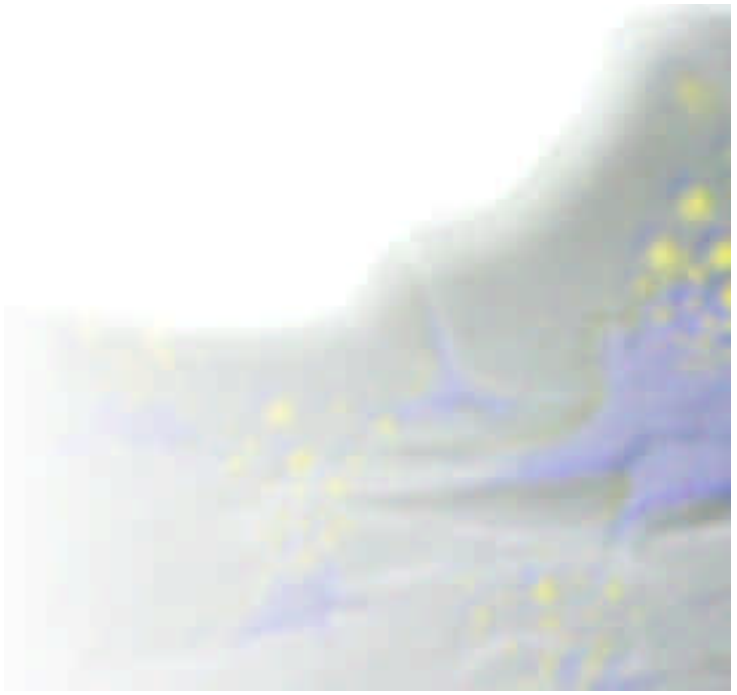
Proposição



3 Proposição

A proposta deste trabalho é avaliar histológica e histomorfometricamente., o processo de reparo de cavidades ósseas confeccionadas em mandíbulas de cães e preenchidas com plasma rico em plaquetas; plasma rico em plaquetas associado ao osso bovino anorgânico ou ao vidro bioativo.

Material e Método



4 Material e Método

Nesta pesquisa, foram utilizados 4 cães sem raça definida, machos, adultos jovens do mesmo porte e peso variando de 10 a 12 Kg, cedidos pelo Biotério da Faculdade de Medicina do Câmpus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP. Todos foram submetidos a exames clínicos rotineiros, adotados pelo biotério, antes dos procedimentos experimentais, incluindo a contagem de plaquetas para que os mesmos tivessem níveis semelhantes. Os animais foram mantidos com dieta padrão à base de ração sólida (Ração Ativada Productor, Anderson Clayton S.A.), antes e durante a experimentação, exceto no período pré-operatório.

Os animais foram medicados antes dos procedimentos cirúrgicos com 1 ml de Rompun (Bayer do Brasil S/A) como pré-anestésico e pentobarbital sódico* como medicação anestésica, através de administração endovenosa na concentração de 33mg/Kg e mantida venóclise permeável. Durante o ato cirúrgico, os animais foram contidos em seus membros na mesa cirúrgica, em posição de decúbito dorso-horizontal.

---

* Tionenbutal, Abbott.
** Lever Industrial

Como a área de atuação foi à mandíbula, realizou-se inicialmente a tricotomia seguida da anti-sepsia com solução de Polivinilpirolidona-iodo** (PVP-I), mais o uso de campos estéreis e toda paramentação necessária para manutenção do campo asséptico.

TÉCNICA PARA OBTENÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS

Foi utilizado aparelho G.A.C. Medicale – Modelo P.R.P, que separa o sangue total, de acordo com o gradiente de densidade de seus componentes. (Figura 1)

Figura 1. Centrífuga utilizada para separação das fases branca e vermelha do sangue.

Como os cães tinham peso entre 10 a 12 Kg, foi coletado 20ml de sangue total autógeno por meio de um catéter venoso periférico (Figura 2). O sangue foi obtido concomitante ao procedimento cirúrgico.

Figura 2. Aspiração de sangue venoso periférico.

** Lever Industrial

O sangue coletado foi posto em tubos para hemograma, contendo 3,8% de citrato de sódio (anticoagulante). A seguir, realizou-se a centrifugação com uma velocidade de 1200rpm por 8 a 10 minutos, até a separação dos elementos sangüíneos em três camadas, que permaneceram distintas de acordo com suas diferenças de densidade. A camada superior, com porcentual de 40 a 45% do volume total de cor mais clara, representa o fibrinogênio, que é considerado plasma pobre em plaquetas (PPP). Na intermediária, de cor mais amarelada, representa 30 a 35% do volume total, considerado um plasma médio em plaquetas. A camada inferior e, conseqüentemente a mais densa, de cor vermelha, representa 15 a 20% do volume total, nesta camada o plasma é considerado rico em plaquetas (PRP). A pipetagem foi realizada em cada fração e o total obtido de PRP em microlitros foi dividido por 40ul/ml. O resultado indicou a quantidade em microlitros de cloreto de cálcio a 10%, a ser adicionado para formação do gel autógeno de PRP. Após a obtenção do gel de PRP, este foi mantido em uma temperatura de 37ºC até ser utilizado. (Figuras 3 e 4).

Figura 3 Separação dos elementos sangüíneos em três camadas: superior (cor clara- fibrinogênio); intermediária (cor alaranjada) e inferior (cor vermelha – PRP).

Figura 4. Gel autógeno de PRP mantido a uma temperatura de 37°C.

PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Após o preparo inicial, foi realizado o ato cirúrgico, e foram observados todos os princípios fundamentais de técnica cirúrgica. Inicialmente, foi realizada a incisão retilínea, com lâmina de bisturi número 15 (Figura 5) sobre a base mandibular, com aproximadamente 5 cm de extensão.

Figura 5. Inicio da incisão com lâmina 15 em região de borda inferior de mandíbula.

Logo a seguir, a hemostasia, dissecção e divulsão por planos até o periósteo. Este foi incisado, expondo-se a região a ser trabalhada. Com o campo cirúrgico exposto, iniciou-se a confecção das cavidades ósseas, padronizadas pela utilização de brocas do tipo trefina de 5mm* (Figura 6). Cada perfuração foi feita sob abundante irrigação com solução fisiológica.** O defeito foi monocortical.

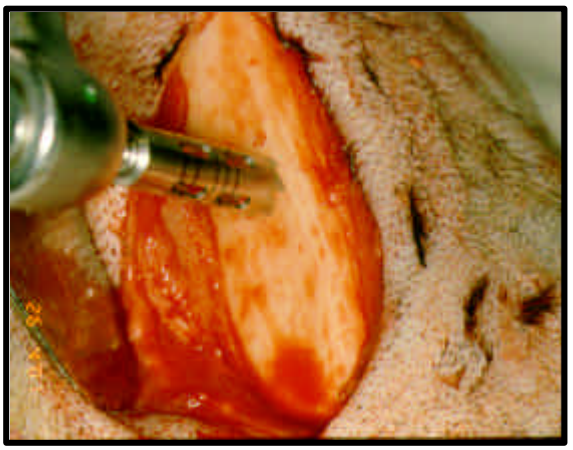


Figura 6. Confecção das cavidades com trefina de 5mm.

As cavidades, num total de quatro para cada hemimandíbula do animal, foram preparadas numa distância aproximada de 0,5cm entre elas. As cavidades foram divididas em 4 grupos:

GRUPO I: plasma rico em plaquetas associado ao osso bovino anorgânico

GRUPO II: plasma rico em plaquetas associado ao vidro bioativo

GRUPO III: plasma rico em plaquetas e coágulo

GRUPO IV: controle, preenchido somente por coágulo.

* Tissue Functional, Buenos Aires
** Mesquita, White

Concluído o preenchimento das cavidades com seus respectivos materiais (Figuras 7), elas foram recobertas por uma membrana bovina (Figuras 8). As suturas das feridas recobrindo-se as cavidades foram realizadas por planos, com pontos interrompidos, utilizando-se Poliglactina 910** 4.0 e Nylon** 5.0 para porção da pele (Figura 9).

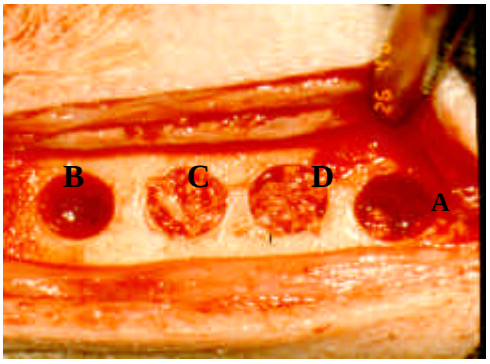


Figura 7. Cavidades preenchidas: A – coágulo; B – gel autógeno de PRP - C – Bio-Gran® associado ao gel autógeno de PRP – D Bio-Oss® associado ao gel de PRP.

Figura 8. Recobrimento das três cavidades com uma membrana óssea cortical bovina.

Figura 9. Sutura contínua do plano externo com fio de nylon 5.0.

** Ethicon
* Ethicon

Os animais, no período pós-operatório, foram medicados com benzetacyl (penicilina benzatina) 50.000UI[***] injetável; diclofenaco sódico[****] 75mg injetável intramuscular (1 ampola em cada 12horas por 2 dias); além de dipirona[*****] (2cc intramuscular em cada 6 horas por 1 dias). Foi mantida alimentação sólida.

Os animais foram sacrificados após 120 dias com overdose de KCl a 10% após se anestesiar o animal com pentobarbital a 30mg/Kg. Os fragmentos da mandíbula obtidos foram fixados em solução aquosa de formaldeído a 10%, durante 24h, lavados por mais 24h e descalcificados em solução de EDTA a 20% por período de 60 dias .

Após a descalcificação, as peças foram recortadas em dois sentidos:

- em 50% dos grupos (dois de cada) foram realizados cortes longitudinais;
- em 50% dos grupos (dois de cada) foram realizados cortes transversal

Para o estudo histológico e histométrico foram realizados cortes com seis micrometros de espessura, montando-os na lâmina e corados com hematoxilina e eosina.

[***] Baytril, Bayer
[****] Voltaren, Ciba-Geigy
[*****] Dipirona, Hoechst

ANÁLISE HISTOLÓGICA

Para análise histológica, foi feita por meio de microscopia óptica.

ANÁLISE HISTOMÉTRICA

Para a análise histométrica, as imagens foram capturadas com uma câmera digital acoplada ao microscópio óptico por meio de um programa denominado Videocap.

A seguir, as imagens foram levadas ao programa ImageLab 2000 (Figura 10), onde foram realizadas as quantificações, em porcentagem, das áreas de neoformação óssea, tecido conjuntivo e biomaterial.

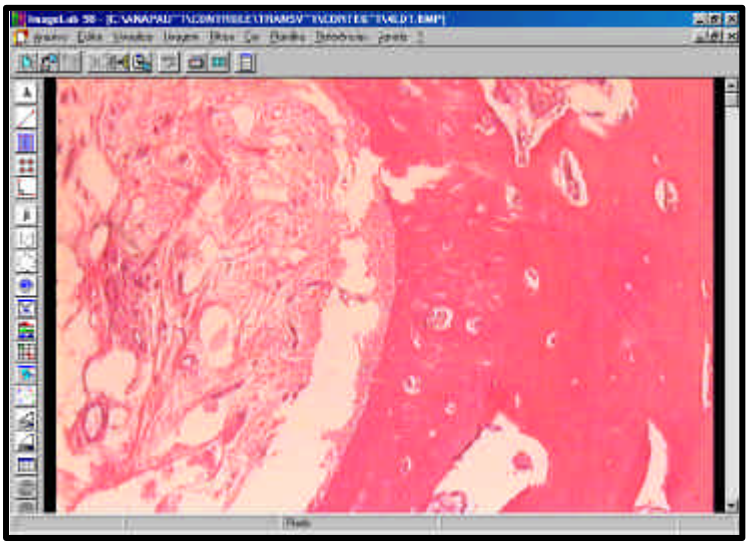


Figura 10. Imagem capturada pelo programa videocap. A seguir essa imagem é levada para o programa ImagemLab 2000.

Por meio de barras de ferramentas, o tamanho da imagem foi diminuído na proporção de 2:1, para facilitar a quantificação, visualizando-a na totalidade. A seguir, iniciou-se a quantificação com auxílio do comando “selecionar regiões”, onde foi determinada a área de neoformação óssea. (Figuras 11)

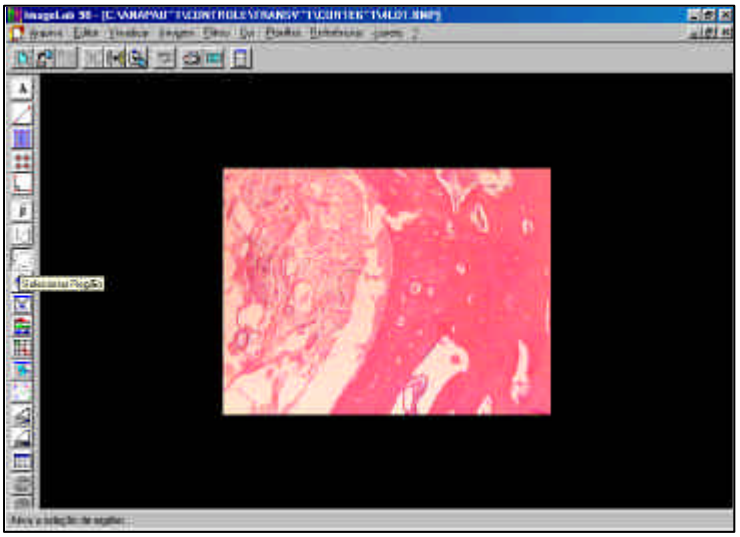


Figura 11. Com a ferramenta selecionar região é realizada a delimitação da área de neoformação óssea.

Finalizada a seleção da região de interesse, o aplicativo “Cálculo de Região” (Figura 12) foi utilizado para podermos obter a neoformação óssea em porcentagem. A seguir, com o auxílio da “Planilha de Cálculo”, os valores de percentagem da área selecionada (Figura 13) foram obtidos e apresentados em forma de planilha, sendo salvos em arquivos. (Figura 14)

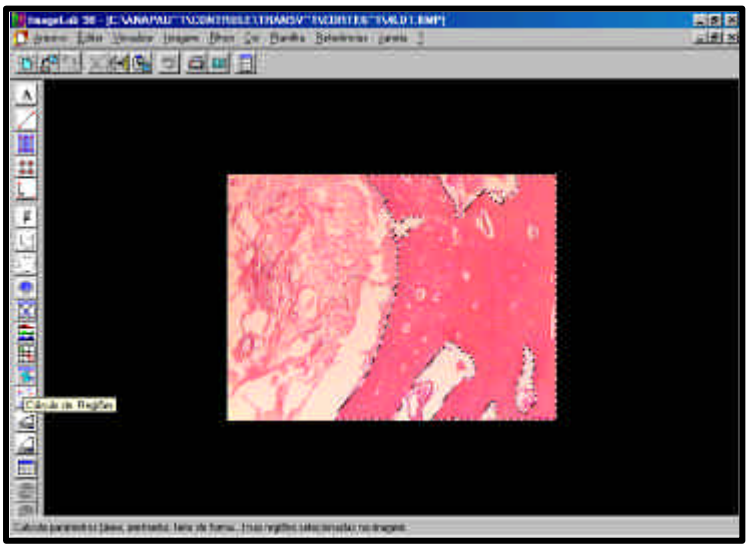


Figura 12. Cálculo da região.

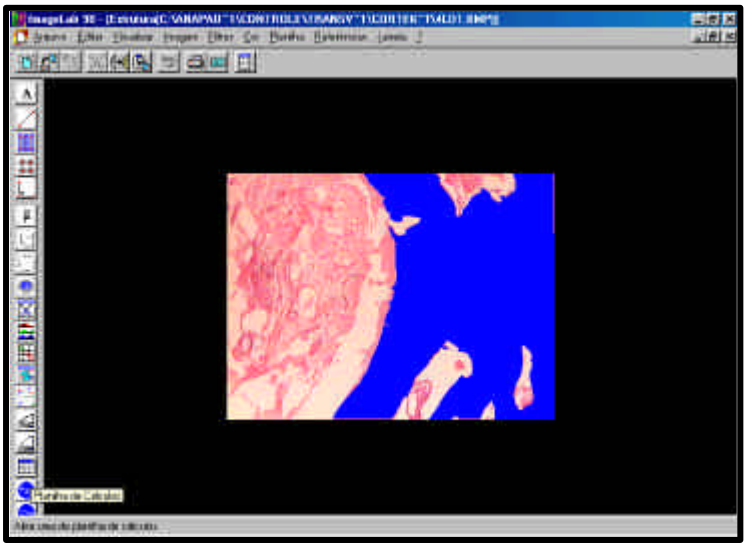


Figura 13. Área neoformada selecionada. Ícone da planilha de cálculo selecionado.

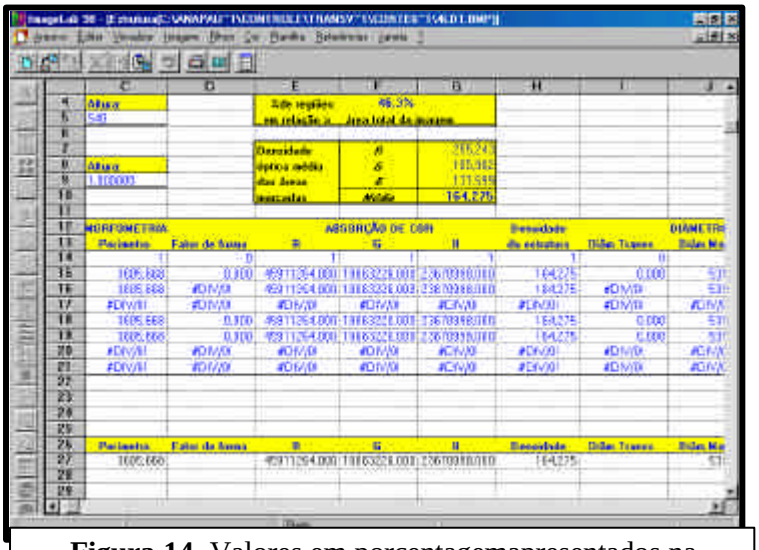


Figura 14. Valores em porcentagemapresentados na planilha de cálculos.

Com posse dos valores de cada grupo, eles foram colocados em tabelas para posterior quantificação estatística. (Anexo 1)

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística constituiu-se da análise de variância em parcelas subdivididas (“split-plot”) para os valores obtidos em neoformação óssea, com a finalidade de verificar se existe diferença entre os grupos, cortes, e interação grupo vesus corte. A análise estatística foi completada posteriomente com o teste de Tukey, em nível de significância de 5%. Os dados foram testados quanto à normalidade e homogeneidade de variâncias, pré-requisitos necessários para a análise de variância.

Para a análise dos cortes transversais foram removidos os valores obtidos do cão 1, pois os seus valores foram analisados somente nos grupos do PRP e PRP/Bio-Gran®, e os dados obtidos foram discrepantes (“outlier”) em relação aos demais grupos.

As análises estatísticas foram efetuadas, empregando-se o programa SAS (Statistical Analysis System)[*].

Corte longitudinal e corte transversal – Profundidade de 6 e 13.

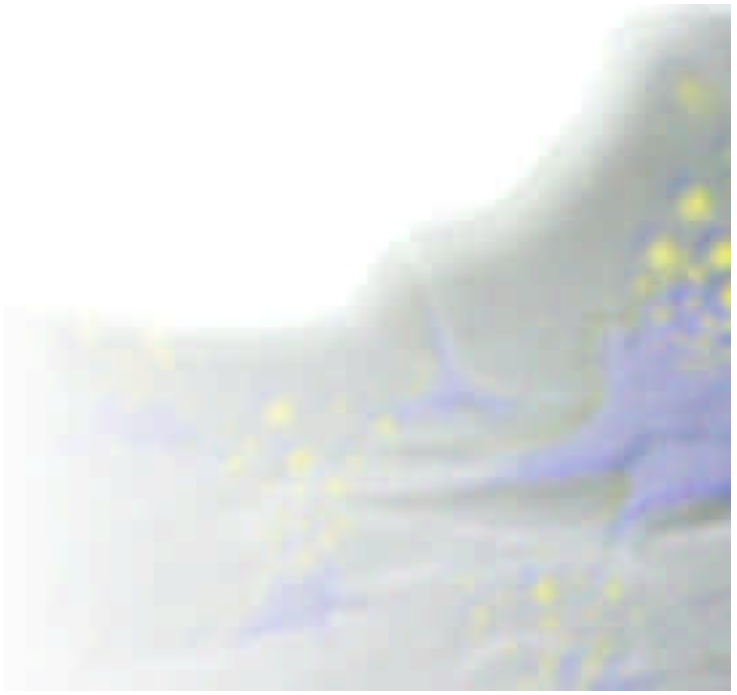
GRUPO DE ANÁLISE
Controle/ PRP/Bio-Gran®/Bio-Oss®
Controle/ PRP
Controle/Bio-Gran®
Controle/Bio-Oss®
PRP/ Bio-Gran®
PRP/ Bio-Oss®
Bio-Gran®/ Bio-Oss®

Corte longitudinal e no corte transversal – Comparando a profundidade de 6 e 13.

GRUPO DE ANÁLISE
Controle/Controle
PRP/PRP
Bio-Gran®/ Bio-Gran®
Bio-Oss®/Bio-Oss®

[*] SAS Institute Inc., SAS OnlineDoc®, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1999

Resultado



5 Resultado

5.1. Resultados Histológicos

Para a obtenção destes resultados foram realizados cortes longitudinais e transversais das cavidades ósseas em 120 dias após o ato cirúrgico.

5.2.1. GRUPO CONTROLE

Corte Longitudinal: as cavidades ósseas encontram-se praticamente preenchidas por tecido ósseo, refazendo a cortical óssea. Na porção central da loja cirúrgica permanece pequena área com tecido conjuntivo sem diferenciação óssea. Quando comparado ao tecido ósseo preexistente, o tecido ósseo neoformado apresenta, ainda, espaços intertrabeculares amplos, caracterizando tecido em fase de maturação (Figuras 15 e 16).

Em alguns espécimens, observa-se que a reparação da cavidade óssea ocorre de forma centrípeta, isto é, das laterais para o centro. Nestes casos, a porção central da loja cirúrgica está preenchida por tecido conjuntivo rico em fibras colágenas. Na região mais profunda evidencia-se

rede de fibrina, sugerindo a ocorrência de hemorragia e provável deslocamento do coágulo sangüíneo (Figuras 17 e 18). O tecido ósseo segue o mesmo padrão reparacional em todos os espécimens.

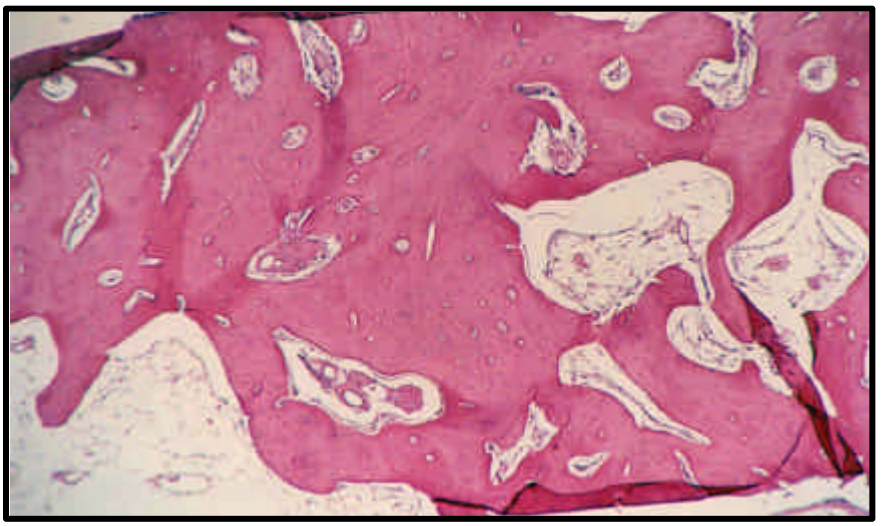


Figura 15. Tecido ósseo pré-existente e tecido ósseo neoformado. H.E. 25X. Aumento do original

Figura 16. Tecido ósseo neoformado (TON) apresentando espaços inter-trabeculares amplos caracterizando tecido em fase de maturação. H.E. 25X. Aumento do original.

Figura 17. Reparação da cavidade ocorrendo de forma centrípeta (das laterais para o centro) (setas). H.E. 25X. Aumento do original.

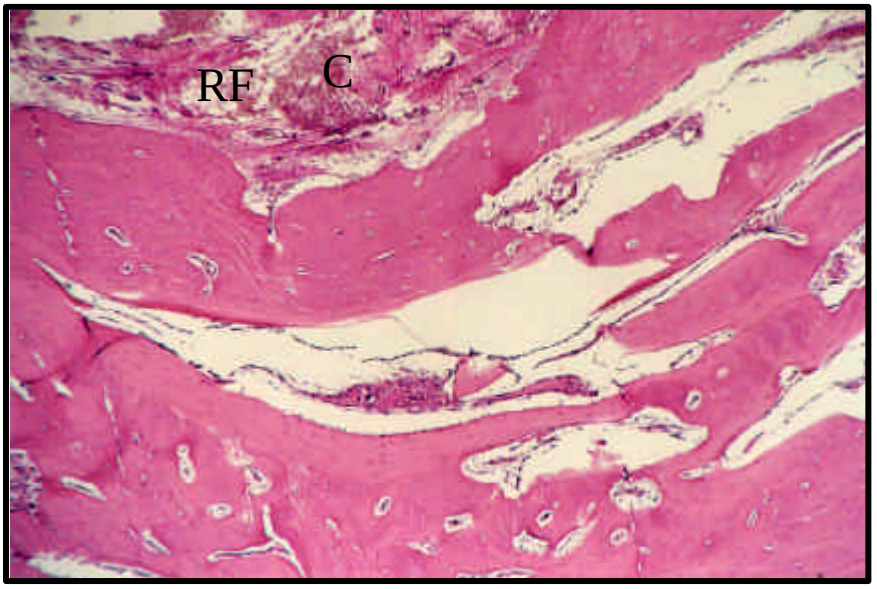


Figura 18. Presença da rede de fibrina (RF) e coágulo (C) no interior da cavidade. H.E. 25X. Aumento do original.

Corte Transversal: nos espécimens que mostram reparação total nos cortes longitudinais, apresentam-se de forma semelhante também nos cortes transversais. A presença de tecido conjuntivo na região central do corte observado nos cortes transversais apresenta, na região superficial, imagem da cavidade óssea bem delimitada pelo osso remanescente das paredes desta loja. Esta parede óssea é caracterizada por tecido ósseo maduro, com espaços intertrabeculares reduzidos com formação concêntrica, mostrando, na porção central, coágulo sangüíneo remanescente e fibras colágenas. À medida que os cortes transversais são aprofundados, é possível observar tecido ósseo neoformado, preenchendo totalmente a cavidade (Figura 19). Esta ocorrência sugere que o reparo ocorre no sentido centrípeto e do fundo da cavidade para a região mais superficial. Mostra ainda que no defeito ósseo persiste a presença de tecido conjuntivo rico em fibras colágenas (Figura 20).

No espécime que ocorre a persistência do defeito ósseo mais amplo, o corte transversal detecta uma maior cavidade no centro, com tecido conjuntivo rico em fibras colágenas e rede de fibrina (Figura 21). Em maior aumento, é possível observar a presença de osteoblastos na superfície do tecido ósseo em formação (Figura 22).

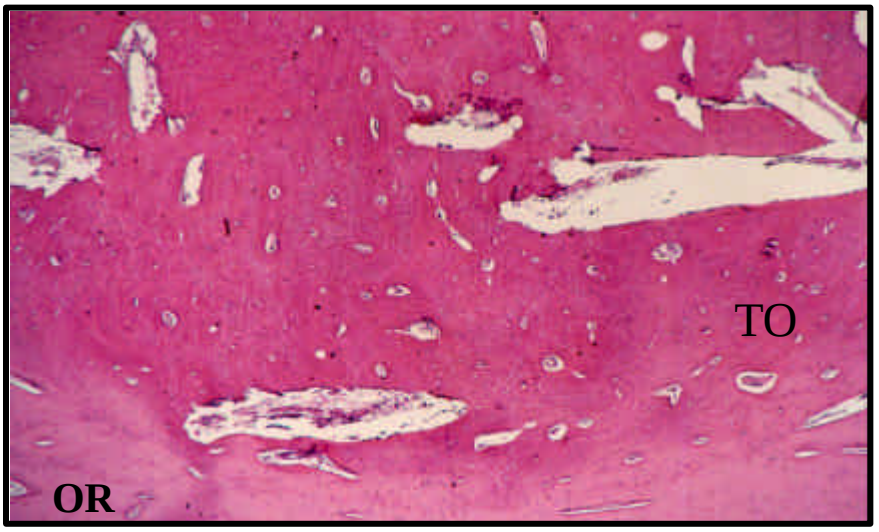


Figura 19. Imagem da cavidade óssea bem delimitada pelo osso remanescente (OR), caracterizada por tecido ósseo maduro (TO), espaços inter-trabeculares reduzidos com formação concêntrica. H.E. 25X. Aumento do original.

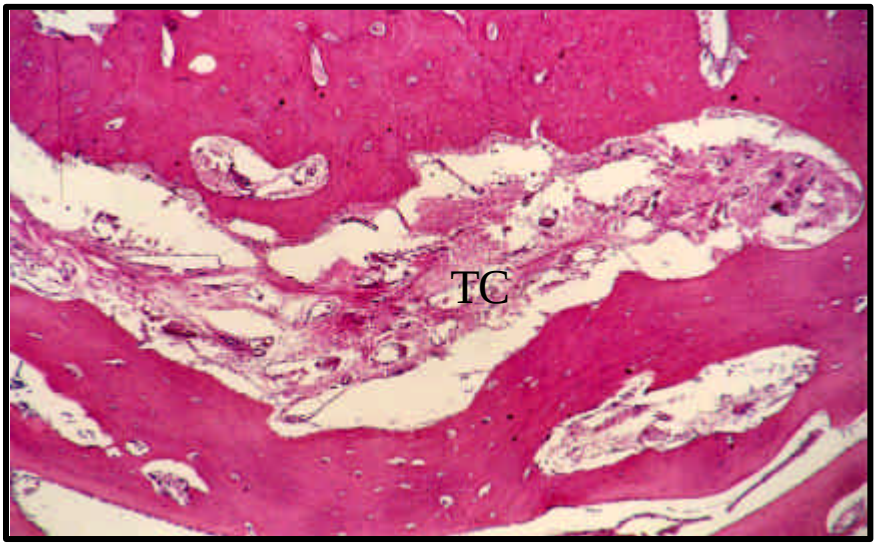


Figura 20. Defeito ósseo com a presença de tecido conjuntivo (TC) rico em fibras colágenas. H.E. 25X. Aumento do original.

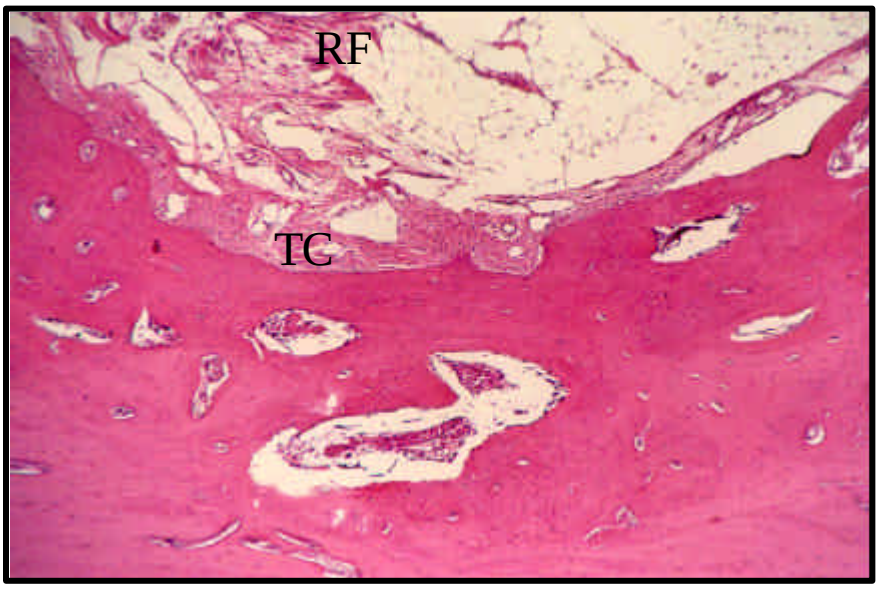


Figura 21. Corte transversal em defeito ósseo mais amplo mostrando uma maior cavidade ao centro com tecido conjuntivo (TC) rico em fibras colágenas e rede de fibrina (RF). H.E. 25X. Aumento do original.

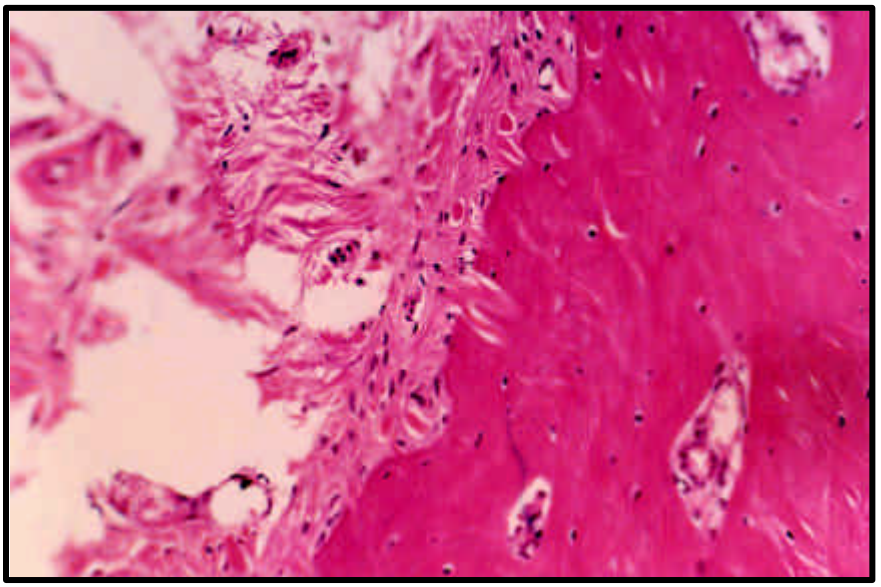


Figura 22. Presença de osteoblastos na superfície do tecido ósseo em formação. H.E.160X. Aumento do original.

2.2. GRUPO PRP

Cortes Longitudinais: em todos os espécimens observa-se a presença de tecido conjuntivo no centro da cavidade óssea, sugerindo defeito ósseo central. O processo de reparo ocorre ao longo de toda a cavidade, das paredes laterais para a porção central da loja cirúrgica (Figuras 23 a 24). Abaixo do tecido conjuntivo é possível visualizar rede de fibrina. A neoformação óssea, na região superficial da cavidade, é caracterizada por tecido ósseo, com presença de osteócitos e espaços medulares amplos denotando osteoatividade (Figuras 25 e 26).

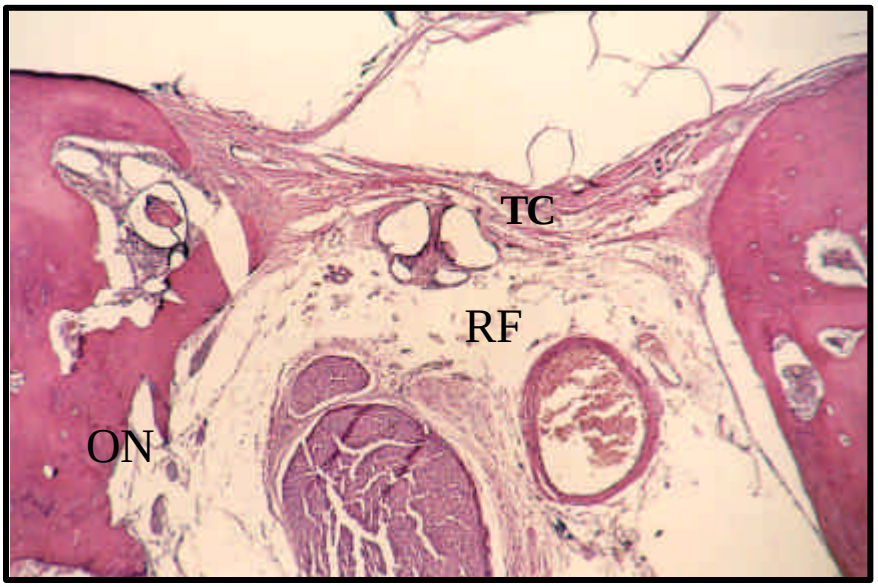


Figura 23. Preenchimento do centro da cavidade por tecido conjuntivo (TC) e rede de fibrina (RF) e formação óssea (ON) nas paredes laterais da cavidade. H.E. 25X. Aumento do original.

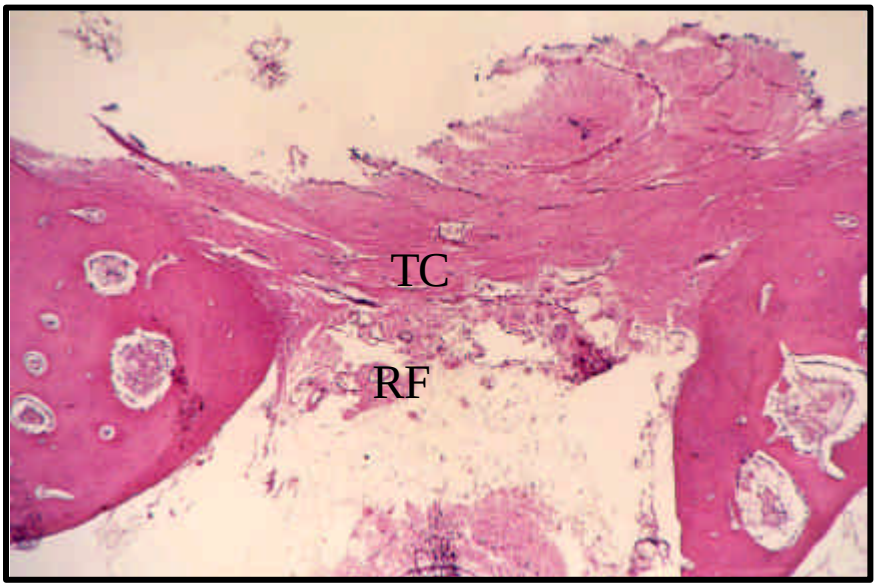


Figura 24. Visualização de tecido conjuntivo (TC) e rede de fibrina (RF). H.E. 25X. Aumento do original.

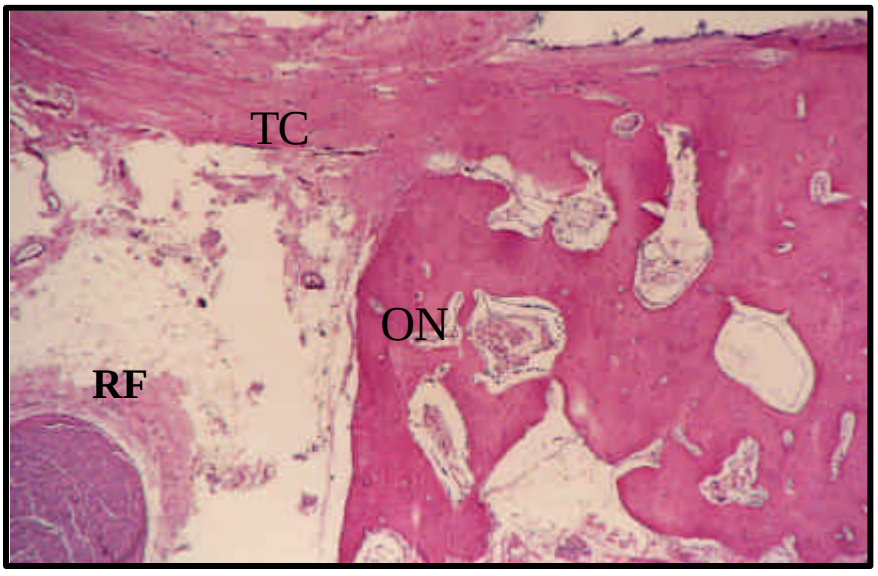


Figura 25. Neoformação óssea (ON) nas laterais da cavidade e preenchimento central com tecido conjuntivo (TC) e rede de fibrina (RF). H.E. 25X. Aumento do original.

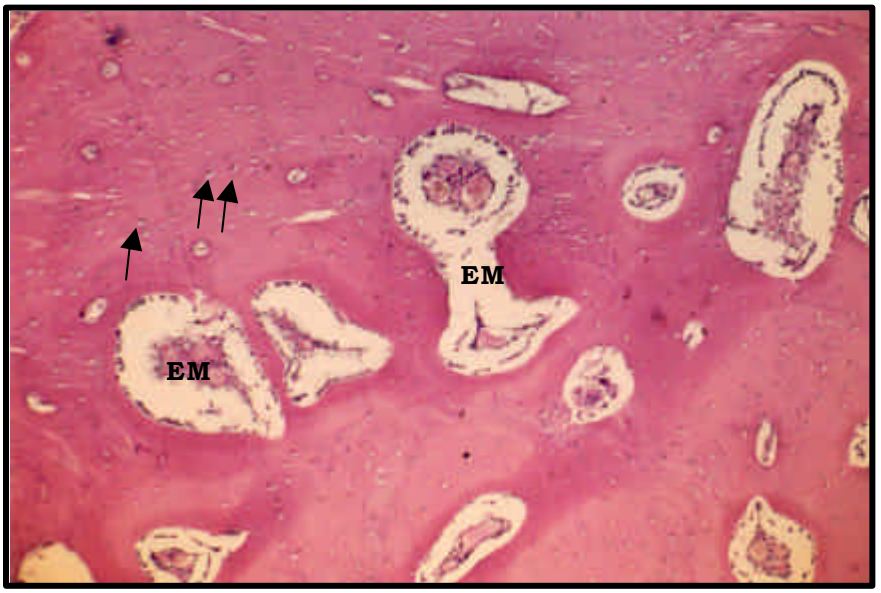


Figura 26. Presença de osteócitos (setas) e espaços medulares amplos (EM). H.E. 25X. Aumento do original.

Cortes Transversais: demonstra a delimitação da cavidade óssea experimental com tecido ósseo maduro na periferia, e tecido ósseo neoformado no interior da loja cirúrgica, notadamente às paredes laterais e em diversas profundidades de cortes (Figuras 27 a 29). No centro da cavidade, no entanto, visualiza-se a presença de tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (Figura 30) e nas diversas profundidades de cortes em todos os grupos (Figuras 30 e 32).

Figura 27. Delimitação da cavidade óssea na periferia (setas) e tecido ósseo neoformado (TON) no seu interior com amplos espaços medulares (EM). H.E. 25X. Aumento do original.

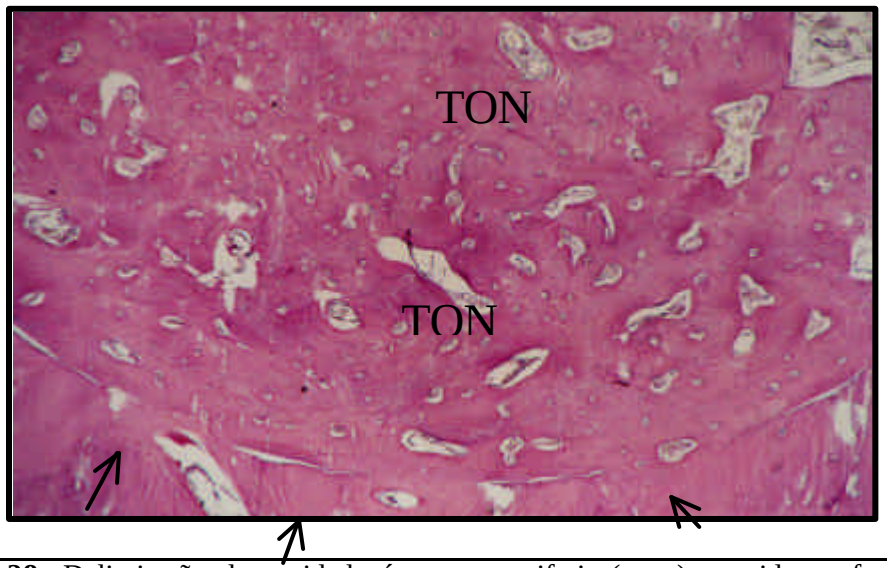


Figura 28. Delimitação da cavidade óssea na periferia (setas) e tecido neoformado (TON) no seu interior com espaços medulares menores que o corte anterior por se tratar de corte mais profundo. H.E. 25X. Aumento do original.

Figura 29. Mesmo corte que o da figura anterior em maior aumento. H.E. 63X. Aumento do original.

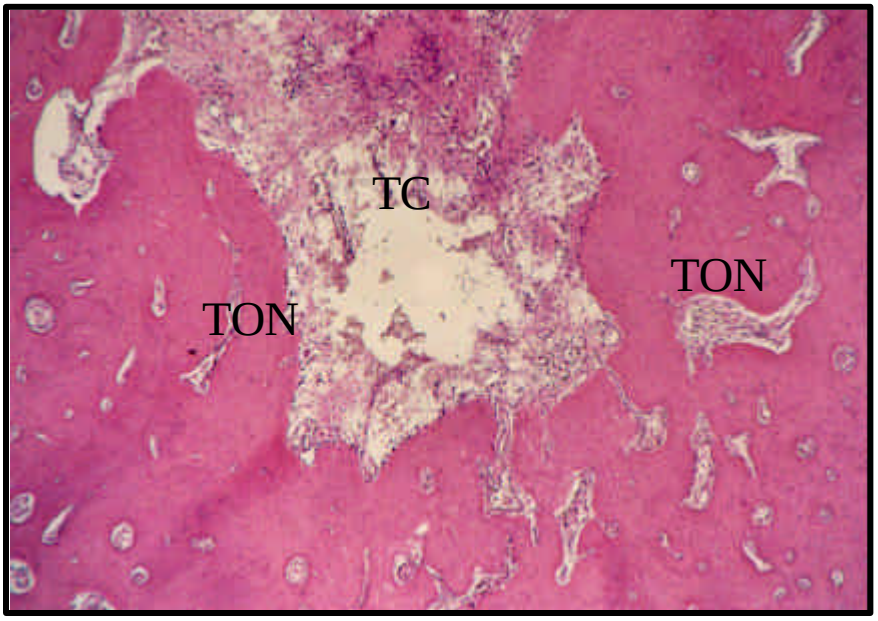


Figura 30. Presença de tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade e osso neoformado (TON). H.E. 25X. Aumento do original.

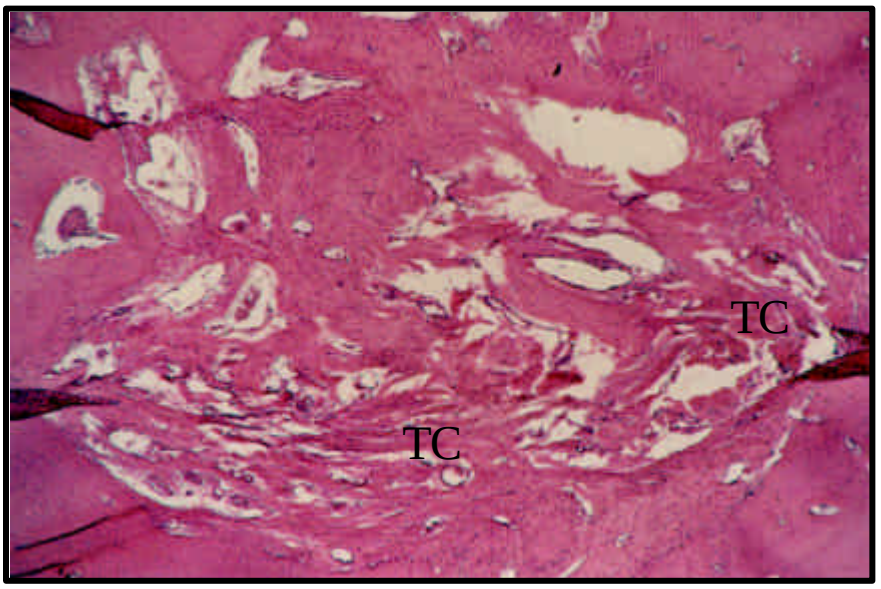


Figura 31. Cortes profundos mostrando tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade. H.E. 25X. Aumento do original.

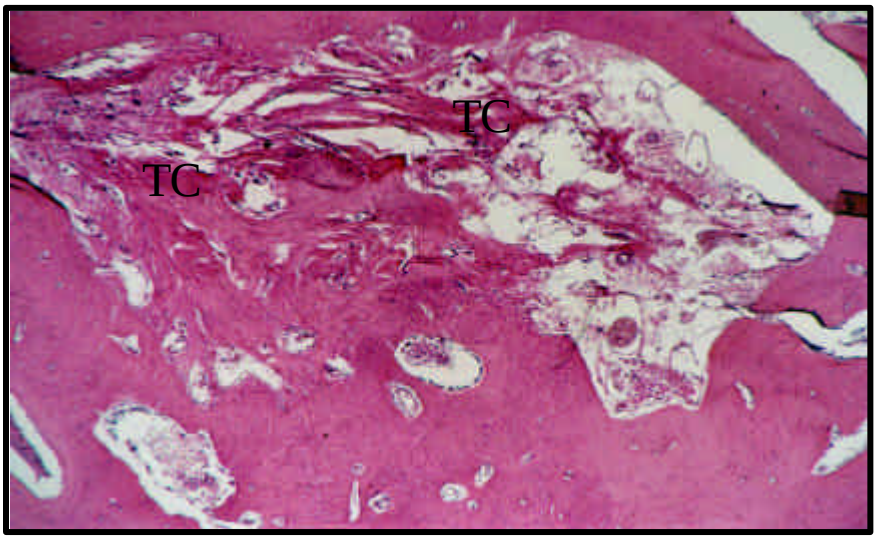


Figura 32. Tecido conjuntivo (TC) no centro da cavidade em cortes mais profundos. H.E. 25X. Aumento do original.

5.2.3. GRUPO BIO-GRAN®

Cortes Longitudinais: observa-se, na margem da cavidade, espaços trabeculares amplos evidenciando tecido ósseo neoformado (Figura 33). Há presença de espaços preenchidos parcialmente por tecido não mineralizado e tecido conjuntivo sem diferenciação (Figuras 34, 35 e 36). Em direção ao centro destas cavidades encontra-se tecido com aspecto de osso neoformado, sugerindo neoformação óssea ao redor dos grânulos de Bio-Gran® (Figura 36).

Mais ao centro da cavidade observa-se grande quantidade de grânulos de Bio-Gran® (Figura 34). Em todos eles observa-se tecido conjuntivo ao redor, em diferenciação (com poucas células ou rico em fibras colágenas) e, em alguns grânulos, este tecido tem aspecto de osso neoformado. Todos os grânulos apresentam-se envoltos por tecido conjuntivo rico em fibras colágenas e tecido não mineralizado. Estas cavidades não apresentaram corticalização em sua superfície.

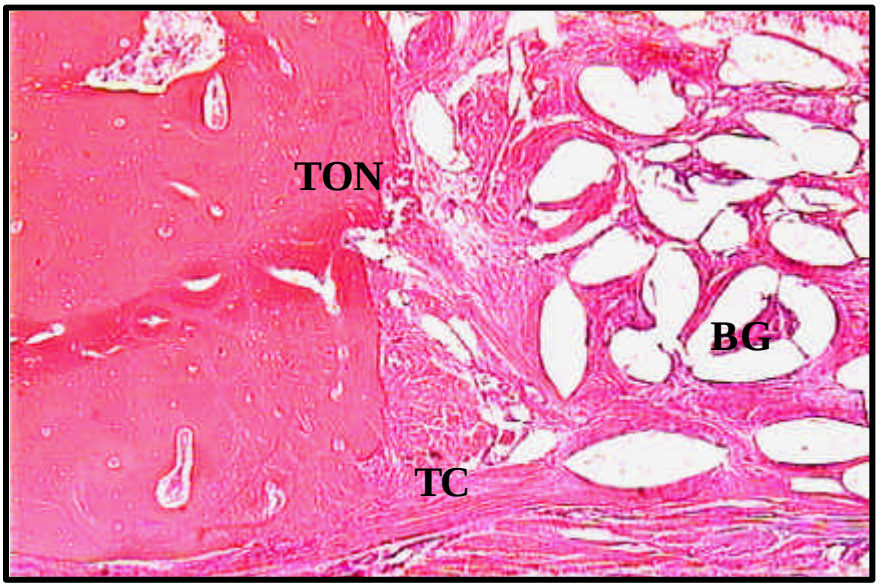


Figura 33. Corte mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulos Bio-Gran® (BG) no centro da cavidade. Na parede lateral tecido ósseo neoformado (TON) H.E. 50X. Aumento do original.

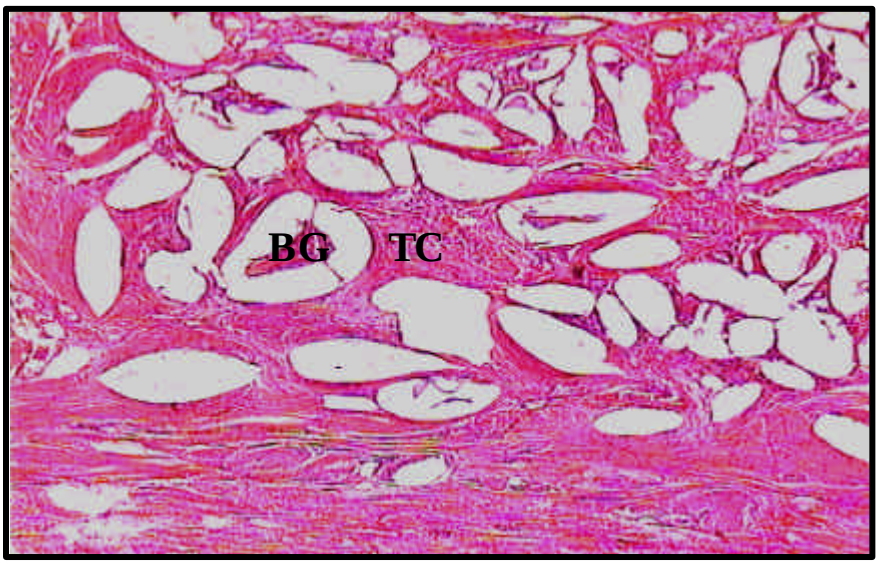


Figura 34. Corte mostrando grande quantidade de tecido conjuntivo (TC) envolvendo os grânulos de Bio-Gran® no centro da cavidade. H.E. 50X. Aumento do original.

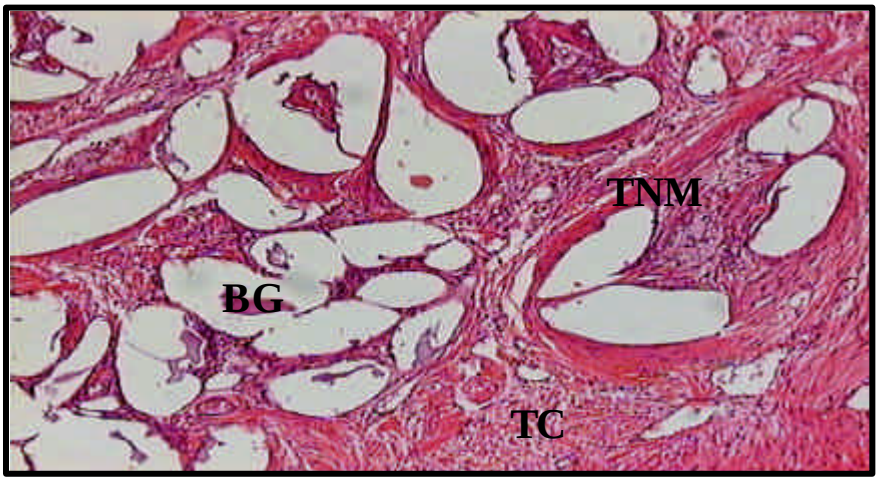


Figura 35. Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulos de Bio-Gran® (BG) e tecido não mineralizado (TNM) no centro da cavidade. H.E. 100X. Aumento do original.

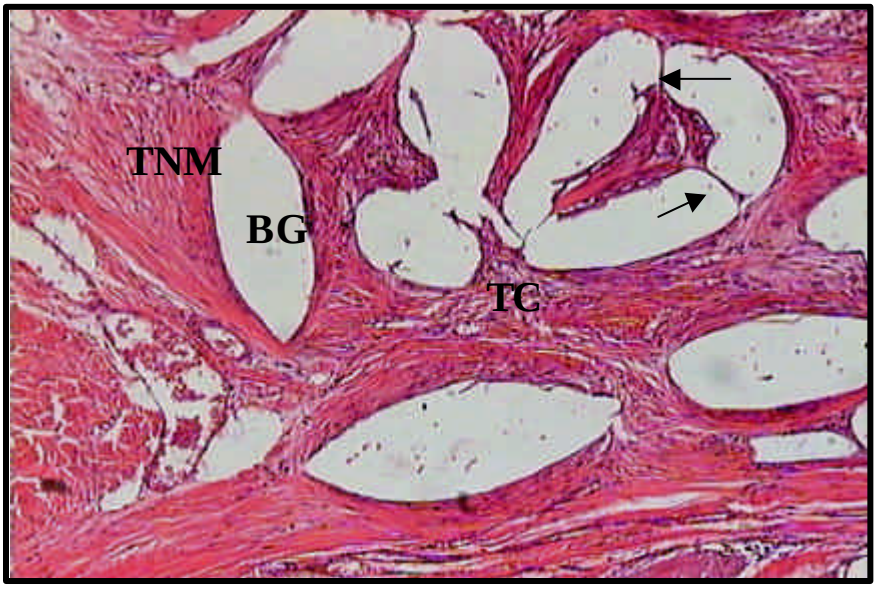


Figura 36. Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulos de Bio-Gran® (BG) e tecido não mineralizado (TNM) no centro da cavidade. As setas indicam as linhas de fissuras das partículas de Bio-Gran®, no centro invasão de tecido conjuntivo. H.E. 100X. Aumento do original.

Cortes Transversais: Demonstram limites das osteotomias definidos, com presença de neoformação óssea na periferia das cavidades, e a incorporação de grânulos de Bio-Gran® com crescimento ósseo em direção ao centro (Figura 37).

No centro das cavidades, grande quantidade de material envolto por tecido não mineralizado e tecido conjuntivo sem diferenciação, e parte destes estão envolvidos por tecido ósseo neoformado (Figura 38). Alguns grânulos apresentaram-se com fissuras e tecido osteóide no seu interior. Com a ampliação da objetiva do microscópio óptico é possível observar a presença de osteoblastos na periferia do tecido ósseo neoformado (Figura 39).

Um espécime apresentou-se com uma neoformação óssea superior aos outros espécimens. Notou-se a presença de uma menor quantidade de grânulos no interior da cavidade. Praticamente houve um completo preenchimento da cavidade, com menor quantidade de grânulos, no interior da dela.

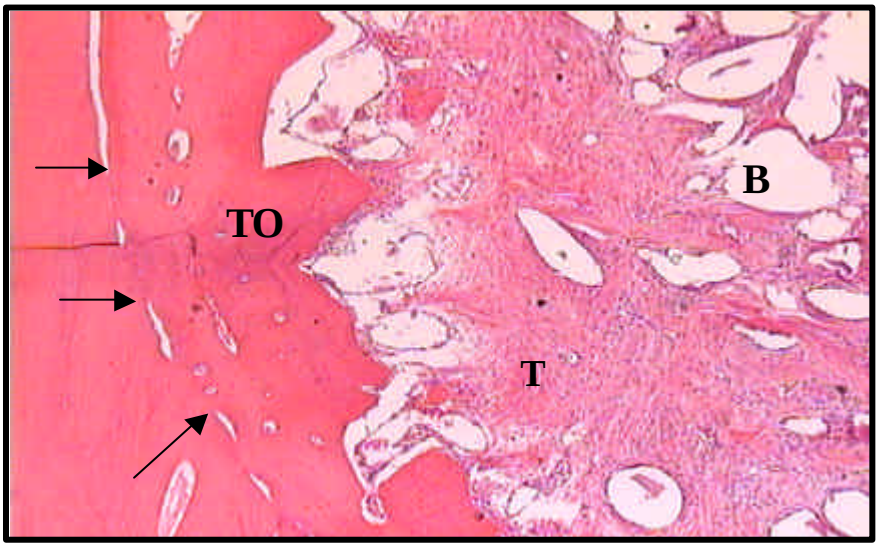


Figura 37. Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulos de Bio-Gran® no centro da cavidade. As flechas indicam a área de osteotomia Na periferia da cavidade tecido ósseo neoformado (TO) H.E. 50X. Aumento do original.

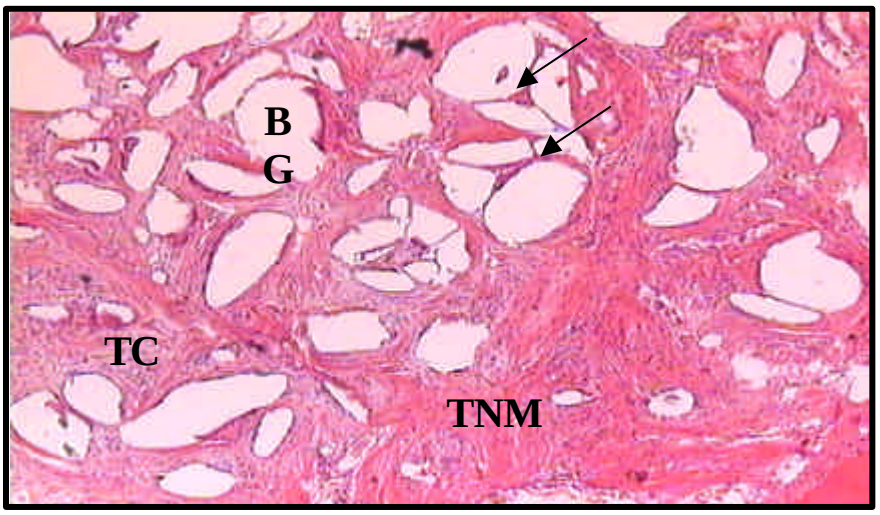


Figura 38. Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulos de Bio-Gran® e tecido não mineralizado (TNM) no centro da cavidade. Setas mostram linhas de fissuras. H.E. 50X. Aumento do original .

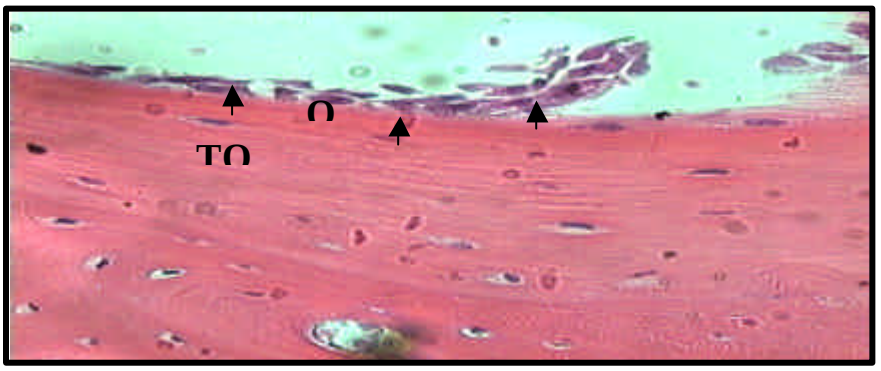


Figura 39. Corte profundo mostrando tecido ósseo neoformado (TO) junto à margem osteoblastos (O). HE. 400X. Aumento do original .

5.2.4. GRUPO BIO-OSS®

Cortes Longitudinais: observa-se, na margem da cavidade, tecido ósseo neoformado e incorporação de parte dos grânulos do material (Figuras 40, 41 e 42). Nota-se espaços preenchidos parcialmente por tecido não mineralizado e tecido conjuntivo sem diferenciação, semelhante ao grupo do Bio-Gran®, embora a presença do tecido não mineralizado foi observada em menor quantidade neste grupo (Figura 43). Em direção ao centro destas cavidades encontra-se tecido com aspecto de osso neoformado, sugerindo neoformação óssea ao redor dos grânulos de Bio-Oss® (Figura 44).

Mais ao centro da cavidade, observa-se grande quantidade de grânulos de Bio-Oss® envolvidos por tecido conjuntivo em diferenciação (Figura 45), porém, com menor grau de difrenciação que o grupo do Bio-Gran®. Estas cavidades não apresentaram corticalização em sua superfície. Com o aumento da objetiva do microscópio óptico é possível verificar a presença de células multinucleadas junto à partícula do Bio-Oss®. (Figura 46)

Figura 40. Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulos de Bio-Oss® (BO) no centro da cavidade. Na periferia áreas de tecido ósseo neoformado (TO) H.E. 50X. Aumento do original.

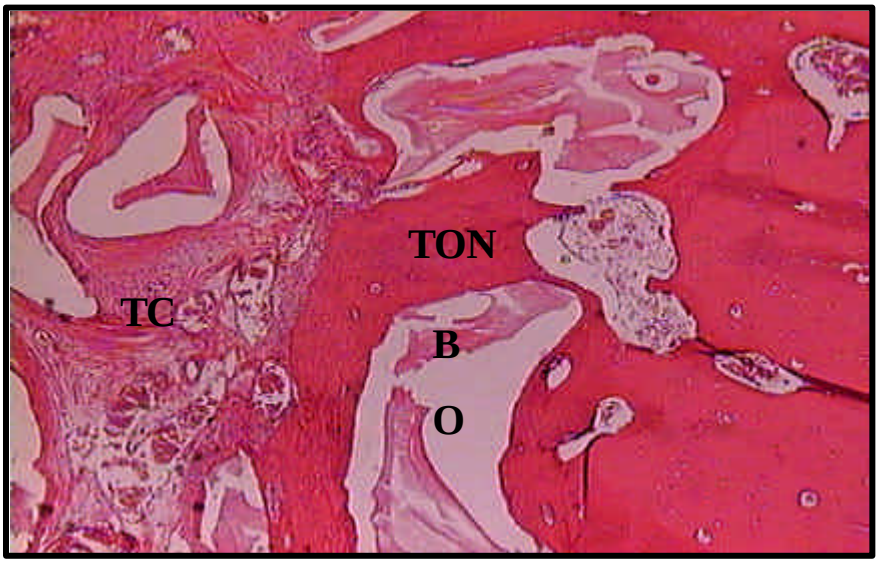


Figura 41. Corte mostrando tecido conjuntivo (TC), grânulos de Bio-Oss® (BO) no centro da cavidade. Na periferia áreas de tecido ósseo neoformado (TON) envolvendo o grânulo do Bio-Oss® H.E. 50X. Aumento do original..

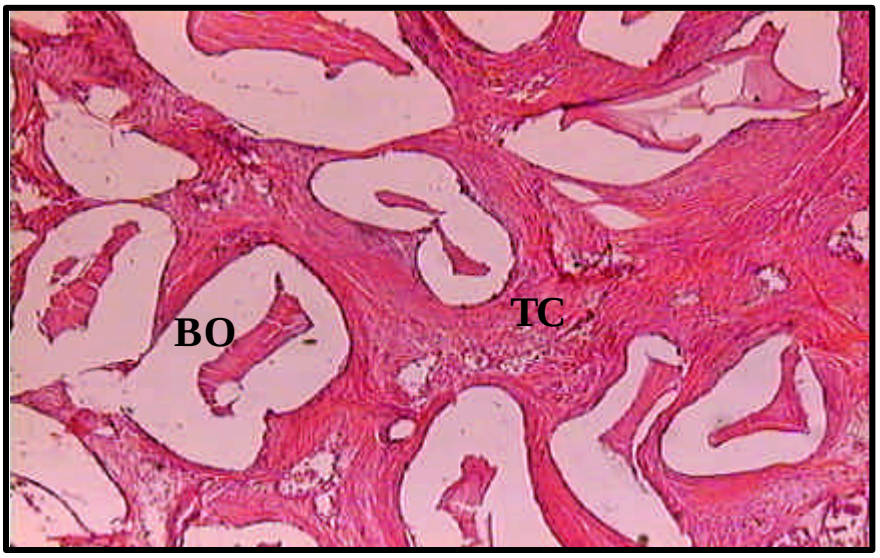


Figura 42. Corte mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulos de Bio-Oss® (BO) no centro da cavidade. H.E. 100X. Aumento do original.

Figura 43. Corte mostrando grânulo do Bio-Oss® (BO) envolto por tecido ósseo neoformado (TON). H.E. 100X. Aumento do original.

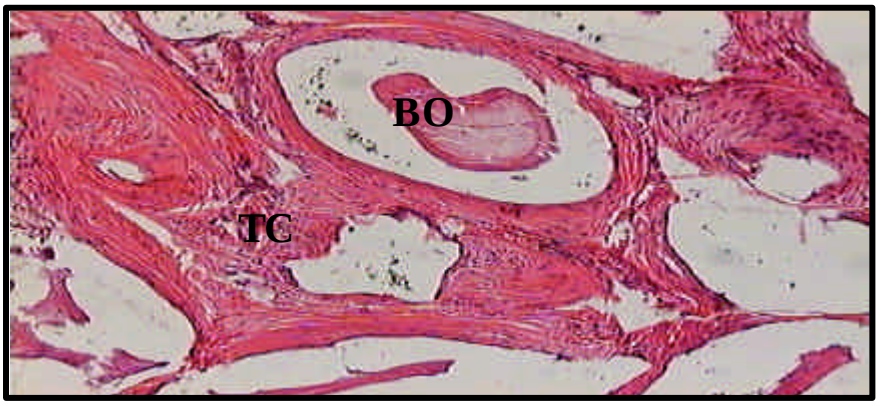


Figura 44. Cortes profundos mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulos de Bio-Oss® no centro da cavidade. H.E. 100X. Aumento do original.

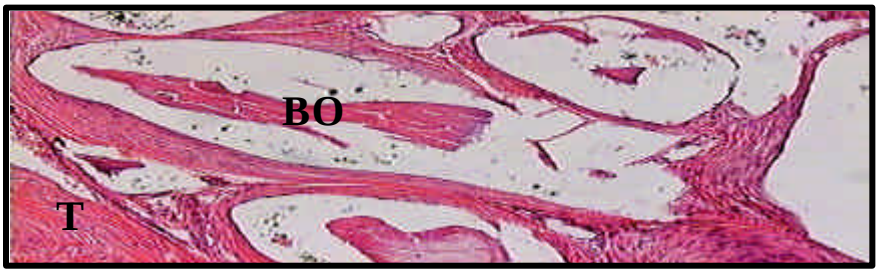


Figura 45. Cortes profundos mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulos de Bio-Oss® no centro da cavidade. H.E. 100X. Aumento do original.

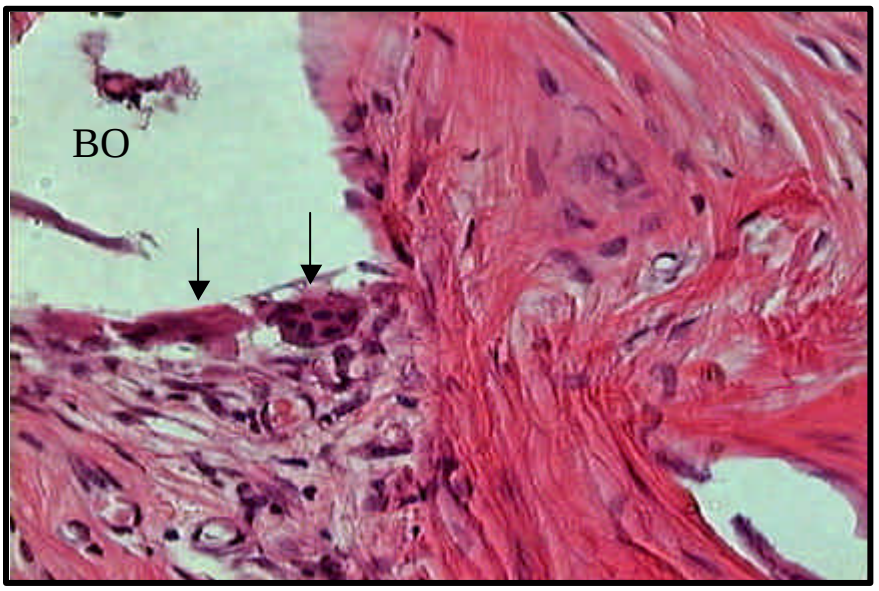


Figura 46. Corte mostrando presença de células multinucleadas junto à superfície do grânulo do Bio-Oss®. H.E. 400X. Aumento do original.

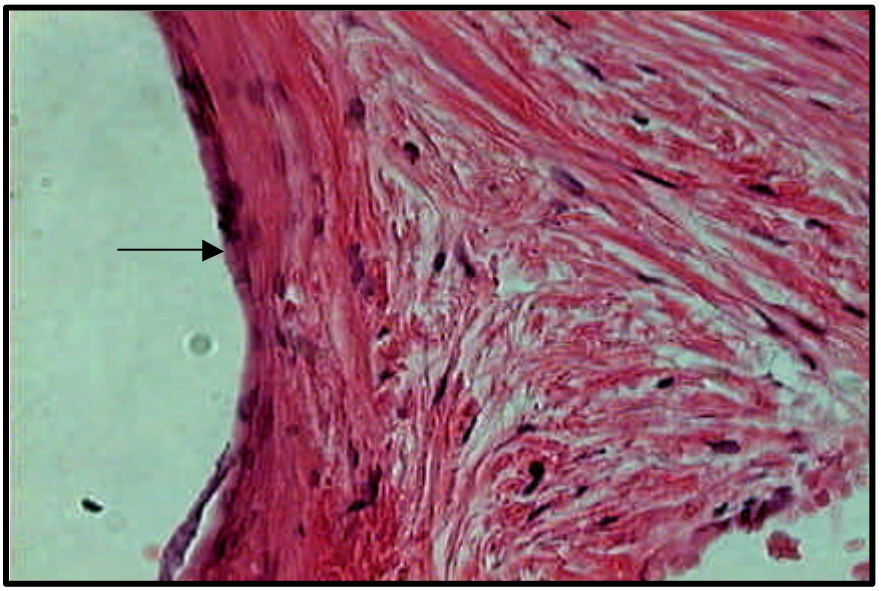


Figura 47. Cortes profundos mostrando a orientação das fibras colágenas junto à superfície do grânulo do Bio-Oss® (seta). H.E. 400X. Aumento do original.

Cortes Transversais: demonstram limites definidos da osteotomias, com presença de neoformação óssea da periferia em direção ao centro das cavidades, com incorporação de grânulos de Bio-Oss®. (Figura 48)

No centro, nota-se o material envolto por tecido não mineralizado e tecido conjuntivo sem diferenciação, e parte deste está envolvido por tecido ósseo neoformado (Figuras 49 e 50). Em um maior aumento é possível observar a presença de osteoblastos junto à superfície do tecido ósseo neoformado. (Figura 51)

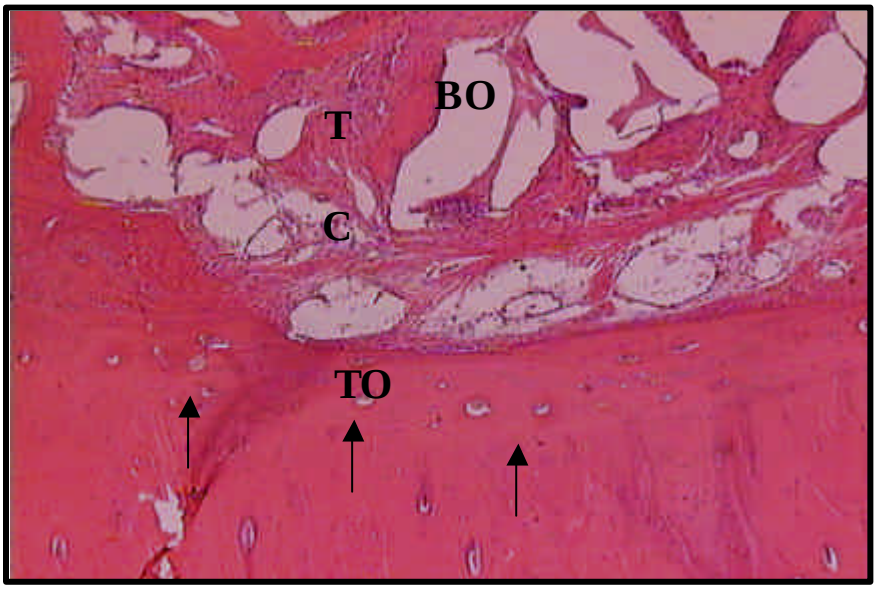


Figura 48. Corte mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulos de Bio-Oss® (BO) no centro da cavidade. As setas indicam as áreas de osteotomia com tecido ósseo neoformado (TO) H.E. 50X. Aumento do original.

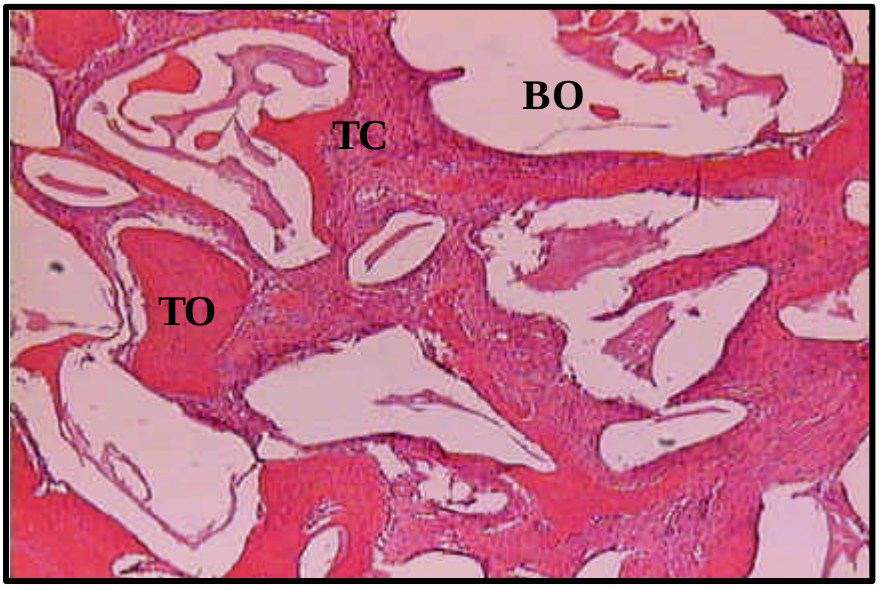


Figura 49. Cortes profundos mostrando tecido conjuntivo (TC) e grânulos de Bio-Oss® (BO) com tecido ósseo neoformado (TO) no centro da cavidade. H.E. 50X. Aumento do original.

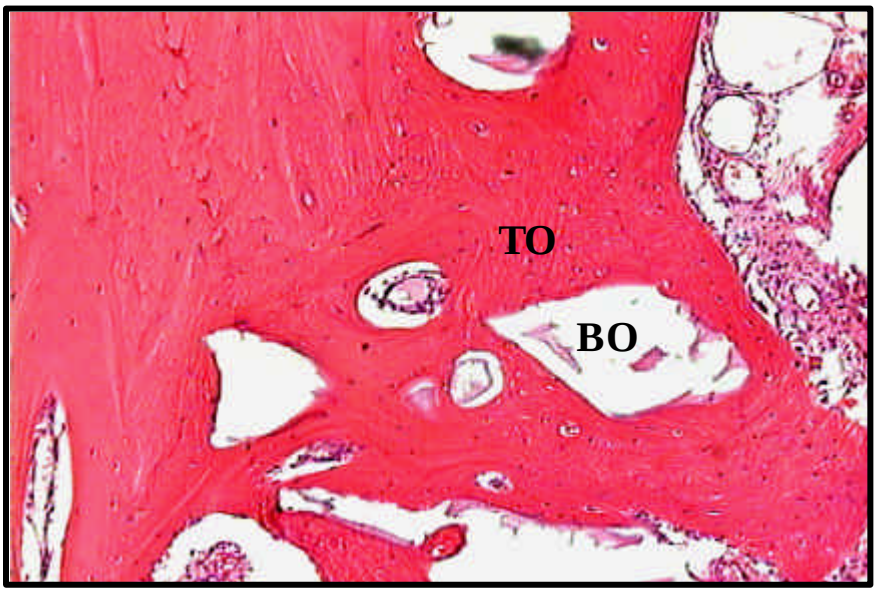


Figura 50. Cortes profundos mostrando Bio-Oss® (BO) envolto por tecido ósseo neoformado (TO) no centro da cavidade. H.E. 100X. Aumento do original.

Figura 51. Cortes profundos mostrando área de neoformação ósseo (TO) com a presença de osteócitos (OT) e na periferia a presença de osteoblastos (OB). H.E. 400X. Aumento do original.

5.2. RESULTADOS DA ANÁLISE HISTOMÉTRICA

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Corte Longitudinal

A análise estatística demostrou que para p>0,05 as diferenças foram significantes entre o grupo Controle e os demais grupos (PRP/ Bio-Oss®+PRP / Bio-Gran®+PRP). Notou-se também diferenças estatisticamente significantes quando foi realizada a comparação entre o grupo do Bio-Oss® + PRP, com os grupos PRP, e o Bio-Gran® + PRP. Na análise comparativa entre o grupo Bio-Gran® + PRP e o PRP isolado, as diferenças não se mostraram estatisticamente significativas. (Tabela 1, Gráfico 1)

Comparando-se os valores obtidos intragrupos (corte de 6mm e 13mm), as diferenças obtidas foram estatisticamente significativas existindo uma proporcionalidade entre os dados, ocorrendo um aumento linear da quantidade de neoformação óssea nos cortes mais profundos. (Tabela 2, Gráfico 1)

Corte Transversal

Neste grupo foi verificado que para p>0,05 há diferenças estatisticamete significantes entre o grupo Controle e os demais grupos (PRP/ PRP+Bio-Oss®/ PRP+ Bio-Gran®). Contudo, na comparação realizada entre os demais grupos não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes. (Tabela 3, Gráfico 2)

Na comparação intragrupos, os resultados obtidos não foram estatisticamente significantes, ocorrendo ligeira inversão na proporcionalidade em um grupo. (Tabela 4, Gráfico 2)

Tabela 1. Análise de variância em parcelas subdivididas ("split-plot") para os valores de neoformação óssea – Dados Longitudinais.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Valor F	P > F
Grupo	3	62139,43	20713,14	156,02	<0,0001
Resíduo (a)	52	6903,63	132,76	—	—
(Parcelas)	(55)	(69043,06)	—	—	—
Corte	1	499,39	499,39	32,61	<0,0001
Grupo x Corte	3	87,25	29,08	1,90	0,1412
Resíduo (b)	52	796,26	15,31	—	—
Total	111	70425,96	—	—	—

CV (a) = 26,99 % CV(b) = 9,17 % R^2 = 0,989

Tabela 2. Dados Longitudinais. Erro Padrão da Média

Grupo	Osso neo-formado (%)		Total
	Corte 6mm	Corte 13 mm	
PRP	21,1 ± 1,7	23,1 ± 1,6	22,1 ± 1,2 [c]
Bio-Gran	25,1 ± 1,7	30,4 ± 1,3	27,8 ± 1,2 [c]
Bio-Oss	35,5 ± 2,6	42,0 ± 3,8	38,8 ± 2,3 [b]
Controle	80,6 ± 2,7	83,7 ± 2,0	82,1 ± 1,7 [a]
Total	40,6 ± 3,4 [B]	44,8 ± 3,4 [A]	

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 3. Análise de variância em parcelas subdivididas ("split-plot") para os valores de neoformação óssea – Dados Transversais.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Valor F	P > F
Grupo	3	25597,17	8532,39	48,86	<0,0001
Resíduo (a)	24	4191,38	174,64	—	—
(Parcelas)	(27)	(29788,55)	—	—	—
Corte	1	24,88	24,88	0,74	0,3974
Grupo x Corte	3	163,02	54,34	1,62	0,2106
Resíduo (b)	24	804,17	33,51	—	—
Total	55	30785,17	—	—	—

CV (a) = 32,56 % CV(b) = 14,26 % R^2 = 0,974

Tabela 4. Dados Transversais. Média e Erro Padrão da Média

Grupo	Osso neo-formado (%)		Total
	Corte 6mm	Corte 13 mm	
PRP	19,3± 3,2	24,2 ± 3,8	21,7 ± 2,5 [b]
Bio-Gran	32,1 ± 713	28,4 ± 4,7	30,3 ± 4,1 [b]
Bio-Oss	26,8 ± 0,9	31,2 ± 1,5	29,0 ± 1,0 [b]
Controle	74,2 ± 4,3	73,9 ± 4,0	74,0 ± 2,8 [a]
Total	39,9 ± 4,7 [A]	41,3 ± 4,3 [A]	

Medidas seguidas de mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Gráfico 1 . Dados Longitudinais. Média e Erro Padrão da Média

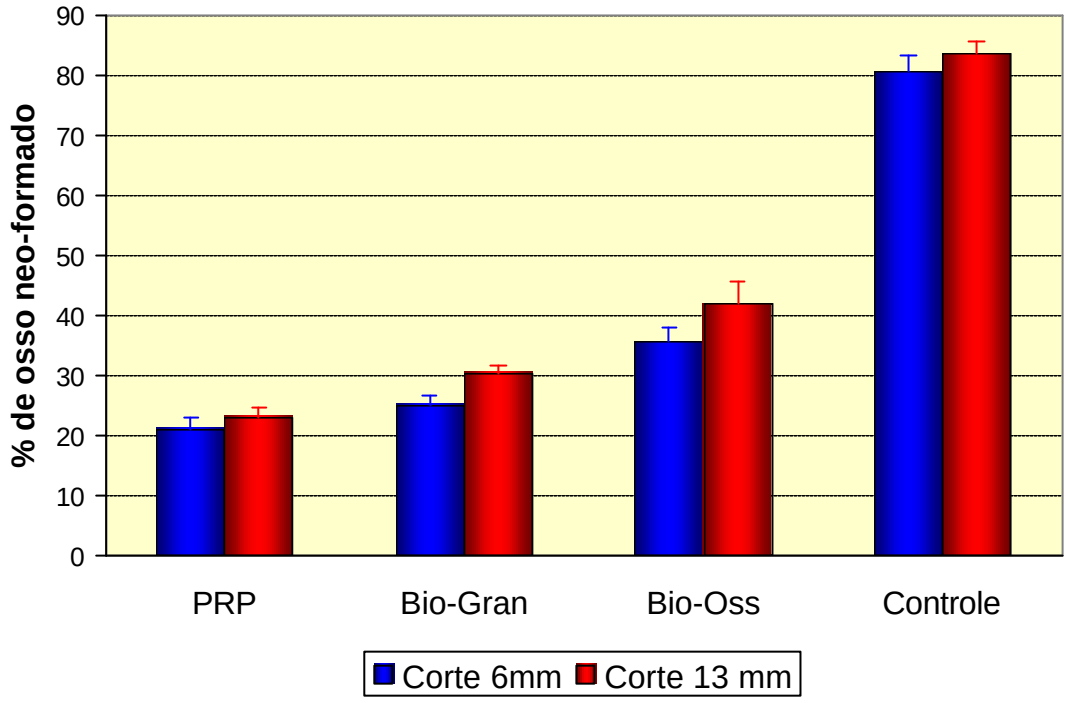
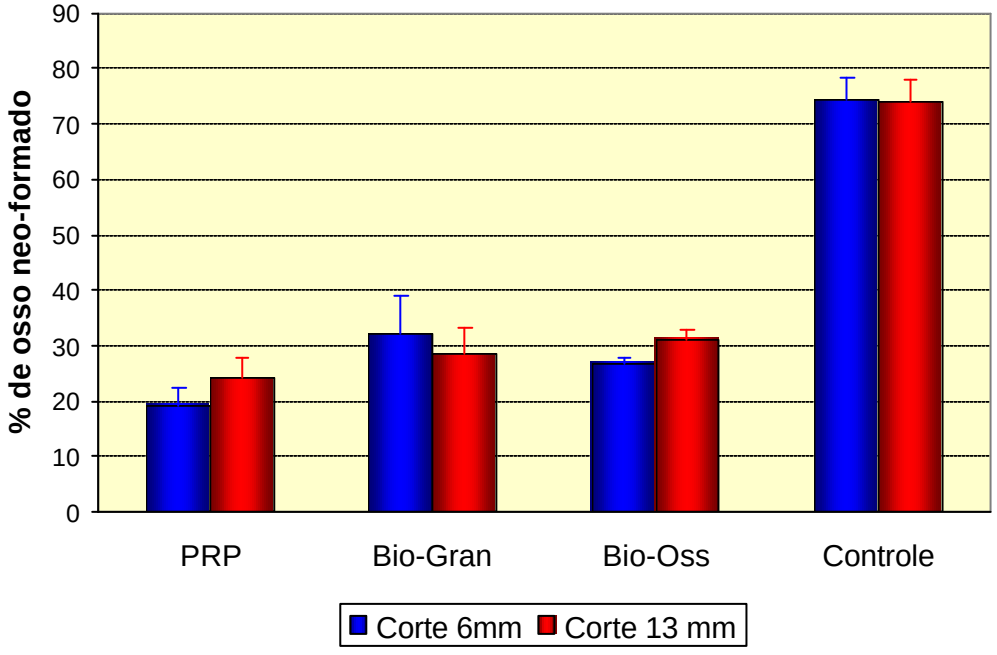
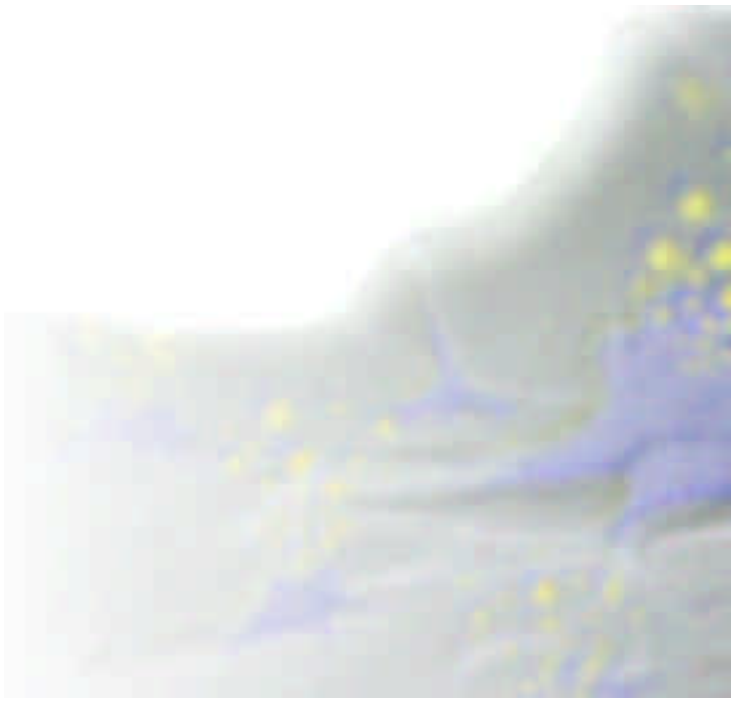


Gráfico 2. Dados Transversais. Média e Erro Padrão da Média



Discussão



6 Discussão

A recuperação de tecidos e órgãos que foram parcial ou totalmente perdidos é, ainda hoje, um grande desafio na área médica e odontológica. Para os cirurgiões–dentistas, em especial, a necessidade de reconstruções ósseas passou a ser o foco das pesquisas, principalmente em função do advento dos implantes osseointegrados, pois existe uma correlação da necessidade da qualidade / quantidade ósseas para a sua instalação.

Desta forma, trabalhos de pesquisa e clínicos vêm sendo desenvolvidos para melhor compreensão do comportamento dos enxertos ósseos autógenos, bem como técnicas foram aprimoradas para seu melhor aproveitamento, sendo estes, sem dúvida, ainda o melhor material diante de reconstruções (Artzi et al., 2001; Sanchez et al., 2003). Contudo, ainda hoje, existem dificuldades a serem superadas na utilização dos enxertos ósseos autógenos e são amplamente divulgadas na literatura, como: necessidade de atuação em um segundo sítio cirúrgico, aumento da morbidade cirúrgica, aumento do tempo operatório, dificuldade de tratamento em pacientes que tenham algum comprometimento sistêmico (Artzi et al. 2001).

Neste aspecto é que os chamados substitutos ósseos começaram a ser pesquisados e desenvolvidos, entre eles, o vidro bioativo e a hidroxiapatita nautral (Furusawa et al., 1998).

A evolução desses materiais conduziu à chamada Bioengenharia de Tecido, que é compreendida como o crescimento e a manipulação de moléculas, células, tecidos e órgãos, em laboratório, para reparar ou substituir partes de organismos que estão danificadas ou deficientes (Assael, 2003). Nesta situação, devemos perguntar em que lugar se encontra a Engenharia de Tecido na cirurgia buco-maxilo-facial? Qual a sua importância e como pode influenciar em nossas decisões no dia-a-dia?

O uso do plasma rico em plaquetas parece, dessa forma, aproximar um pouco a realidade do clínico aos resultados conquistados em laboratório. Sabendo que as plaquetas são fontes de fatores de crescimento, em especial o PDGF (AA, BB e AB) e o TGF (ß1 e ß2), várias pesquisas foram iniciadas a fim de se verificar os efeitos desses fatores para a melhora e aceleração da neoformação óssea (Oprea et al., 2003).

Os fatores de crescimento contidos nas plaquetas são meios realísticos para melhorar e apressar o reparo / cicatrização dos tecidos mole e ósseo. Os fatores de crescimento contidos nos grânulos das plaquetas são angiogênicos e mitogênicos. Várias pesquisas “in vitro” foram realizadas a fim de verificar o efeito isolado desses fatores.

O PDGF mostrou aumentar a população de células de reparo, regulando o crescimento esquelético tanto em nível local como sistêmico (Ron et al., 1986, Kasperk et al.; 1990, Mohan & Baylink, 1991; Linkhart et al., 1996), também tem mostrado ser fundamental nos estágios iniciais do reparo ósseo (Bolander, 1992). Como fator local, o PDGF, atua na interação com outros hormônios e fatores de crescimento, promovendo, por exemplo, a resposta de células ósseas a outros fatores presentes no esqueleto. Além do efeito sobre a formação óssea, o PDGF tem mostrado que estimula também a reabsorção óssea, promovendo, desta forma, efeitos complexos no processo de remodelação do tecido ósseo (Canalis, 1985; Canalis, 1988; Mohan & Baylink,1990).

Os TGF $ß_1 ß_2$ demostraram serem fatores fundamentais na neoformação óssea. Atuam na formação e ativação de osteoclastos e são considerados como alavancas para que ocorra uma rápida maturação de colágeno nos processos iniciais de raparo (Mohan & Baylink, 1990).

Assim, nos sítios ósseos, em animais e humanos, a aplicação do PDGF tem mostrado a promoção da formação óssea, assim como a aplicação “in vitro” do PDGF e do TGF- ß têm se mostrado quimiotática para células osteogênicas, em especial aos osteoblastos, estimulando a multiplicação destes (Sekido et al, 1987; Pferlscheffer et al., 1990; Abdnennagy et al, 1992; Hugles et al, 1992; Oprea et al., 2003). É por esse motivo que há hipóteses a cerca do aumento da concentração plaquetária

nos defeitos ósseos, de que ela pode promover um aumento da resposta do processo de reparo.

Baseado nesses argumentos é que existe que desde 1990 um extenso trabalho de pesquisa com o uso do PRP e seus fatores de crescimento (Marx et al., 1998). A associação do PRP aos enxertos autógenos tem demostrado resultados benéficos (Marx et al, 1998; Anitua, 1998; Fennis et al., 2002). Já o seu uso com implantes homógeno/ heterógeno/ aloplástico ainda é muito discutido e controverso. Aghaloo, em 2002, aponta que vários autores questionam a aplicabilidade do PRP nesta situação. Em alguns casos clínicos, aonde essas associações vêm sendo feitas, segundo os autores dos trabalhos, os resultados mostram a formação de tecido osteóide ou mesmo tecido ósseo (Anitua, 2001; Rosemberg & Torosian, 2000; Kassiolis et al, 2000; Shanaman et al., 2001). Contudo, esses resultados vêm se mostrando conflitantes ou equivocados. Muitos casos foram avaliados e não foram realizadas as análises estatísticas que poderiam validar os achados, assim como não existe um controle para que sejam realizadas as comparações. Muitos relatam melhora na qualidade óssea somente por meio de achados radiográficos (Robiony et al, 2002), mas não há conclusões científicas (Aghaloo et al, 2002).

Neste trabalho pudemos observar que o uso isolado do PRP não proporcionou bons resultados, não houve a neoformação óssea das cavidades ósseas criadas nas mandíbulas dos cães. Na avaliação

histométrica, onde foi calculada a porcentagem de neoformação óssea, os valores obtidos nos cortes longitudinais na profundidade de 6mm foi de 21,1%, e de 23,1% na profundidade de 13mm. Nos cortes transversais obtivemos 28,98% na profundidade de 6mm, e de 41,2% na de 13mm. As diferenças estatísticas se mostraram significativas para p=0,05, quando se compara o grupo PRP com o grupo Controle. Neste, o processo de reparo atingiu valores bem superiores. Nos corte longitudinais foi observado 80,6% de neoformação óssea na profundidade de 6mm e de 83,7% na profundidade de 13mm. Nos cortes transversais obtivemos 74,2% de neoformação óssea tanto nas profundidades de 6 e 13mm.

Achados semelhantes foram verificados por Yamamoto (2002), embora tenha trabalhado com modelo experimental diferente (alvéolo de ratos). O autor concluiu que o PRP levou a uma menor formação óssea na fase inicial do reparo. Mesmo obtendo um resultado final com o osso apresentando características de normalidade, o PRP, segundo o autor, não mostrou ser vantajoso no reparo alveolar quando comparado ao grupo controle, ou seja, havia somente a presença de coágulo.

Aghaloo et al., em 2002 trabalhando em defeitos na calota, em coelhos, concluíram que, mesmo não atrapalhando o processo de reparo, o PRP não melhorou a neoformação óssea quando comparado ao grupo controle. Nos seus resultados houve uma interferência significativa quando

os defeitos foram preenchidos por osso autógeno associado ou não ao PRP, sugerindo que o importante foi a presença do osso autógeno e não do PRP. Este resultado sugere que, para que ocorra um efeito do PRP no local onde é aplicado, existe a necessidade de um "arcabouço" que o mantenha no sítio cirúrgico. Há que se considerar que as plaquetas liberam os fatores de crescimento no local imediatamente, e que estes têm a sua atuação somente por um período de 7 a 10 dias (Verrastro, 1999). Talvez, por esse motivo, alguns autores encontraram um melhor resultado do PRP em tempos iniciais, não verificando diferenças no final do processo de reparo, como no trabalho realizado por Zechner et al. (2003) em alvéolos de porcos.

A associação do PRP com biomateriais também sugeriram resultados bastante controversos. O vidro bioativo apresenta características bastante especiais quando comparado a outros materiais. Ele vem demonstrando ser um excelente material, tanto em trabalho "in vitro" como "in vivo", com boa biocompatibilidade tanto em tecido ósseo como mole (Bossetti et al, 2003).

Uma das razões do seu sucesso está ligada a sua composição, e, em especial, a presença da sílica faz com que ocorra a formação de uma linha de hidroxiapatita e permite a união dos grânulos ao osso. O gel de apatita forma uma superfície que atrai células osteoprogenitoras e osteoblastos, estimulando a formação óssea, além de induzirem a união com o tecido ósseo (Hench et al., 1991; Bossetti et al., 2003). Estudos "in

vitro" têm mostrado que a formação desta apatita depende de uma série de fatores, incluindo a composição do vidro, propriedades da textura (superfície e porosidade) e composição das soluções onde são aplicadas (Salinas et al., 2002).

Uma característica que vem chamando a atenção é a formação de linhas de fissuras nos grânulos, permitindo que células osteogênicas penetrem no seu interior, o que favorece a formação de tecido ósseo nestas áreas (Carvalho et al., 2001; Santos, 2001; Camarini 2002). Trabalhos realizados por Xynol et al. (2000 e 2001) demonstraram que a dissolução do vidro bioativo produz um controle sobre o ciclo dos osteoblastos e atuam na regulação da expressão do gene destas células.

O potencial de restauração desse material há muito vem demonstrando, a capacidade de promover reparo em regiões periodontais, aumentos ósseos alveolar e em outros defeitos ósseos. Os resultados desses estudos mostram que o biovidro não produz toxicidade sistêmica nem reação inflamatória ou tipo corpo estranho (Sepulvida et al., 2002).

Neste estudo, o uso do Bio-Gran® associado ao PRP mostrou uma porcentagem de neoformação óssea nos cortes longitudinais de 25,1%, na profundidade de 6mm, e de 30,4% na profundidade de 13mm. Nos cortes transversais, na profundidade de 6mm obtivemos uma média de 43,0% na profundidade de corte de 6mm, e de 39,7% na de 13mm. Quando

comparamos este grupo ao grupo Controle, a análise estatística mostrou-se significante para p=0,05 para o grupo Controle. Quando comparado ao grupo do PRP embora a análise estatística não tenha se mostrado significante para p=0,05, histologicamente se pode observar que a associação do PRP ao Bio-Gran® é mais efetiva quando seu uso é feito isolado, mesmo verificando que este em relação ao Controle, não tenha sido tão efetivo, pois não foi possível verificar, em nenhum animal, o completo reparo das cavidadas ósseas criadas.

Uma das características que chamou a atenção neste estudo foi à presença de uma grande quantidade de tecido não mineralizado no centro das cavidades e envolvendo os grânulos também, não apresentando características específicas de tecido conjuntivo nem de tecido ósseo, podendo sugerir que grande parte deste tecido ainda formará um tecido ósseo maduro, mesmo necessitando de um tempo maior para que isso ocorra. Também se observou que parte dos grânulos estavam envolvidos por tecido ósseo neoformado, corroborando com achados de Furusawa (1997); Johnson et al (1997) e Froum et al (2002). Na literatura não há, ainda trabalhos com o uso do Bio-Gran® associado ao PRP. Desta forma, não foi possível realizar uma comparação dos achados deste estudo.

O outro material analisado, o osso bovino anorgânico, vem sendo testado em defeitos ósseos em animais e em humanos; principalmente nos casos de levantamento de seio maxilar (Pinholt et al.,

1991). Mesmo com algumas controvérsias a respeito de suas propriedades osteocondutivas, resultados promissores vêm sendo relatados e sua eficácia comprovada em vários tipos de regeneração óssea, como em sítios alveolares, nas deficiências ósseas remanescentes e principalmente no aumento em altura, em regiões de seio maxilar (Artzi et al., 2001). Permite a formação de tecido ósseo junto a superfície das partículas (Lindhe et al., 1997), clinicamente possui uma boa estabilidade ao local onde é aplicado, há baixo risco de infecção, pouca antigenicidade e alto nível de reabilitação (Kim et al, 2002).

Os resultados obtidos nesta pesquisa mostraram que o Bio-Oss® permitiu, nos cortes longitudinais, na profundidade de 6mm, uma média de formação óssea de 35,5%, e de 42% na de 13mm. Nos cortes transversais os valores foram de 26,8% e de 31,2% nas profundidades de 6mm e 13mm respectivamente. As diferenças dos resultados mostraram-se estatisticamente significantes quando comparados ao grupo Controle para $p<0,05$. Quando comparado ao grupo do PRP, a análise estatística mostrou-se significante para $p>0,05$ nos cortes longitudinais, achado este que foi de encontro ao verificados na análise morfológica. Para os corte transversais as diferenças não se mostraram estatisticamente significativas. Embora nas duas situações não se tenha obtido o fechamento completo das cavidades ósseas, foi possível verificar que no grupo onde ocorreu à associação do

Bio-Oss® com o PRP obteve-se uma maior formação óssea em relação ao uso isolado do PRP.

Alguns trabalhos vêm sendo divulgados em relação à associação do Bio-Oss® ao PRP. Froum et al. (2002), analisando o efeito dessa junção em 3 casos clínicos, verificaram, por meio de análise histomorfométrica, que a associação desses dois materiais não produziu diferenças significativas em relação ao osso vital. Kassolis et al. (2000) mostram que, histologicamente, esta associação permite a formação de numerosas áreas osteóides e formação óssea ao redor dos grânulos, mas não melhor que os resultados obtidos em cavidades aonde somente o coágulo foi deixado, corroborando com os achados encontrados neste trabalho.

Quando o grupo do Bio-Oss® é comparado ao grupo do Bio-Gran®, notamos que, estatisticamente, as diferenças mostram–se importantes nos cortes longitudinais e não significativas nos cortes transversais para p= 0,05. Os resultados observados neste estudo estão muito próximos dos encontrados em trabalhos que realizaram a comparação desses materiais sem a associação com o PRP, como o de Schmitt et al. (1997), que fizeram o uso do biovidro e do osso bovino anorgânico em defeitos alveolares criados em coelhos. Os autores concluíram que o Bio-Oss® foi mais efetivo que o vidro bioativo na regeneração óssea. Assim, os resultados numéricos que obtivemos de neoformação óssea juntamente com o valor da análise estatística nos corte transvesais e longitudinais sugerem

que a presença do PRP não tem influência sobre o biomaterial e na quantidade de neoformação óssea, isto porque não existe a presença de células nestes biomateriais para que possam ser influenciadas pelos fatores de crescimento.

Na análise histomorfométrica, longitudinal o grupo do Bio-Oss® obteve uma maior neoformação óssea. Contudo, na análise histomorfométrica transversal essa neoformação óssea foi ligeiramente superior no grupo do Bio-Gran® que no grupo do Bio-Oss®. Por meio da observação da análise morfológica foi possível notar que, no grupo do Bio-Gran® houve uma maior quantidade de tecido não mineralizado e uma menor quantidade de tecido conjuntivo fibroso quando comparado ao Bio-Oss®, sendo esse tecido (tecido não mineralizado) passível de maturação. Pode-se acreditar que, embora numericamente o grupo do Bio-Oss® tenha obtido maior neoformação óssea (cortes longitudinais, o que tornou os resultados estatísticamente significativas), o grupo do Bio-Gran® tem um maior potencial para completar a neoformação óssea das cavidades, mesmo que necessite de um tempo maior para isso.

Outro ponto a ser considerado é a biologia de cada animal, o que neste estudo mostrou influência importante. Foi observado em um animal que a sua capacidade de neoformação óssea foi muito diferente dos demais, influenciando, inclusive, nos resultados estatísticos (Ex: em corte transversal, grupo Bio-Gran®, o animal um chegou a ter uma neo-formação

óssea de 80,9%, enquanto a média dos demais foi de 24,0%). Este teve influencia principalmente na análise dos cortes transvesais, no grupo do PRP e do Bio-Gran®, onde as quantidades de amostras utilizadas foram menores que nos corte longitutinais. Nesses grupos os valores das médias acabaram sendo superiores ao do grupo do Bio-Oss®. Na análise estatística dos cortes transverasis foi então optado pela retirada desses valores pois foram considerados fora do padrão. Além disso os valores obtidos desse animal somente constavam nos grupos do PRP e do Bio-Gran® influenciando o resultado final.

É importante ressaltar que em todos os animais, os exames laboratoriais estavam dentro de índices de normalidade, inclusive a contagem plaquetária. Isto sugere que não somente o tipo de material colocado em uma região terá influência no processo de reparo, mas também há uma interferência sistêmica individual, que pode permitir ou não uma maior neoformação óssea.

Assim, enquanto em parte da literatura acredita-se que a associação do PRP ao osso autógeno tem se mostrado promissora (Marx et al.; 1998, Nunes-Filho, 2003), outros estudos indicam que o uso do PRP associado a substitutos ósseos não tem se mostrado efetivo (Froum et al, 2002).

Alguns autores acreditam que a combinação do Bio-Oss® e PRP possui propriedades osteoindutivas, sendo estas provavelmente a causa

do recrutamento e da diferenciação de células osteocompetentes imaturas no local onde atuam. Células como adipócitos, fibroblastos e macrófagos são células que constituem o estroma da região medular, e estas células podem ser transformadas em osteoblastos por meio de uma variedade de sinais bioquímicos provenientes do PRP, como o PDGF e o TGF-ß (Bennete et al., 1991). Contudo, todas essas afirmações constituem-se de especulações e somente se mantém o volume ósseo porque o osso bovino anorgânico tem menor absorção quando comparado ao enxerto autógeno (Rodriguez et al., 2003).

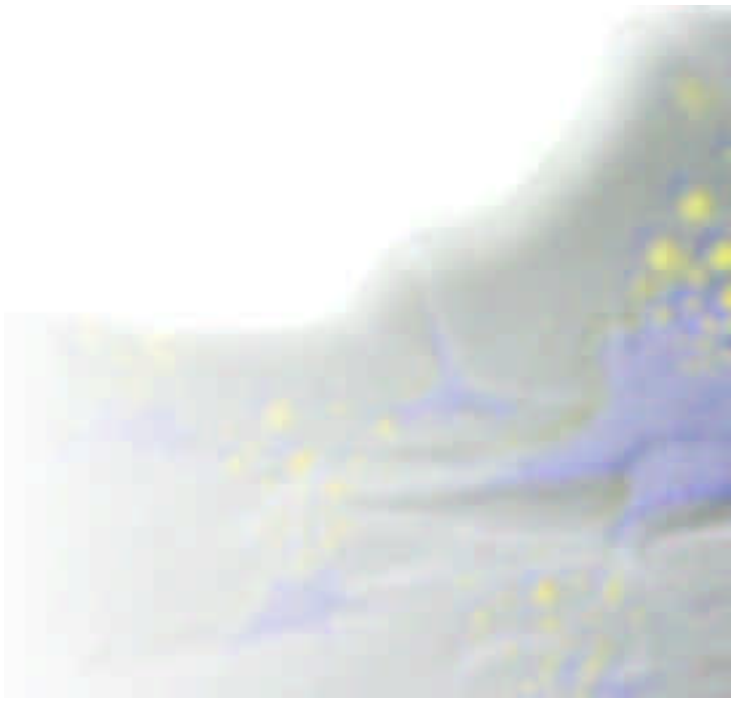
Wironen et al. (2000) mostraram que o PRP não é osteocondutivo quando associado à matriz de osso desmineralizado e aplicado no músculo abdominal de ratos. Mais recentemente, Terheyden (2000) comparou o rhoD-1 e o PRP em enxerto bilateral de seio maxilar, usando 100% de osso bovino anorgânico, e mostrou que este não é efetivo no processo de regeneração óssea. Essa situação parece estar ligada ao fato de não haver uma maior quantidade de células viáveis no local para que sejam estimuladas as formações de osteoblastos (Froum et al, 2002).

Outro aspecto importante é que o processo de reparo ocorre a partir do fundo e da parede óssea da cavidade como observado em todos os grupos neste experimento. Análise estatística mostrou-se significativas para os cortes longitudinais, ocorrendo um aumento linear da neoformação óssea quando analisamos os corte superficiais de 6mm e os profundos de 13mm.

Histologicamente foi observada uma maior neoformação óssea nos cortes mais profundos, concordando com os achados histométricos. Nos corte transversais embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas, pode-se observar também que ocorreu um aumento da neoformação óssea nos cortes mais profundos.

Assim, por meio da metodologia empregada, os resultados obtidos demonstraram que com o PRP não parece ser vantajoso no processo de reparo de cavidades ósseas em mandíbula de cão, quando utilizado isoladamente ou em associação com o Bio-Gran® ou Bio-Oss®. Não houve melhora quantitativa e qualitativa ósseas quando comparado ao grupo Controle, havendo necessidade de novos estudos para definir melhor os efeitos do PRP no processo de reparo ósseo.

Conclusão



7 Conclusão

Com a metodologia utilizada foi possível constatar que:

- Houve diferenças estatisticamente significantes entre o grupo controle e os demais grupos – PRP; PRP/ Bio-Oss®; PRP/Bio-Gran® para os cortes longitudinal e transversal.
- Houve diferenças estatisticamente significantes entre o grupo do PRP/ Bio-Oss®; e os grupos do PRP; e PRP/ Bio-Gran® para o corte longitudinal.
- Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos PRP; e PRP/ Bio-Gran® para o corte longitudinal.
- Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos PRP; e PRP/ Bio-Gran®; e PRP/ Bio-Oss® para o corte transversal.
- Houve diferenças estatisticamente significantes dos valores obtidos intragrupos para os cortes longitudinais.

- ☛ Não houve diferenças estatisticamente significantes dos valores obtidos intragrupos para os cortes transversais.
- ☛ Histologicamente, o grupo controle obteve o melhor comportamento biológico, seguido pelo grupo PRP/Bio-Oss®; PRP/ Bio-Gran®; e PRP
- ☛ Somente o grupo controle permitiu o fechamento das cavidades.

Foi possível CONCLUIR que:

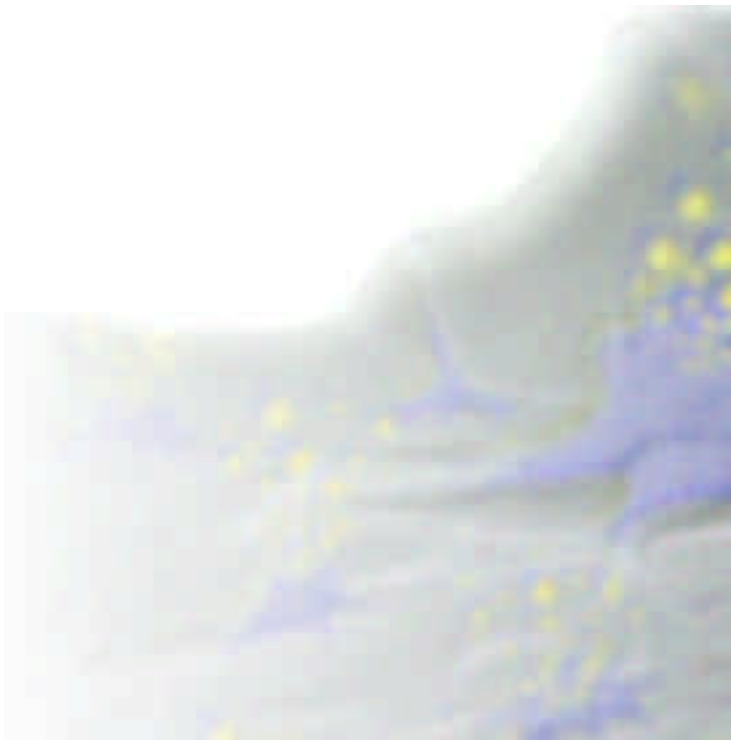
* **HISTOLOGICAMENTE**

1. houve neoformação óssea completa das cavidades do grupo controle, observados nas duas incidências de corte.
2. houve atraso no reparo quando se utilizou PRP; PRP/Bio-Oss®; PRP/Bio-Gran®.

* **HISTOMETRICAMENTE**

1. entre os grupos experimentais, o PRP/Bio-Oss® apresentou maior quantidade de osso neoformado.

Referências Bibliográficas



8 Referências Bibliográficas *

1. Abdennagy, B., Hott, M. Marie, P.J. Effects of platelet-derived growth factor on human and mouse osteoblastic cells isolated from the trabecular bone surface. *Cell. Biol. Int. Rep.*, v. 16, n.3, p.235-47, 1992.

2. Aghaloo, T.L., Moy, P.K. Freymiller, E.G. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: a pilot study. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.60, p.1176-81, 2002.

3. Adell R., Eriksson B., Lekholm U. et al.: Along-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.5, n.4, p.347-59, 1990.

4. Adell R., Lekholm U., Grondahl K., et al. Reconstruction of severely resorbed edentulous maxillae using osseointegrated fixtures in immediate autogenous bone grafts. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.5, n.3, p.233-46, 1990.

5. Albrektsson T. A multicenter report on osseointegrated oral implants. *J. Prosthet. Dent.*, v. 60, p.75-84, 1988.

6. Albrektsson T., Dahl E., Enbom L. et al. Osseointegrated oral implants. A swedish multicenter study of 8139 consecutively inserted Nobelpharma implants. *J. Periodontol.*, v. 59, n.5, p.287-96, 1988.

7. Aldecoa, E. A. *Un Nuevo enfoque en la regeneracion osea. Plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F).* 2000, 277p.

8. Anitua, E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.14,

---

* Baseado em:
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas. Normas para publicações da UNESP: Referências Bibliográfica. São Paulo: Editora UNESP, 1994. v.4, 60p.

n.4, p.529-35, 1999.

9. Anitua, E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Pract. Proced. Aesthet. Dent.*, v.13, n.6, p.487-493, 2001.

10. Artzi, Z., Nemcovsky C.E., Tal, H., D. Efficacy of porous bovine bone mineral in various types of osseous deficiencies: Clinical observations and literature review: 2. Histochemical observatios at 9 moths. *Int. J. Periodont. Rest. Dent.*, v.21, n.4, p.395-405, 2001.

11. Artzi, Z., Tal, H., Dayan, D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets: 2. Histochemical observatios at 9 moths. *J. Periodontol.*, v.72, n.2, p.152-9, 2001.

12. Assael, L.A. The promise of tissue engineering. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.61, p.155-6, 2003.

13. Atwood D.A Bone loss of edentulous alveolar ridges. *J. Periodontol.*, v. 50, n.4, p. 11-21, 1979.

14. Becker, W. et al. A comparison of ePTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants. *J. Periodontol.*, v.63, n.11, p.929-40, 1992.

15. Bennete, J.H. et al. Adipocyte cells cultures from marrow have osteogenic potential. *J. Cell. Sci.*, v.99, p. 131, 1997.

16. Berglundh, T., Lindhe, J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss®. An experimental study in the dog. *Clin. Oral Implants. Res.*, v.8, n.2, p.117-24, 1997.

17. Bolander, M.E. Regulation of fracture repair by growth factores. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v.200, p.165-170, 1992.

18. Bosetti, M., Zanardi, L., Hench, L., Cannas, M. Type I collagen production by osteoblast-like cells cultured in contact with different bioactive glasses. *J. Biomed. Mater Res.*, v. 64A, n.1, p.189-97, 2003.

19. Callan, D.P. & Rohrer, M.D. Use of bovine dirived hydroxyapstite in the

treatament of edentulous reidge defects: a human clinical and histologic case report. *J. Periodontol.,* v.64, p.575-82, 1993.

20. Camargo, P.M. et al. Influence of bioactive glass on changes in alveolar process dimensions after exodontia. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.,* v.90, n.5, p.581-86, 2000.

21. Camarini, E.T. Expansão vestíbulo-lingual no corpo da mandíbula com e sem utilização de hidroxiapatita natual ou vidro bioativo. Avaliação clínica e microscópica em cães. Araçatuba, 2001, 136. Tese (Doutorado em Odontologia - área de concentração em Cirurgia e Traumatologia buço-Maxilo-Facial) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

22. Canalis, E. McCarthy, T.L., Centrella, M. Effects of platelet-derived growth factors on bone formation in vitro. *J. Cell Physiol.,* v.140, n.3, p.530-7, 1989.

23. Canalis, E. Effect of growth factors on bone cell replication and differentiation. *Clin. Orthop.,* n.193, p.246-63, 1985.

24. Cancian, D. C. J. et al. Use of BioGran and calcitite in bone defects: histologic study in monkeys (*Cebus apella*). *Int .J. Oral Maxillofac. Implants,* v.14, n.6, p.859-864, 1999.

25. Carlson, N.E., Roach-JR, R.B. Platelet-rich plasma: clinical apllications in dentistry. *J. Am. Dent. Assoc.,* v.133, n.10, p.1383-86, 2002.

26. Carmagnola, D., Berglundh, T., Lindhe, J. The effect of fibrin glue on the integration of Bio-Oss® with bone tissue: a experimental study in labrador dogs. *J. Clin. Periodontol.,* v.29, n.5, p.377-83, 2002.

27. Carvalho, P.S.P. et al. *Rev. Bras. Cir. Implantod.*, . Análise histológica do Bio-Oss e BioGran em tíbia de ratos, v.9, n.34, p.117-23, 2002.

28. Cho, M. I, Lin, W.L., Genco, R.J. Platelet-derived growth factor-modulated guided tissue regenerative therapy. *J. Periodontol.,* v.66, n.6, p.522-30, 1995.

29. Cordioli, G. et al. Maxillary sinus floor augmentation using bioactive glass granules and autogenous bone with simultaneous implant placement: clinical and

histological findings. *Clin. Oral Implants Res.,* v.12, n.3, p.270-8, 2001.

30. Cosso, F., Mandia, L.B., Lenharo, A. Elevação do assoalho sinusal associado a enxerto com biomaterial "Bio-Gran®" e instalação de implantes osseointegrado. *3i Innovations J.,* v.4, n.1, p.18-21, 2000.

31. Davies, J.E. *Bone Engineering.* Toronto: Copyrigt, 2000. 656p.

32. Dieudonné, S.C. et al. Osteoblast differentiation of bone marrow stromal cells cultured on silica gel and sol-gel-derived titania. *Biomaterials,* v.23, n.14, p.3041-51, 2002.

33. Ducheyne, P., Banco, P., Randen, S. et al. Bioactive materials mechanism and bioengineering consideratios. In: *Bone - Bonding biomaterials,* edited by Ducheyne, t., Kokubo, C.A., van Betterswijk, reed Headthcare Comm, the Netherlands, 1992, p.1-12

34. Eby, B.W. Platelet-rich plasma: harvesting with a single-spin centrifuge. *J. Oral Implantol.,* v.28, n.6, p.297-301, 2002.

35. Fennis, J.P.M., Stoelinga, P.J.W., Jansen, J.A. Mandibular reconstruction: a clinical and radiographic animal study on the use of autogenous scaffolds and platelet-rich plasma. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg*., v.31, p. 281-6, 2002.

36. Fonseca, R. J. et al. *Oral and maxilofacial trauma.* 2nd. Philadeliphia: W.B. Sauders, 1997. 652p

37. Froum, S. et al. Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. *Int. J. Periodontics Restorative Dent*., v.22, n.1, p.45-53, 2002.

38. Froum, S. et al. Histological comparison of healing extraction sockets implanted with bioative glass or demineralized freeze-dried bone allograft: a pilot study. *J. Periodontol*., v.73, n.1, p.94-102, 2002.

39. Fugazzotto, P.A., Paoli, S. Sinus floor augmentation at the time of maxillary molar extraction: success and failure rates of 137 implants in function for up to 3 years. *J. Periodontol.,* v.73, n.1, p.39-44, 2002.

40. Furusawa, T., Mizunuma, K. Propiedades osteoconductivas y eficacia del cristal bioactivo reabsorbible como material de injerto óseo. *Impl. Dent*., v.3, n.4.,

p.14-24, 1997.

41. Furusawa, T. et al. Investigation of early bone formation using resorbable bioactive glass in the rat mandible. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants,* v.13, n.5, p.672-6, 1998.

42. Garg, A.K. The use of platelet-rich plasma to enhance the success of bone grafts around dental implants. *Dental Implantol. Update,* v.11, n.3, p.17-21, 2000.

43. Gomes, L.A. *Implantes osseointegrado:* técnica e arte. Ed. Santos, 2002, 278p.

44. Gorustovich, A., Rosenbusch, M., Guglielmotti, M.B. characterization of bone around titanium implants and bioactive glass particles: an experimental study in rats. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants,* v.17, n.5, p.644-650, 2002.

45. Haas, R. etal. Bovine hydroxyapatite for maxillary sinus grafting: comparative histomorphometric findings in sheep. *Clin. Oral Implants Res.,* v.9, p. 107-16, 1986.

46. Hannon, T., Pekarske, W. Preparation of autologous patelet gel, 1997.

47. Hench, L.L, West J.K. Biological applications of bioactive glasses. *Life Chem. Reports,* v.13, p.199, 1996.

48. Hench, L.L, Anderson, O. H., Latorre, G.P. The kinetcs of bioactive ceramics part III. Surface reactions for bioactive glasses compared with an inative glass. In: Bonfield W., Hasting, G.W., Tanner, K.E. bioceramics 4. Oxford: Pergamon/ Elsevier, 1991, p.156-162.

49. Hislop, W.S. Finlay, P.M.; Moos, K.P. A preliminary study into the uses of anorganic bone in oral and maxilofacial surgery**.** *Br J Oral Maxillofac Surg,* v.31, p.149-153, 1993.

50. Hugles, F.J., Aubin, J.E. Heersche, J.N. Differential chemotactic responses of different populations of fetal rat calvaria cells to platelet-derived growth factor and transforming growth factor β. *Bone Mineral,* v.19, n.1, p.63-74, 1992.

51. Indovina-Junior, A. Block, M.S. Comparison of 3 bone substitutes in canine extraction sites. *J. Oral Maxillofac. Surg.,* v.60, n.1, p.53-8, 2002.

52. Johnson, M.W. et al. Regeneration of peri-implant infrabony efects using perioglass: a pilot study in rabbits. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants,* v.12, .6,

p.835-39, 1997.

53. Kasperk, C. et al. Interactions of growth factors present in bone matrix and bone cell: effects on DNA synthesis and alkaline phosphatase. *Growth. Factors*, v.3, n.2, p.147-58, 1990.

54. Kassolis, J.D., Rosen, P.S., Reynolds, M.A. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J. Periodontol.*, v.71, n.10, p.1654-61, 2000.

55. Kim, E.S., Park, E.J., Choung, P.H. Platelet concentration and its effect on bone formation in calvarial defects: an experimental study in rabbits. *J. Prosthet. Dent.*, v.86, n.4, p.428-33, 2001.

56. Kim, E.S. et al. A comparative study of osseointegration of avana implants in a demineralized freeze-drive bone alone or with platelet-rich plasma. *J. Oral Maxillofac. Surg..*, v.60, n.9, p.1018-25, 2002.

57. Klinge, B. et al. Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxyapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.50, n.3, p.241-9, 1992.

58. Laczka-Osyczka, A. et al. Behavior of bone marrow cells cultured on three different coatings of gel-derived bioactive glass-ceramics at early stages of cell differentiation. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.42, n.3, p.433-42, 1998.

59. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science*, v. 142, n.60 (5110), p.920-926, 1993.

60. Lekovic, V. et al. Comparison of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral, and guided tissue regeneration versus platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a reentry study. *J. Periodontol.*, v.73, n.2, p.198-205, 2002.

61. Leonetti, J.A., Rambo, H.M., Throndson, R.R. Osteotome sinus elevation and implant placement with narrow size bioactive glass. *Implant Dent..*, v.9, n.2, p.177-82, 2000.

62. Lindhe, T.B. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss®: an experimental study in dog. *Clin Oral Implant Res.*, v.8, n.2, p.117-24, 1997.

63. Linkhart, T.A. et al. Characterization of mitogenic activities extracted from bovine

bone matrix. *Bone, v.7, p.479, 1986*

64. Lovelace, T.B., et al. Clinical evaluation of bioactive glass in the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J. Periodontol.*, v.69, n.9, p.1027-35, 1998.

65. Lynch, S.E., Genco, R.J., Marx, R.E. Tissue engineering: *Applications in maxillo-facial surgery and periodontics*. Carol Stream: Quintessence Books, 1999.

66. Lynch, S. E., et al. The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J. Periodontol.*, v.62, n.7, p.458-67, 1991.

67. Lynch, S. E., et al. Effects of the platelet-derived growth facto/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs. *J. Periodontol.*, v.62, n.11, p.710-6, 1991.

68. Man, D. Plosker, H., Winland-Brown, J.E. Thr use of autologous platelet-rich-plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast. Reconst. Surg.*, v.107, n. 1, p.238-9, 2001.

69. Marchac, D.Pugash, E., Ganet, D. The use of sparyed fibrin glue for face lifts. *Eur. J. Plast.Surg.*, v.10, p.139, 1987.

70. Marx, R.E. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.*, v.10, n.4, p.225-8, 2001.

71. Marx, R.E. et al. Platelet-rich plasma. Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.85, n.6, p.638-46, 1998.

72. Marx, R.E., Wong, M.E. A techinique for the compression and carriage of autogenous bone during bone grafting procedures. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.45, n.11, p.988-89, 1987.

73. McAllister, B.S. et al. Residual wall defects following sinus grafting with recombinant human osteogenic protein-1 or Bio-Oss® in chimpanzee. *Int. J. Periodontcs Rest. Dent.*, v. 18, p. 227-239, 1998.

74. Merkx, M.A.W., et al. Tooth eruption through autogenous and xenogenous bone transplants: a histological and radiographic evaluation in beagle dogs. *J.*

Craniomaxillofac. Surg., v.25, n.4, p.212-9, 1997.

75. Mohan, S., Baylink, D.J. Bone growth factores. *Clin. Orthop.*, n.263, p.30-48, 1991.

76. Nunes - Filho, D.P. *Biomateriais de preenchimento ósseo*. Araçatuba, 1998. 82p. Monografia apresentada à Associação Paulista de Cirurgiões Dentista – Araçatuba para obtenção do titulo de especialista em implantodontia.

77. Okamoto, T., et al. Implante de osso anorgânico em cavidade óssea. Estudo histológico em ratos. *Rev. Odontol. Unesp*, São Paulo, v.23, n.2, p.213-9, 1994.

78. Okamoto, T. et al. Implante heterógeno de osso anorgânico ao nível do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Estudo microscópico. *3i Innovation J*, v.3, n.1, p.26-9, 1999.

79. Ong, M.M.A. et al. Evaluation of a bioactive glass alloplast in treating periodontal intrabony defects. *J. Periodotol.*, v.69, n.12, p.1346-54, 1998.

80. Oprea, W.E., Karp, J.M., Hassein, M.M, Davies, J.E. Effect of platelet releasate on bone cell migration and recruitment in vitro. *J. Craniofac. Surg.*, v.14, n.3., p.292-300, 2003.

81. Pfeilschifter, J. et al. Stimulation of bone matrix apposition in vitro by local growth factors: a comparison between insulin-like growth factor I, platelet-derived growth factor and transforming growth factor β. *Endocrinology*, v.127, n.1, p.69-75, 1990.

82. Pinholt, E M, Bang, G., Haanas, H.R. Alveolar ridge augmentation in rats by Bio-Oss. *Scand. J. Dent. Res.*, v.99, n.2, p.154-161, 1991.

83. Piattelli, M. et. al. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histological long-term report of 20 cases in humans. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.14, n.6, p.835-40, 1999.

84. Proussaefs, P., et al. The use of ramus autogenous block grafts for vertical alveolar ridge augmentation and implant placement: A pilot study. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.17, n.2, p.238-48, 2002.

85. Robiony, M., Polini, F., Costa, F., Politi, M. Osteogenesis distraction and platelet-rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: preliminary

results. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.60, n.6, p.630-5, 2002.

86. Rodriguez, A. et al. Maxillary sinus augmentation with deproteinad bovine bone and platelet-rich plasma with simultaneous insertion of endosseous implants. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.61, n.2, p.157-63, 2003.

87. Ron, R. Raines, E.W, Bowen-Pope, D.F. The biology of platelet derived growth factor. *Cell*, v.46, n.2, p.155-69, 1986.

88. Rosenberg, E.S., TorosiaN, J. Sinus grafting using platelet-rich plasma: initial case presentation. *Pract. Periodontics Aesthet. Dent.*, v.12, n.9, p.843-50, 2000.

89. Salinas, A.J., Martin, A.I., Vallet-Regí, M. Bioactivity of three $CaO-P_2O_5-SiO_2$ sol-gel glasses. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.61, n.4, p.524-32, 2002.

90. Sanchez, A.R., Sheridan, P.J., Kupp, L.I. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.18, n.1, p.93-103, 2003.

91. Santos, F.A. Implantes de biomateriais em alvéolos dentais. estudo histológico em cães. Araçatuba, 2000, 161. Tese (Doutorado em Odontologia - área de concentração em Periodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

92. Sartori, S. et al. Ten-tear follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss®). A case report with histomorphometric evalution. *Clin. Oral Impl Res.*, v.14, p.369-372, 2003.

93. Schepers, E.J.G., Ducheyne, P. Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particle sizes and size ranges. *J. Oral Rehabil.*, v.24, n.3, p.171-81, 1997.

94. Schepers, E.J.G., Barbier, L., Ducheyne, P. Implant placement enhanced by bioactive glass particles of narrow size range. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.13, n.5, p.655-65, 1998.

95. Schepers, E.J.G. et al. Bioactive glass particles of narrow size range: a new material for the repair of bone defects. *Implant. Dent.*, v.2, n.3, p.151-6, 1993.

96. Schepers E, De Clercq M, Ducheyne P, Kempeneers R

Bioactive glass particulate material as filler for bone lesions. *J. Oral Rehabil.*, v.18, n.5, p.439-52, 1991.

97. Schepers, E., Ducheyne P, De Clercq M.. Interfacial analyses of fibre-reinforced bioactive glass dental root implants. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.23, p.735-752, 1989.

98. Schepers, E., De Clercq M., Ducheyne P. Histological and histomorphometrical analysis of bioactive glass and fibre reinforced bioactive glass dental root implants. *Oral Rehabil.*, v.15, n.5, p.473-87, 1988.

99. Schmitt, J.M. et al. Comparison of porous bone mineral and biologically active glass in critical-sized defects. *J. Periodontol.*, v.68, n.11, p.1043-53, 1997.

100. Schimtz, J.P., Hollinger, J.O. The biology of platelet-rich plasma. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.59, n.9, p.1119-21, 2001.

101. Sepulveda, P. Jones, J.R. Hench, L.L. Bioactive sol-gel forms for tissue repair. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.59, n.2, p.340-8, 2002.

102. Sekido, Y., Morishima, Y., Ohya, K. Activity of platelet-derived growth factor (PDGF) in platelet concentrates and cryopreserved platelets determined by PDGF bioassay. *Vox Sang.*, v.52, n.1-2, p.27-30, 1987.

103. Shapoff, C.A., Alexander, D.C., Clark, A.E. Clinical use of a bioactive glass particulate in the treatment of human osseous defects. *Compend. Contin. Educat. Dent.*, v.18, n.4, p.352-8, 1997.

104. Shanaman, R. Filstein, M.R., Danesh-Meyer, M.J. Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: case report. *Int. J. Period. Rest. Dent.*, v.21, n.4, p.345-55, 2001.

105. Skoglund, A., Hising, P., Young, C. A clinical and histologic examination in humans of the osseous response to implanted natural bone mineral. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.12, n. 2, p.194-9, 1997.

106. Slater et al. Involviment of platelets in stimulation osteogenic activity. *J. Orthop. Res.*, v.13, p.655-63, 1995.

107. Sy, I. P. Alveolar ridge preservation using a bioactive glass particulate graft in extraction site defects. *Gen. Dent.*, v.50, n.1, p.66-8, 2002.

108. Su-Gwan, K., Hak-Kyun, K., Sung-Chul, L. Combined implantation of particulate dentine, plaster of Paris, and a bone xenograft (Bio-Oss®) for bone regeneration in rats. *J. Craniomaxillofac. Surg.*, v.29, n.5, p.282-8, 2001.

109. Tadjoedin, E.S. Deproteinized cancellous bovine bone (Bio-Oss®) as bone substitute for sinus floor elevation. A retrospective, histomorphometrical study of five cases. *J. Clin. Periodontol.*, v.30, n.3, p.261-270, 2003.

110. Terheyden, H. Experimentalle sinusbodenaugmentation vergleich verschiedener tragermaterialien mit und ohne rhOP-1 end vergleich der hiologischen factoren PRP und rhOP-1. Presented at the sinus lift, Konfrenz Hamburg, germany, 9 September, 2000. APUD em Froum, S. et al. Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v.22, n.1, p.45-53, 2002.

111. Valentini, P. et al. Histological evaluation of Bio-Oss® in a 2-stage sinus floor elevation and implantation procedure. A human case report. *Clin Oral Implants Res.*, v.9, n.1, p.59-64, 1998.

112. Verastro, T. *Hemostasia*. In: Aires, M.M. Fisiologia. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 934p.

113. Weibrich, G., Kleis, W. K. G., Hafner, G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.17, n.2, p.184-90, 2002.

114. Wheeler, D.L. et al. Effect of bioactive glass particle size on osseous regeneration of cancellous defects. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.41, n.4, p.527-33, 1998.

115. Wheeler, S.L., Holmes, R.E., Calholin, C.J. Six-ear clinical and histologic study of sinus-lift graft. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants,* v.11, p.26-34, 1996.

116. Whitman, D.H., Berry, R.L. A technique for improving the handling of particulate cancellous bone and marrow grafts using platelet gel. *J.Oral Maxillofac. Surg.*,

v.56, n.10, p.1217-9, 1998.

117. Whitman, D.H., Berry, R.L, Green, D. M. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.55, n.11, p.1294-9, 1997.

118. Wetzel, A.C., Stich, H., Caffesse, R.G. Bone apposition onto oral implants in the sinus area filled with different grafting materials: a histological study in beagle dogs. *Clin. Oral Impl. Res*, v.6, n.3, p.155-63, 1995.

119. Wilson, J., Nollette, D. Bonding of soft tissue to Bioglass®, Handbook of bioactive ceramics, v.1, pp.283-5, CRC Press, 1990.

120. Wilson, J., Clark, A.E., Hall, M., Hench, L.L. Tissue respomse to Bioglass® endosseous ridge maintenance implants. *J. Oral Implantol.*, v.19, n.4, p.295-302, 1993.

121. Wironen, J.F., Jaw, R.Y., Fox, W.C. Platelet-rich plasma is not a osteoinductive in a nude rat assay. Presented at the International Conference on bone substitute, Davos, Switzerland, 8-10 october, 2000. APUD in Weibrich, G., Kleis, W. K. G., Hafner, G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.17, n.2, p.184-90, 2002.

122. Yamamoto, M.K. . *Efeitos do plasma rico em plaquetas na reparação alveolar em ratos.* São Paulo 2002, 811. Dissertação (Mestrado em Odontologia - área de concentração Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo – USP.

123. Yilderim, M., Spiekermann, H., Biesterfeld, S., Edelhoff, D. Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-oss® in combination with venous blood: a histologic and histomorphometric study in humans. *Clin. Oral Implants. Res.*, v.11, n.3, p.217-29, 2000.

124. Xynos, I.D. et al. Bioglass® 45S5 stimulates osteoblast turnover and enhances bone formation in vitro: implications and applications for bone tissue engineering. *Calcif. Tissue Int.*, v.67, n.4, p.321-9, 2000.

125. Xynos, I.D. et al. Gene-expression profiling of human osteoblast following treatment with the ionic products of Bioglass® 45S5 dissolution. *J. Biomed Mater. Res.*, v.55, n.2, p.151-7, 2001.

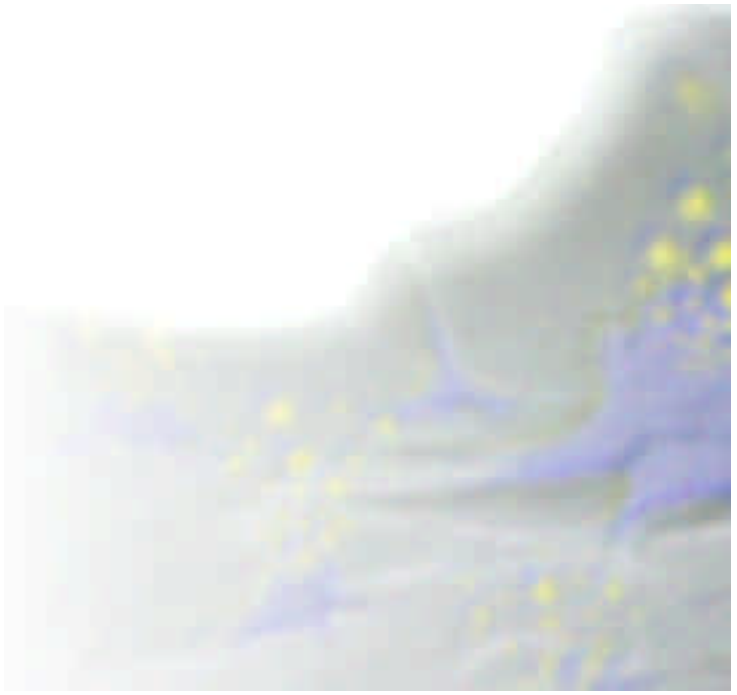
126. Zamet, J.S. et al. Particulate Bioglass® as a grafting material in the treatment of peridontal intrabony defects. *J. Clin. Periodontol.*, v.24, n.6, p.410-418, 1997.

127. Zechner, W. et al. Influence of platelet-rich plasma on osseos healing of dental implants: a histologic and histomorphometric study in minipigs. *Int. J. Maxillofac. Implants*, v.18, n.1, p.15-22, 2003.

128. Zitzmann, N.U., Schärer, P. Sinus elevation procedures in the resorbed posterior maxilla: comparison of the crestal and lateral approaches. *Oral Surg.Oral Med. Oral Pathol. Oral Radio. Endod.*, v.85, n.1, p.8-17, 1998.

129. Zitzmann, N.U., et al. Alveolar ridge augmentation with Bio-Oss®: a histologic study in humans. *Int. J. Periodont. Rest. Dent.*, v.21, n.3, p.289-95, 2001.

Abstract



Abstract

BASSI, A.P.F. Assessment of the repair in of bone cavities in dog's mandible filled in with anorganic bovine bone and bioactive glass associated with platelet rich plasma. Araçatuba, 2004. 191p. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

This study evaluated the effect of PRP associeted to bovine anorganic bone or bioglass on bone healing. From adult male dogs leid form bone cavities prepared in earl side of the mandible, which were divided into four groups, according to the fillig material, as follows: control, PRP, PRP/ Bio-Oss, PRP/Bio-Gran.

The animals were sacrified after 120 days, and healing was complete only in the control cavities. Among the treat groups, the better results were found for PRP/Bio-Oss, followed by PRP/Bio-Gran and PRP. Those findings were confirmed by histometric analysis, which showed statistically significant difference in the amount of bone formation favorable to the control cavities. Thus, PRP, associetd or not with bovine anorganic bone or bioglass did not favorable affect bone healing.

Key-words: platelet rich plasma, anorganic bovine bone, bioactive glass.

Anexo 1

Os resultados da análise quantitativa estão contidos nas tabelas a seguir:

Tabela 5. Grupo controle. Corte longitudinal profundidade de 6mm.

Amostra	Osso neoformado	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	73,8%	26,2%
2	84,5%	15,5%
3	75,8%	24,2%
4	70,5%	29,5%
5	85,9%	14,1%
6	83,5%	16,5%
7	60,2%	39,8%
8	67,4%	32,6%
9	91,7%	8,3%
10	95,8%	4,2%
11	83,3%	16,7%
12	85,8%	14,2%
13	80,3%	19,7%
14	89,6%	10,4%
Média	80,6%	19,4%

Tabela 6. Grupo controle. Corte longitudinal profundidade de 13mm.

Amostra	Osso neoformado	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	76,5%	23,5%
2	84,8%	15,2%
3	78,2%	21,8%
4	77,7%	22,3%
5	88,0%	12,0%
6	88,0%	12,0%
7	73,3%	26,7%
8	72,4%	27,6%
9	94,5%	5,5%
10	96,1%	3,9%
11	85,3%	14,7%
12	86,4%	13,6%
13	80,7%	19,3%
14	89,7%	10,3%
Média	83,7%	16,3%

Tabela 7. Grupo PRP. Corte longitudinal profundidade de 6mm.

Amostra	Osso neoformado	Tecido não mineralizado

		Tecido conjuntivo
1	20,7%	79,3%
2	14,8%	85,2%
3	14,8%	85,2%
4	14,2%	85,8%
5	15,3%	84,7%
6	16,9%	83,1%
7	17,1%	82,9%
8	22,0%	78,0%
9	38,0%	61,5%
10	22,7%	77,3%
11	24,1%	75,9%
12	22,9%	77,1%
13	26,0%	74,0%
14	25,6%	74,4%
Média	21,1%	78,9%

Tabela 8. Grupo PRP. Corte longitudinal profundidade de 13mm.

Amostra	Osso neoformado	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	18,6%	81,4%
2	23,9%	76,1%
3	14,3%	85,7%
4	16,9%	83,1%
5	20,9%	79,1%
6	16,3%	83,7%
7	21,1%	78,9%
8	24,9%	75,1%
9	38,0%	62,0%
10	23,1%	76,9%
11	24,2%	75,8%
12	29,4%	70,6%
13	28,2%	71,8%
14	23,1%	76,9%
Média	23,1%	76,9%

Tabela 9. Grupo Bio-Gran®. Corte longitudinal profundidade de 6mm.

Amostra	Osso neoformado	Biomaterial	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo

1	**25,3%**	**15,0%**	**59,7%**
2	**28,9%**	**10,8%**	**60,3%**
3	**14,5%**	**22,0%**	**63,5%**
4	**16,2%**	**23,7%**	**60,1%**
5	**23,4%**	**9,9%**	**66,7%**
6	**15,6%**	**20,7%**	**63,7%**
7	**31,2%**	**14,6%**	**54,2%**
8	**34,6%**	**16,9%**	**48,5%**
9	**24,4%**	**24,7%**	**50,9%**
10	**23,5%**	**25,2%**	**51,3%**
11	**28,5%**	**27,8%**	**43,7%**
12	**25,9%**	**23,5%**	**50,6%**
13	**26,6%**	**31,1%**	**42,3%**
14	**32,5%**	**21,8%**	**45,7%**
Média	**25,1%**	**20,6%**	**54,3%**

Tabela 10. Grupo Bio-Gran®. Corte longitudinal profundidade de 13mm.

Amostra	Osso neoformado	Biomaterial	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	**28,7%**	**13,4%**	**57,9%**
2	**36,1%**	**5,3%**	**58,6%**
3	**20,5%**	**19,8%**	**59,7%**
4	**27,6%**	**13,8%**	**58,6%**
5	**33,3%**	**15,4%**	**51,3%**
6	**33,0%**	**14,5%**	**52,5%**
7	**29,8%**	**18,4%**	**48,4%**
8	**26,9%**	**17,6%**	**52,6%**
9	**24,2%**	**27,2%**	**46,8%**
10	**30,3%**	**20,2%**	**55,6%**
11	**39,0%**	**28,4%**	**41,7%**
12	**34,7%**	**23,6%**	**32,6%**
13	**31,4%**	**28,0%**	**41,7%**
14	**30,6%**	**19,6%**	**40,6%**
Média	**30,4%**	**18,9%**	**50,7%**

Tabela 11. Grupo Bio-Oss®. Corte longitudinal profundidade de 6mm.

Amostra	Osso neoformado	Biomaterial	Tecido não mineralizado

			Tecido conjuntivo
1	32,8%	23,1%	44,1%
2	37,3%	20,3%	42,4%
3	41,1%	27,8%	31,1%
4	30,1%	26,0%	43,9%
5	30,1%	41,2%	28,7%
6	24,8%	41,0%	34,2%
7	63,9%	16,6%	19,5%
8	43,9%	20,0%	36,1%
9	31,7%	33,8%	34,5%
10	39,9%	21,7%	38,4%
11	32,7%	30,6%	36,7%
12	27,6%	26,3%	46,1%
13	32,3%	29,2%	38,5%
14	29,3%	30,3%	40,4%
Média	35,5%	27,7%	36,8%

Tabela 12. Grupo Bio-Oss®. Corte longitudinal profundidade de 13mm.

Amostra	Osso neoformado	Biomaterial	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	37,8%	24,7%	37,5%
2	35,4%	26,1%	38,5%
3	49,4%	22,2%	28,4%
4	40,4%	26,4%	33,2%
5	36,8%	44,6%	18,6%
6	24,0%	40,8%	35,2%
7	76,1%	17,6%	6,3%
8	52,5%	27,9%	19,7%
9	52,5%	25,1%	22,4%
10	58,6%	38,8%	2.6%
11	31,9%	24,8%	43,3%
12	34,5%	27,4%	38,1%
13	29,7%	29,9%	40,4%
14	28,1%	34,9%	37,0%
Média	42,0%	29,4%	28,6%

CORTES TRANSVERSAIS

Tabela 13. Grupo controle. Corte transversal profundidade de 6mm.

Amostra	Osso neoformado	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	80,6%	19,4%
2	86,2%	13,8%
3	81,1%	18,9%
4	84,6%	15,4%
5	82,0%	18,0%
6	58,4%	41,6%
7	60,2%	39,8%
8	60,5%	39,5%
Média	74,2%	25,8%

Tabela 14. Grupo controle. Corte transversal profundidade de 13mm.

Amostra	Osso neoformado	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	80,6%	13,7%
2	86,2%	16,2%
3	81,1%	19,9%
4	87,6%	12,4%
5	65,6%	34,4%
6	57,4%	42,6%
7	66,7%	33,3%
8	65,9%	34,1%
Média	74,2%	25,8%

Tabela 15. Grupo PRP. Corte transversal profundidade de 6mm.

Amostra	Osso neoformado	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	28,1%	71,9%

2	**29,2%**	**70,8%**
3	**80,3%**	**19,7%**
4	**47,4%**	**52,6%**
5	**18,8%**	**81,2%**
6	**11,5%**	**88,5%**
7	**11,5%**	**88,5%**
8	**16,6%**	**83,4%**
Média	**30,4%**	**69,6%**

Tabela 16. Grupo PRP. Corte transversal profundidade de 13mm.

Amostra	Osso neoformado	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	**29,6%**	**70,4%**
2	**27,9%**	**72,1%**
3	**88,2%**	**11,8%**
4	**95,7%**	**4,3%**
5	**17,9%**	**82,12%**
6	**8,8%**	**91,2%**
7	**34,0%**	**66,0%**
8	**27,0%**	**73,0%**
Média	**41,2%**	**58,8%**

Tabela 17. Grupo Bio-Gran®. Corte transversal profundidade de 6mm.

Amostra	Osso neoformado	Biomaterial	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	**58,3%**	**5,8%**	**35,9%**

2	**47,6%**	**17,1%**	**35,3%**
3	**70,6%**	**14,0%**	**15,4%**
4	**80,9%**	**7,9%**	**11,2%**
5	**24,8%**	**40,8%**	**34,4%**
6	**13,3%**	**31,4%**	**55,3%**
7	**28,5%**	**20,1%**	**51,4%**
8	**20,0%**	**38,4%**	**41,6%**
Média	**43,0%**	**22,0%**	**35,0%**

Tabela 18. Grupo Bio-Gran®. Corte transversal profundidade de 13mm.

Amostra	Osso neoformado	Biomaterial	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	**50,6%**	**15,5%**	**33,9%**
2	**25,8%**	**18,8%**	**55,4%**
3	**78,6%**	**10,1%**	**11,3%**
4	**65,9%**	**10,4%**	**23,7%**
5	**28,0%**	**21,2%**	**50,8%**
6	**21,1%**	**28,2%**	**50,7%**
7	**27,7%**	**29,0%**	**43,3%**
8	**17,3%**	**31,5%**	**51,2%**
Média	**39,7%**	**20,6%**	**40,0%**

Tabela 19. Grupo Bio-Oss®. Corte transversal profundidade de 6mm.

Amostra	Osso neoformado	Biomaterial	Tecido não

			mineralizado Tecido conjuntivo
1	**30,8%**	**46,1%**	**23,1%**
2	**23,4%**	**34,8%**	**41,8%**
3	**26,8%**	**48,6%**	**24,6%**
4	**29,9%**	**47,9%**	**22,2%**
5	**25,8%**	**47,9%**	**26,3%**
6	**24,7%**	**47,2%**	**28,1%**
7	**26,9%**	**45,40%**	**27,7%**
8	**26,0%**	**46,00%**	**28,0%**
Média	**26,8%**	**45,5%**	**27,7%**

Tabela 20. Grupo Bio-Oss®. Corte transversal profundidade de 13mm.

Amostra	Osso neoformado	Biomaterial	Tecido não mineralizado Tecido conjuntivo
1	**25,1%**	**35,3%**	**39,6%**
2	**36,9%**	**34,5%**	**28,6%**
3	**32,0%**	**45,7%**	**22,3%**
4	**31,4%**	**46,0%**	**22,2%**
5	**36,6%**	**37,4%**	**26,0%**
6	**26,0%**	**43,2%**	**30,8%**
7	**31,3%**	**40,2%**	**28,5%**
8	**30,6%**	**39,8%**	**29,6%**
Média	**31,2%**	**40,2%**	**28,6%**

Anexo 2